



**HAL**  
open science

# Développement d'une nouvelle méthode de mesure, modélisation et prédiction du potentiel d'oxydoréduction (pOR) en vue d'une amélioration raisonnée des procédés de transformation des produits carnés

Paolo Cucci

## ► To cite this version:

Paolo Cucci. Développement d'une nouvelle méthode de mesure, modélisation et prédiction du potentiel d'oxydoréduction (pOR) en vue d'une amélioration raisonnée des procédés de transformation des produits carnés. Génie des procédés. Université Clermont Auvergne [2017-2020], 2020. Français. NNT : 2020CLFAC088 . tel-03670411

**HAL Id: tel-03670411**

**<https://theses.hal.science/tel-03670411>**

Submitted on 17 May 2022

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**UNIVERSITÉ CLERMONT AUVERGNE**  
**ÉCOLE DOCTORALE SCIENCES POUR L'INGENIEUR DE CLERMONT-FERRAND**

THÈSE

Présentée par

**Paolo CUCCI**

Pour obtenir le grade de

**DOCTEUR D'UNIVERSITÉ**

**SPÉCIALITÉ : GÉNIE DES PROCÉDÉS**

---

**DÉVELOPPEMENT D'UNE NOUVELLE MÉTHODE DE MESURE,  
MODÉLISATION ET PRÉDICTION DU POTENTIEL  
D'OXYDORÉDUCTION (pOR) EN VUE D'UNE AMÉLIORATION  
RAISONNÉE DES PROCÉDÉS DE TRANSFORMATION DES PRODUITS  
CARNÉS**

---

Soutenue publiquement le 24 Juin 2020 devant le jury :

<b>Cécile BERRI</b>	Directrice de Recherche – INRAE Val de Loire	(Rapporteur)
<b>Michel LINDER</b>	Professeur des Universités – Université de Lorraine	(Rapporteur)
<b>Laurent MICLO</b>	Professeur des Universités – Université de Lorraine	(Examineur)
<b>Véronique SANTE-LHOUELIER</b>	Directrice de Recherche – INRAE Theix	(Examineur)
<b>Valérie SCILOWSKI</b>	Responsable R&D et Ressourcement – ADIV	(Examineur)
<b>Fabrice AUDONNET</b>	Maître de Conférences (HDR) – Université Clermont Auvergne (UCA)	

Travaux de thèse encadrés par :

<b>Fabrice AUDONNET</b>	Maître de conférences (HDR) – UCA – Directeur de thèse
<b>André LEBERT</b>	Professeur des Universités – UCA – Directeur de thèse
<b>Émilie PARAFITA</b>	Chef de projets R&D – ADIV
<b>Laurent PICGIRARD</b>	Responsable R&D produits carnés – ADIV
<b>Valérie SCISLOWSKI</b>	Responsable R&D et Ressourcement – ADIV

Travaux réalisés au sein de l'axe Génie des Procédés, Énergétique et Biosystèmes de l'Institut Pascal  
UMR 6602 de l'Université Clermont-Auvergne, du CNRS et de Sigma Clermont.

« La théorie, c'est quand on sait tout et que rien ne fonctionne.  
La pratique, c'est quand tout fonctionne et que personne ne sait  
pourquoi.

Ici, nous avons réuni théorie et pratique : rien ne fonctionne...  
et personne ne sait pourquoi ! »

Albert Einstein

# Remerciements

Ces travaux ont été financés par la Région Auvergne, l'Union européenne dans le cadre du Fonds Européen de Développement Régional (FEDER) ainsi que par l'ADIV.

Je remercie **Évelyne Gil**, directrice de l'Institut Pascal et **Claude-Gilles Dussap**, responsable de l'axe Génie des Procédés, Énergétiques et Biosystèmes pour m'avoir accueilli et permis d'effectuer cette thèse dans les meilleures conditions.

Je remercie **Alain Peyron**, directeur général de l'ADIV et **Laurent Picgirard**, responsable R&D produits carnés de l'ADIV pour m'avoir accueilli ponctuellement dans leurs locaux.

Je remercie **Cécile Berri**, **Véronique Santé-Lhoutellier**, **Valérie Scilowski**, **Michel Linder** et **Laurent Miclo** de me faire l'honneur de participer à mon jury de thèse.

Je remercie chaleureusement mes deux co-directeurs de thèse **Fabrice Audonnet** et **André Lebert** pour m'avoir fait confiance, donner de leur temps et partager avec moi tous leurs conseils tant dans le cadre professionnel que dans le cadre personnel.

Je remercie **Émilie Parafita** pour tous ces conseils, pour sa bibliographie en version papier et pour le temps qu'elle a consacré à me former.

Je remercie bien évidemment le meilleur bureau composé de l'élite, **Nelly Cruvellier**, son compagnon **Damien** et leur famille, **Lucie Poulet**, **Caroline Supplis** et son compagnon **Romain** (alias les boudins boudineux), **Maarouf Abdou Alio**, **Vincent Dumouilla** et **Victor Gattepaille** et leurs compagnes **Élodie** et **Élodie**.

Je remercie également tous les doctorants du laboratoire, **Amélie Tribot**, **Benoît Chezeaux**, et **Amaury Danican** avec qui nous avons beaucoup réfléchi sur des sujets de fond mais pas que...

Je remercie **Nicolas Bourgne**, **Frédéric Brun**, **Grégory Chambon** et **David Duchez** pour m'avoir aidé quand j'en avais besoin mais aussi pour avoir toujours cru en moi et pour m'avoir rassuré en me disant que ce projet n'aboutirait à rien.

Un merci à tous les membres du laboratoire permanent et non permanent, qui ont toujours eu un mot, un encouragement à partager. Je remercie particulièrement **Jean-Pierre Cherret**, **Fabrice Gros**, **Fédéric Joyard** et **Pascal Lafon** pour leurs conseils avisés, **Anne Guerin**, **Christine Gardarin** et **Maryline Theveniot** pour leur gentillesse et leur disponibilité, **Gwendoline Christophe** et **Céline Larroche** pour leur implication dans la thèse et **Guillaume Pierre**, **Cédric Delattre** et **Pascal Debussay** (alias mon petit requin et sa femme) pour leur humour.

Un grand merci à l'équipe technique de l'ADIV, **Christophe Chenille**, **Adeline Laleuw**, **Denis Montagut**, **Corine Nenot**, **Gauthier Nerisson**, **Denis Tixier** pour avoir pris le temps de me former et de me prodiguer des conseils grâce à leurs expertises respectives.

Un grand merci à **ma famille**, **mes parents**, **mes sœurs** et **leurs compagnons** et mes amis **les Gros** qui m'ont toujours soutenu et accompagné depuis toutes ces années que ça soit dans les bons comme dans les moments les plus durs.

Enfin, **Chouiii** (Célie de ton vrai nom) ou mon gros poulet comme j'aime t'appeler, tous les mots ne suffiront pas pour te dire au combien je suis reconnaissant de t'avoir auprès de moi. Tu as toujours su m'aider et m'épauler quand j'en avais le plus besoin et pour cela je ne t'en remercierais jamais assez. Aujourd'hui, nous devenons notre propre famille et je remercie donc mon fils **Gabin** d'avoir fait ses nuits rapidement et donc de m'avoir permis de préserver mon capital sommeil au maximum. Et je finirai par te remercier toi, **Meiko**, mon chien !

# Tables des matières

Liste des abréviations .....	6
Glossaire.....	9
Liste des figures .....	14
Liste des tableaux .....	20
Introduction .....	22
Chapitre I – État de l’art.....	26
1. Viande rouge bovine : de la fourche à la fourchette .....	27
1.1 Élevage de bovins.....	27
1.1.1 Famille des bovins.....	27
1.1.2 Races bovines.....	27
1.1.3 Identification des bovins .....	28
1.1.4 Organisation de l’élevage bovin.....	28
1.1.5 Alimentation des bovins.....	29
1.1.5.1 Types d’alimentation.....	29
1.1.5.2 Alimentation des bovins.....	31
1.2 Production de viande rouge bovine.....	31
1.2.1 Abattage .....	31
1.2.2 Classement des carcasses de gros bovins.....	34
1.2.2.1 Catégorie .....	34
1.2.2.2 Conformation .....	34
1.2.2.3 État d’engraissement .....	35
1.2.2.4 Marquage.....	35
1.2.3 Maturation .....	35
1.2.3.1 Différents types de maturation .....	35
1.2.3.2 Mécanismes de la maturation.....	36
1.2.4 Découpe.....	37
1.2.4.1 Processus de la découpe .....	37
1.2.4.2 Types de coupe.....	39
1.2.4.3 Pièces de demi-gros et pièces bouchères.....	41
1.2.5 Quelques chiffres sur la production française de viande bovine.....	42
1.3 Commercialisation, achat et consommation des viandes bovines fraîches.....	43
1.3.1 Circuits de commercialisation.....	43
1.3.2 Achat de viandes bovines fraîches .....	44
1.3.2.1 Formats de ventes en grandes et moyennes surfaces et hard discount.....	45
1.3.2.2 Critères d’achats.....	46
1.3.3 Quelques chiffres sur la consommation de viande bovine en France .....	47
1.4 Gaspillage alimentaire dans le domaine de la viande .....	48
1.4.1 Au niveau mondial .....	48
1.4.2 Au niveau français.....	48
2. Viande rouge et virements de couleurs .....	50
2.1 Complexité du milieu viande .....	50
2.1.1. Structure du muscle.....	50
2.1.1.1 Échelle macroscopique.....	50
2.1.1.2 Échelle microscopique .....	51
2.1.2. Principaux composants du muscle .....	52
2.1.2.1 Fibres musculaires.....	52
2.1.2.2 Tissu conjonctif intramusculaire .....	53

2.1.2.3 Tissu adipeux et les lipides intramusculaires .....	53
2.1.2 Qualités de la viande .....	54
2.1.2.1 Qualités technologiques .....	54
2.1.2.2 Qualités sensorielles .....	55
2.1.2.2.1 Couleur et aspect .....	55
2.1.2.2.2 Tendreté.....	56
2.1.2.2.3 Jutosité et la Flaveur.....	57
2.1.2.3 Qualités nutritionnelles .....	59
2.1.2.4 Qualités microbiologiques.....	60
2.1.3 Exsudat de viande.....	61
2.2 Virements de couleurs de la viande rouge .....	62
2.2.1 Chimie fondamentale de la myoglobine.....	62
2.2.1.1 Molécule de myoglobine.....	62
2.2.1.2 Différentes formes de myoglobine.....	64
2.2.2 Dynamique d'interconversions des formes redox de la myoglobine .....	65
2.2.2.1 Oxygénation .....	65
2.2.2.2 Oxydation .....	66
2.2.2.3 Désoxygénation et oxydation.....	67
2.2.2.4 Consommation de dioxygène et réduction .....	68
2.2.2.5 Formation de la carboxymyoglobine.....	68
2.2.3 Couleur visuelle de la viande rouge versus chimie réelle du pigment.....	69
3. Mesure des virements de couleurs de la viande rouge .....	72
3.1 Physique de la lumière et de la couleur.....	72
3.2 Représentation de la couleur .....	74
3.3 Méthodes de mesure de la couleur .....	75
3.3.1 Mesure de la couleur par spectrophotométrie .....	76
3.3.2 Mesure de la couleur par systèmes numériques .....	77
4. Facteurs influençant les virements de couleurs de la viande rouge fraîche .....	78
4.1 Facteurs pré-abattage.....	78
4.1.1 Types de muscle .....	79
4.1.2 Teneur en myoglobine dans les muscles .....	79
4.1.3 Auto-oxydation des pigments.....	80
4.2 Facteurs post-abattage .....	81
4.2.1 Transformation du muscle en viande .....	81
4.2.1.1 Température de <i>rigor mortis</i> .....	81
4.2.1.2 Chute de pH.....	82
4.2.1.3 pH ultime.....	82
4.2.2 Conditions de stockage.....	84
4.2.2.1 Oxygène .....	84
4.2.2.2 Atmosphère de stockage.....	85
4.2.2.3 Température de stockage.....	86
4.2.2.4 Lumière .....	87
4.2.2.5 Auto-oxydation réciproque hème-lipides.....	88
4.2.3 Microorganismes .....	88
4.2.3.1 Diversité bactérienne de la viande .....	88
4.2.3.2 Bactéries et changements de couleurs .....	91
4.2.3.2.1 De rouge à marron/vert .....	91
4.2.3.2.2 De marron à rouge.....	92
5. Modélisation et prédiction des virements de couleurs de la viande rouge fraîche.....	93
Chapitre II – Matériels et méthodes .....	95

1. Préparation des échantillons de jus et de viandes .....	96
1.1 Origine de la viande .....	96
1.2 Préparation des jus de viande .....	96
1.3 Décontamination de la viande .....	98
1.4 Préparation des viandes en barquettes.....	98
2. Développement et instrumentation des prototypes .....	98
2.1 Instrumentation de l'enceinte climatique .....	98
2.2 Prototype pour les jus de l'étude sur les virements de couleur et le pOR.....	99
2.3 Prototype pour les jus de l'étude sur les virements de couleur et la microbiologie.	100
2.4 Dispositif pour l'étude de la prédiction du virement de couleur dans la viande rouge	
.....	101
2.5 Développement d'une sonde d'oxydoréduction pour les milieux semi-solides.....	102
2.5.1 Potentiel d'oxydoréduction .....	102
2.5.2 Construction de la sonde d'oxydoréduction.....	102
3. Suivi et mesures physico-chimiques des échantillons.....	103
3.1 Suivi de la couleur des échantillons .....	103
3.2 Mesure du pH et du pOR.....	103
3.3 Spectroscopie UV-visible.....	103
3.4 Suivi des communautés microbiennes .....	104
3.4.1 Par microbiologie .....	104
3.4.2 Par biologie moléculaire.....	104
3.4.2.1 Extraction d'ADN .....	104
3.4.2.2 Validation des amorces .....	104
3.4.2.3 Identification et quantification des microorganismes par qPCR.....	107
3.4.2.4 Estimation de la quantité d'ADN correspondant à une cellule bactérienne	
.....	108
4. Analyses de données .....	108
4.1 Traitement d'images.....	108
4.2 Limite de détection des virements de couleurs de la viande .....	108
4.3 Détermination du temps du virement de couleur .....	109
4.4 Calcul des pourcentages des formes rédox de la myoglobine.....	110
4.5 Normalisation des données.....	110
4.6 Plan d'expériences de Jones et Nachtsheim.....	111
4.7 Modélisation et tests statistiques .....	112
4.7.1 Choix des équations de décroissance .....	112
4.7.2 Optimisation non linéaire .....	112
4.7.3 Régression linéaire .....	113
4.7.4 Sensibilité des modèles aux valeurs des coefficients.....	115
4.7.5 Détermination des intervalles de confiance sur les prévisions.....	116
Chapitre III – Résultats et discussions .....	117
1. Virements de couleur et potentiel d'oxydoréduction .....	118
1.1 Résultats sur le jus de viande .....	118
1.1.1 Tests préliminaires .....	118
1.1.1.1 Impact du volume et de la dilution sur la couleur du jus de viande.....	118
1.1.1.2 Impact du type d'eau utilisée pour diluer le jus de viande sur le virement de	
couleur du jus de viande.....	119
1.1.1.3 Impact de la taille du morceau de viande avant congélation/décongélation	
sur le virement de couleur du jus de viande .....	121
1.1.1.4 Impact des conditions d'emballage de la viande avant	
congélation/décongélation sur le virement de couleur du jus de viande.....	122

1.1.1.5 Impact de la centrifugation du jus de viande dilué sur le virement de couleur du jus de viande.....	124
1.1.2 Corrélation entre virements de couleur et pOR dans le jus.....	125
1.1.2.1 Expérience avec du jus filtré à 4 °C.....	125
1.1.2.2 Expérience avec du jus non filtré à 4 °C.....	129
1.1.2.3 Expérience avec du jus non filtré à 20 °C.....	131
1.1.3 Passage du jus à la viande rouge.....	133
1.1.3.1 Comparaison entre le jus et la viande rouge.....	133
1.1.3.2 Calibration des sondes redox construites en interne.....	135
1.2 Résultats sur la viande rouge.....	136
1.3 Discussion.....	138
2. Rôles de la microbiologie sur les virements de couleur.....	142
2.1 Résultats sur le jus.....	143
2.1.1 Résultats dans le jus filtré.....	143
2.1.1.1 Suivi physico-chimique.....	143
2.1.1.2 Spectroscopie UV-visible du jus filtré.....	144
2.1.1.3 Suivi des communautés microbiennes.....	144
2.1.2 Résultats dans le jus non filtré.....	145
2.1.2.1 Suivi physico-chimique.....	145
2.1.2.2 Spectroscopie UV-visible du jus non filtré.....	146
2.1.2.3 Suivi des communautés microbiennes du jus non filtré.....	146
2.1.2.3.1 Mesure d'absorbance à 600 nm.....	146
2.1.2.3.2 Dénombrement en gélose profonde.....	147
2.1.2.3.3 Etalonnage de la qPCR.....	148
2.1.2.4 Identification et quantification du consortium bactérien.....	149
2.2 Résultats sur la viande rouge.....	150
2.3 Discussion.....	154
3. Modélisation et prédiction du virement de couleur.....	159
3.1 Modélisation des courbes d'évolution $a^* = f(t)$ .....	160
3.1.1 Exemple de données expérimentales.....	160
3.1.2 Optimisation non linéaire.....	161
3.1.3 Examen de la matrice des corrélations.....	162
3.1.4 Détermination de points levier.....	165
3.1.5 Étude des résidus.....	166
3.1.6 Conclusion partielle.....	167
3.2 Modélisation des cinétiques de $a^*$ .....	168
3.2.1 Valeurs de lag et du $\mu_{\max}$ pour l'équation de Gompertz.....	168
3.2.2 Régression linéaire sur le paramètre lag.....	169
3.2.3 Régression linéaire sur le paramètre $\mu_{\max}$ .....	174
3.2.4 Modèle des cinétiques de $a^*$ .....	177
3.2.5 Vérification du modèle déterminé.....	178
3.3 Analyse de sensibilité du modèle de $a^*$ et intervalle de confiance sur la prévision de $a^*$ .....	181
3.3.1 Analyse de la sensibilité.....	181
3.3.2 Intervalles de confiances sur la prévision de $a^*$ .....	183
3.4 Résultats des facteurs impactant le temps de virement de couleur.....	186
3.4.1 Données initiales.....	186
3.4.2 Régression linéaire.....	186
3.4.3 Représentation des facteurs impactant le temps de virement.....	188
3.4.4 Analyse de sensibilité du modèle de prévision du temps de virement.....	191

3.4.5 Intervalles de confiance pour la prévision du temps de virement.....	193
3.5 Utilisation des modèles pour faire des prévisions.....	194
3.6 Discussion .....	195
Conclusion et perspectives .....	199
Références bibliographiques .....	203
Annexes.....	227

# Liste des abréviations

- %DéoMb : pourcentage de DésoxyMyoglobine
- %MetMb : pourcentage de MetMyoglobine
- %OxyMb : pourcentage d'OxyMyoglobine
- a\* : redness (indice de rouge en français)
- $A_{\lambda}$  : absorbance à la longueur d'onde  $\lambda$
- ADIV : Association pour le Développement de l'Institut de la Viande
- ADN : Acide DésoxyriboNucléique
- ATP/ADP : Adénosine Triphosphate/Adénosine DiPhosphate
- b\* : yellowness (indice de jaune en français)
- BIC : Bayesian Information Criteria (critère d'information bayésien en français)
- BCU : Boule de CUisse
- BCUH : Boule de CUisse Hanche
- CholeMb : CholéMyoglobine
- CIE : Commission Internationale de L'Éclairage
- CO : monoxyde de carbone
- CO<sub>2</sub> : dioxyde de carbone
- COMb : CarbOxyMyoglobine
- Ct : Cycle threshold (cycle seuil)
- ESB : Encéphalopathie Spongiforme Bovine
- DéoxyMb : DésoxyMyoglobine
- DFD pork : Dark, Firm and Dry pork (porc sombre, ferme et sec en français)
- dTTP : désoxyThymidine TriPhosphate
- e<sup>-</sup> : électron
- Fe<sup>2+</sup> : Fer ferreux
- Fe<sup>3+</sup> : Fer ferrique
- FEDER : Fond Européen pour le Développement de la Recherche
- FIV : Facteur d'Inflation de la Variance (Variance Inflation Factor en anglais)
- GM : *Gluteus Medius*
- GMS : Grandes et Moyennes Surfaces
- Gram - : bactéries à Gram négatif
- Gram + : bactéries à Gram positif

- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : peroxyde d'hydrogène
- H<sub>2</sub>S : sulfure d'hydrogène
- H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> : ions hydronium
- Hb : Hémoglobine
- HD : Hard Discount
- HRMAS-NMR : High Resolution Magic Angle Spinning – Nuclear Magnetic Resonance (RMN à haute résolution en rotation à angle magique à haute résolution en français)
- HS : HydrogèneSulfure
- JB : Jeune Bovin
- Jus (π) : jus non filtré
- Jus (φ) : jus filtré
- kg éc : kg équivalent-carcasse
- L\* : Lightness (clarté en français)
- LAB : Lactic Acid Bacteria (bactéries lactiques en français)
- LD : *Longissimus Dorsi*
- LIM : Lipides IntraMusculaires
- MAP : Modified Atmosphere Packaging (Packaging à Atmosphère Modifiée en français)
- Mb : Myoglobine
- MetMb : MetMyoglobine
- MRA : Metmyoglobin Reductase Activity
- MyHC : Myosin Heavy Chain (Chaînes lourdes de myosine en français)
- N<sub>2</sub> : diazote
- NAD<sup>+</sup>/ NADH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide
- NIR : Near-Infrared Spectroscopy (spectroscopie proche infrarouge en français)
- NO : monoxyde d'azote
- NPP : Nombre le Plus Probable
- O<sub>2</sub> : dioxygène
- OCR : Oxygen Consumption Rate (Taux de consommation d'oxygène en français)
- OPP : Oriented Polypropylene (Polypropylène Orienté en français)
- OxyMb : Oxymyoglobine
- PA/PE : PolyAmide/PolyÉthylène
- pb : paires de bases

- PCR : Polymerase Chain Reaction (Réaction de Polymérase en Chaîne)
- pOR : Potentiel d'OxydoRéduction ou potentiel rédox
- PM : *Psoas Major*
- PSE pork : Pale, Soft and Exudate pork (porc pâle, mou et exsudant en français)
- PSM : Poste de Sécurité Microbiologique
- PS/EVOH/PE : PolyStyrène/Ethylène Vinyle alcool copolymère/PolyEthylène
- qPCR : Réaction quantitative de Polymérase en Chaîne en temps réel
- RHD : Restauration Hors Domicile
- RMN : Résonance Magnétique Nucléaire
- ROS : Reactive Oxygen Species (espèces réactives de l'oxygène)
- RSS : Residual Sum of Square (somme des carrés des résidus en français)
- SM : *Semimembranosus*
- SulfoMb : SulfoMyoglobine
- T : Taureau
- Téc : Tonne équivalent-carcasse
- Th : Température d'hybridation
- UFC/mL : Unité Formant Colonie/mL
- UGB : Unité Gros Bovin
- UVCM : Unité Vente Consommateur Magasin
- UVCI : Unité Vente Consommateur Industrielle
- UVC : Unité Vente Consommateur
- Vi : Valeur à normaliser
- $V_{\max}$  : Valeur maximale
- $V_{\min}$  : Valeur minimale

# Glossaire

*(Les mots sont marqués dans le texte par un astérisque \*)*

- Actine : protéine bi-globulaire de 5,46 nm de diamètre qui joue un rôle important dans l'architecture et les mouvements cellulaires. Elle est présente dans toutes les cellules du corps (c'est une protéine ubiquitaire), et spécialement dans les cellules musculaires.
- Activité réductrice de la metmyoglobine : le rôle de ce système est de réduire la metmyoglobine afin de maintenir la couleur de la viande. Historiquement, la « metmyoglobin reductase activity » en anglais a été classée sous différents noms, par exemple diaphorases, systèmes réducteurs aérobie et anaérobie, cytochrome b5 MetMb réductase et système enzymatique réducteur de la metmyoglobine dépendant du NADH.
- Adipocyte : cellule animale présente dans les tissus adipeux, et spécialisée dans le stockage de la graisse.
- Anoxique : qui est dépourvu d'oxygène, ou a perdu tout l'oxygène. Une zone anoxique est anaérobie stricte.
- Aponévrose : membrane fibreuse qui enveloppe un muscle.
- Bactériostatique : substance qui inhibe la multiplication des bactéries sans les tuer.
- Bouverie : bâtiment destiné au logement des bœufs, étable à bœufs.
- Bouvier : personne qui garde et conduit les bœufs.
- Blooming : oxygénation de la viande (passage d'une couleur violette à rouge).
- Calpaïnes : protéases à cystéine, non-lysosomiales, dont l'activité, de type papaïne, est dépendante du calcium. Ces enzymes sont responsables de la protéolyse neutre calcium-dépendante.
- Calpastatine : inhibiteur puissant des calpaïnes, l'activité protéolytique globale dépendant de l'équilibre entre calpaïnes et calpastatine.
- Catabolisme : phase du métabolisme qui comprend les processus de dégradation des composés organiques, avec dégagement d'énergie et élimination des déchets.
- Chromaticité : valeur utilisée en colorimétrie pour déterminer une couleur indépendamment de sa luminosité.
- Coefficient de température Q10 : mesure du taux de changement d'un système biologique ou chimique suite à l'augmentation de la température de 10 ° C. Il existe de nombreux exemples d'utilisation du Q10, l'un étant le calcul de la vitesse de conduction

nerveuse et l'autre le calcul de la vitesse de contraction des fibres musculaires. Il peut également être appliqué aux réactions chimiques et à de nombreux autres systèmes.

- Conditionnement Hebdopack® : emballage assurant une conservation 100 % naturelle de la viande grâce à sa mise sous vide poussée et son conditionnement sous film étanche. Protégeant de l'air et de la lumière sans aucun conservateur, il permet également à la viande de poursuivre sa maturation.
- Cytochromes : coenzymes intermédiaires de la chaîne respiratoire. Ils ont comme caractéristique commune d'être constitués d'une porphyrine complexée avec un atome de fer ou de cuivre. C'est ce dernier qui confère au coenzyme ses propriétés oxydoréductrices en changeant de valence.
- *Deltoides* : muscle de l'épaule.
- Dioxygène singulet ( $^1\text{O}_2$ ) : produit par irradiation lumineuse de dioxygène triplet (son état fondamental)  $^3\text{O}_2$  avec un photosensibilisateur.
- Enrubannage : action de stocker des fourrages en balles cylindriques, enroulées dans un ruban de matière plastique.
- Ensilage : méthode de conservation des fourrages (herbe, maïs, pulpes de betterave et plus occasionnellement sorgho) qui sont hachés puis stockés dans un silo à l'abri de l'air. Des réactions de type fermentations lactiques et acidification, comme pour la fabrication de la choucroute, permettent de conserver une bonne partie des propriétés nutritionnelles des fourrages.
- Encéphalopathie spongiforme bovine (également appelée maladie de la vache folle) : infection dégénérative du système nerveux central des bovins. Cette maladie peut être transmise à l'Homme par le biais de la consommation de produits carnés infectés.
- État pantelant : état de la viande, juste après abattage, durant laquelle l'extensibilité du muscle reste constante.
- Exsudat : jus naturel de la viande crue ; c'est une matrice facile à obtenir qui est généralement collectée en petites quantités dans des emballages de viande commerciaux.
- Flanchet : aussi appelé petite poitrine, constitue la partie ventrale du bœuf, appelée aussi pis de bœuf avec le tendron, le milieu de poitrine, le gros bout de poitrine.
- Flaveur : Ensemble des sensations olfactives, gustatives et tactiles ressenties lors de la dégustation d'un produit alimentaire.

- Fourrage : plante ou mélange de plantes, cultivées essentiellement pour leurs parties végétatives (feuilles, tiges, racines) et destinées principalement à l'alimentation des ruminants.
- Glycoprotéine : protéine liée de façon covalente à un oligosaccharide.
- Groupement prosthétique : partie d'une molécule de protéine qui n'est pas protéique.
- Hème : structure aromatique contenant un atome de métal, souvent du fer, servant à accueillir un gaz diatomique (par exemple du dioxygène O<sub>2</sub>) au centre d'un large anneau organique appelé porphyrine.
- Hémoglobine : métalloprotéine contenant du fer, présente essentiellement dans le sang des vertébrés au sein de leurs globules rouges, ainsi que dans les tissus de certains invertébrés. Elle a pour fonction de transporter le dioxygène depuis l'appareil respiratoire (poumons, branchies) vers le reste de l'organisme.
- Histochimie : étude de la constitution chimique de la cellule et des tissus.
- Homogénat : préparation homogène d'un corps à observer.
- Jutosité : qualité de ce qui est juteux.
- K/S = ratio de l'absorption de la lumière (K) sur la diffusion (S) d'un échantillon.
- Lumen (lm) : unité de mesure du flux lumineux.
- Lux (lx) : unité de mesure de l'éclairement lumineux (lumen/m<sup>2</sup>).
- Métabolomique : science très récente qui étudie l'ensemble des métabolites primaires (sucres, acides aminés, acides gras, etc.) et des métabolites secondaires dans le cas des plantes (polyphénols, flavonoïdes, alcaloïdes, etc.) présents dans une cellule, un organe, un organisme.
- Métabolisme aérobie : en présence d'oxygène.
- Métabolisme anaérobie : en absence d'oxygène.
- Microbiote : ensemble de microorganismes vivants dans un écosystème donné.
- Microsome : une des fractions obtenue par centrifugation. On parle donc de fraction microsomiale. Celle-ci se compose notamment de vésicules provenant du réticulum endoplasmique, ainsi que d'éléments provenant de l'appareil de Golgi et de la membrane plasmique.
- Minerai de viande : dénomination employée dans la terminologie de l'industrie agroalimentaire et désignant une masse agglomérée de dix à vingt-cinq kilogrammes d'ensembles de muscles et de chutes de viande produites exclusivement lors de la découpe, y compris les tissus gras y attendant, provenant de viandes fraîches découpées et désossées, réfrigérées, congelées ou surgelées.

- Mitochondrie : granule du cytoplasme, indispensable aux réactions énergétiques de la cellule.
- Myoglobine : métalloprotéine contenant du fer présente dans les muscles des vertébrés, et particulièrement des mammifères. Elle est apparentée structurellement à l'hémoglobine, mais a pour fonction de stocker l'oxygène O<sub>2</sub> plutôt que de le transporter.
- Nucléotide : molécule organique qui est l'élément de base d'un acide nucléique tel que l'ADN ou l'ARN. Il est composé d'une base nucléique (ou base azotée), d'un ose à cinq atomes de carbone, dit pentose, dont l'association forme un nucléoside, et enfin d'un à trois groupes phosphate.
- Parage : étape consistant à préparer la viande en retirant les parties non comestibles (excès de graisse d'enveloppe, aponévroses\*, faisceaux vasculaires et tendineux).
- Piéçage : étape correspondant au tranchage des gros morceaux en pièces bouchères.
- Poids vif vide : poids vif moins le poids du contenu du tube digestif et de la vessie, calculé après l'abattage et l'éviscération.
- Protéoglycane : combinaison d'une protéine et d'un glycosaminoglycane. Les glycosaminoglycanes (GAG) sont des macromolécules glucidiques formant d'importants composants des matrices extracellulaires des tissus conjonctifs.
- Psychrophile : organisme capable de se développer au froid, ayant une température optimale de croissance de 15 °C.
- Ressuage : séchage d'une carcasse après l'abattage. Ce terme désigne le temps durant lequel une carcasse fraîche est laissée à l'air libre, à la température ordinaire, pour se débarrasser de son humidité tissulaire de surface.
- Riboflavine : ou vitamine B2 ou lactoflavine, est une vitamine hydrosoluble nécessaire à la synthèse de la flavine adénine dinucléotide (FAD) et de la flavine mononucléotide (FMN), deux cofacteurs essentiels dans le métabolisme de réparation des muscles.
- *Rigor mortis* (ou rigidité cadavérique) : enraidissement progressif de la musculature causé par des transformations biochimiques irréversibles affectant les fibres musculaires au cours de la phase *post-mortem* précoce.
- Roténone : molécule organique qui fait partie de la classe des ichtyotoxines, naturellement produite par certaines plantes tropicales, elle est toxique pour de tous les organismes qui possèdent des mitochondries car c'est un inhibiteur du complexe I de la chaîne de respiration mitochondriale indispensable à la respiration des cellules. Elle entre dans la composition de nombreux pesticides et insecticides.

- Sorgho (aussi orthographié sorgo) : espèce de plantes monocotylédones de la famille des Poaceae, originaire d'Afrique. C'est une plante herbacée annuelle, qui peut atteindre 3 mètres de haut. Elle est cultivée soit pour ses graines, le sorgho grain, soit comme fourrage, le sorgho fourrager.
- Taq : ADN polymérase nommée d'après *Thermus aquaticus*, organisme d'où elle a été isolée.
- Tendreté ou dureté : qualité physique recherchée pour certaines denrées alimentaires, notamment la viande, les légumes et les fruits. Dans le cas de la viande, la tendreté est considérée comme une propriété organoleptique qui conditionne les modifications de structure au cours de la mastication.
- Tissu conjonctif lâche : lorsque les trois principaux constituants des tissus conjonctifs proprement dits (cellules, fibres conjonctives et substance fondamentale) sont en proportions équivalentes, le tissu conjonctif est appelé lâche par opposition aux tissus conjonctifs où prédominent les fibres conjonctives qui sont appelés denses.
- Tissu humide = tissu sec + eau, s'exprime en unité de masse (kg ou g)
- Tonne équivalent-carcasse : unité de poids employée pour mesurer des quantités industrielles de viandes, notamment dans les statistiques de production destinés à l'alimentation humaine. Par exemple, 13 tonnes équivalent-carcasse de bœuf équivaut à environ 10 tonnes de viande de bœuf.
- Tourteaux : coproduits, riche en protéines, issus de l'industrie de l'huilerie, après extraction de l'huile des graines oléagineuses ou oléo-protéagineuses.
- Troponine : complexe de protéines qui sensibilise les cellules musculaires au calcium. La troponine se retrouve aussi bien dans les muscles cardiaques que dans les muscles squelettiques, mais les versions spécifiques de la troponine diffèrent entre les types de muscle, du fait d'une expression différente des gènes respectifs (ceux du cœur par exemple).
- Tropomyosine : protéine fibreuse dimérique (composée d'une sous-unité alpha et d'une sous-unité bêta) logée dans la gouttière du microfilament d'actine. Elle s'enroule autour de celui-ci pour le stabiliser.
- Venaison : chair de grand gibier (cerf, chevreuil, daim, sanglier).

# Liste des figures

Figure 1 : Récapitulatif de la famille des bovins (Cartier et Moevi, 2007).....	27
Figure 2 : Répartition (en %) de la production de viande bovine en fonction du type d'élevage allaitant ou laitier en 2015 (L'institut de l'élevage et la confédération nationale de l'élevage, 2017). .....	29
Figure 3 : Parts moyennes de fourrages, céréales et protéines végétales consommées en France par les bovins des élevages producteurs de lait et de viande (L'Institut de l'Élevage et le Centre d'Informations des Viandes, 2012). .....	30
Figure 4 : Sept premières étapes de l'abattage des bovins (Cartier et Moevi, 2007).....	32
Figure 5 : Sept dernières étapes de l'abattage des bovins (Cartier et Moevi, 2007).....	33
Figure 6 : Représentation d'une demi-carcasse gauche de bœuf sous différentes vues : vue extérieure, vue intérieure et vue de profil, représentées de gauche à droite ( <a href="http://www.fleisch-teilstuecke.at">http://www.fleisch-teilstuecke.at</a> ). .....	37
Figure 7 : Schéma des opérations successives de découpe des quartiers. Le nombre de quartiers produits et les tonnages traités sont représentatifs de l'ADIV (Association pour le Développement de l'Institut de la Viande, 2010).....	38
Figure 8 : Représentation du quartier arrière (avec le flanchet) et du quartier avant de bœuf suite à une coupe droite, vue extérieure à gauche et vue intérieure à droite ( <a href="http://www.fleisch-teilstuecke.at">http://www.fleisch-teilstuecke.at</a> ). .....	39
Figure 9 : Représentation du quartier arrière (sans le flanchet) et du quartier avant de bœuf suite à une coupe pistolet, vue extérieure à gauche et vue intérieure à droite ( <a href="http://www.fleisch-teilstuecke.at">http://www.fleisch-teilstuecke.at</a> ). .....	40
Figure 10 : Représentation du quartier arrière de bœuf avec la grosse bavette (A) et du quartier arrière de bœuf avec la petite bavette (B) suite à une coupe pistolet particulière, vue extérieure à gauche et vue intérieure à droite ( <a href="http://www.fleisch-teilstuecke.at">http://www.fleisch-teilstuecke.at</a> ). ...	40
Figure 11 : Pièces bouchères du bœuf avec (1) le collier, (2) la basse côte, (3) et (4) l'entrecôte et la côte de bœuf, (5) le faux-filet, (6) le filet de bœuf, (7) le rumsteck, (8) la queue de bœuf, (9) gîte de noix, (10, 11, 12) le tendre de tranche, la poire, le merlan, (13) le rond de gîte, (14, 15, 16, 17) le dessus de tranche, le rond de tranche, le plat de tranche, le mouvant, (18) le gîte (jarret arrière), (19) l'aiguillette baronne, (20) l'onglet de bœuf, (21) la hampe de bœuf, (22) la bavette d'aloyau, (23) la bavette de flanchet, (24) le flanchet, (25) le plat de côtes de bœuf, (26, 27) le tendron et le milieu de poitrine, (28) le gros bout de poitrine, (29) la macreuse à bifteck, (30) le paleron, (31) le jumeau à bifteck, (32) la macreuse à pot-au-feu et (33) le jumeau à pot-au-feu ( <a href="http://www.la-viande.fr">www.la-viande.fr</a> ). Le trait noir représente la découpe pistolet de la figure 9. ....	41
Figure 12 : Schéma des principaux circuits de commercialisation de la viande bovine (Cartier et Moevi, 2007). .....	44
Figure 13 : Répartition des circuits de distribution des achats de ménages de viandes de boucheries fraîches en 2011 (France AgriMer, 2012).....	44
Figure 14 : Parts relatives des UVCI/UVCM (Unités Vente Consommateur Industrielles/Magasin) dans les rayons libre-service des GMS (Grandes et Moyennes Surfaces) y compris HD (Hard Discount) (France AgriMer, 2012). .....	46
Figure 15 : Classement des critères d'achats de viandes fraîches dans les GMS (Syndicat national de l'industrie des viandes et syndicat national du commerce du porc, 2014)....	46
Figure 16 : Type de viande produite et consommée en France en 2016 (L'institut de l'élevage et la confédération nationale de l'élevage, 2017).....	47
Figure 17 : Production initiale de viande perdue ou gaspillée par continent aux différents stades de la chaîne alimentaire (Food and Agriculture Organization, 2012). .....	48

Figure 18 : Pertes et gaspillages de la viande bovine et porcine aux différents stades de la chaîne alimentaire en France (Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Énergie, 2016).....	49
Figure 19 : Organisation générale du muscle (Listrat et al., 2015).....	51
Figure 20 : Structure d'un sarcomère observé en microscopie électronique (en haut) et schématisée (en bas) avec les deux types de filaments, épais à gauche et fin à droite (Listrat et al., 2015).....	52
Figure 21 : Structure ternaire de la myoglobine avec ces 8 hélices alpha (de A à H) et son groupement prosthétique hème ( <a href="https://fr.wikipedia.org/wiki/Myoglobine">https://fr.wikipedia.org/wiki/Myoglobine</a> ).....	63
Figure 22 : Structure du groupement prosthétique hème avec en son centre l'atome de fer et quatre sites de coordination liés aux atomes N des noyaux porphyrines (à gauche ; <a href="https://chemistry.stackexchange.com/questions/14434/how-many-ligands-in-heme">https://chemistry.stackexchange.com/questions/14434/how-many-ligands-in-heme</a> ).....	63
Figure 23 : Formes redox de la myoglobine en fonction de l'état redox du fer et de son sixième ligand (adapté de Kijowski, 2001).....	64
Figure 24 : Schéma des interconversions des formes rédox de la myoglobine dans la viande fraîche (American Meat Science Association, 2012).....	66
Figure 25 : Évolution des formes redox de la myoglobine au cours du temps (schéma d'une coupe transversale de la viande rouge).....	68
Figure 26 : Schéma des interconversions visuelles et pratiques des formes rédox de la myoglobine dans la viande fraîche (American Meat Science Association, 2012).....	70
Figure 27 : Décomposition par un prisme de la lumière blanche en ses composants avec ses longueurs d'onde associées.....	73
Figure 28 : Réflectance relative des différentes longueurs d'onde d'une tranche de viande de bœuf (American Meat Science Association, 2012).....	73
Figure 29 : Représentation de la couleur solide dans l'espace colorimétrique CIE L* a* b* (American Meat Science Association, 2012).....	75
Figure 30 : Spectres d'absorption des solutions de méthomyoglobine (MetMb), de désoxymyoglobine (DeoMb) et d'oxymyoglobine (OxyMb) contenant des concentrations de myoglobine équivalentes. Les flèches indiquent le point isobestique à 525 nm, le pic d'absorption de la MetMb à 503 nm, le pic d'absorption de la DeoMb à 557 nm et le pic d'absorption de l'OxyMb à 582 nm (Tang et al., 2004).....	77
Figure 31 : Facteurs influençant la couleur de la viande rouge fraîche.....	79
Figure 32 : Transformation visible des formes redox de la myoglobine à la surface de la viande en présence de certains microorganismes (adapté de Arihara et al., 1993 ; Borch et al., 1996 ; Chan et al., 1998 ; Motoyama et al., 2010 ; Zagorec and Champomier-Vergès, 2017).....	92
Figure 33 : Changement de l'intensité de la couleur rouge, en utilisant la moyenne des valeurs a* sur la surface de l'image (Quevedo et al., 2013).....	94
Figure 34 : Schéma du protocole de préparation des différents jus de viande.....	97
Figure 35 : Enceinte climatique instrumentée avec (1) des réglettes avec tubes fluorescents, et (2) une balance plateforme.....	99
Figure 36 : Prototype instrumenté pour les échantillons de jus de viande avec (1) une caméra et (2) une mire rouge.....	100
Figure 37: Prototype développé en interne pour réaliser le suivi physico-chimique et microbiologique du jus de viande.....	101
Figure 38 : Dispositif instrumenté pour la mesure de la couleur de la viande à l'ADIV instrumenté avec (1) des réglettes avec tubes fluorescents et (2) des mires rouges.....	102
Figure 39 : Sonde d'oxydoréduction fabriquée avec deux électrodes de travail de 1 mm de diamètre, constituées d'une tige de platine (à gauche) et d'une tige de fer oxydé (à droite).....	103

Figure 40 : Programme de PCR suivi pour la validation des amorces.....	106
Figure 41 : Programme de qPCR suivi pour l'identification et la quantification des microorganismes. ....	107
Figure 42 : Valeurs de $a^*$ normalisées pour différentes surfaces de viande mesurées pour un même échantillon (surface divisée par 1, 2, 4, 16, 32, 64 et 128) au cours du temps....	109
Figure 43 : Détermination du temps de virement onset et du temps de virement midpoint grâce au temps de latence (lag) et à la pente maximale ( $\mu_{max}$ ).....	110
Figure 44 : Visualisation de la couleur d'un même jus d'entrecôte avec différents volumes (20 mL, 35 mL et 50 mL) et différentes dilutions (1/5, 1/10 et 1/15) à $t = 0$ heure et $t = 24$ heures à $20^\circ\text{C}$ . Le jus de viande pur (non dilué) est aussi présenté, à titre de comparaison aux jus dilués. ....	119
Figure 45 : Suivi du virement de couleur ( $a^*$ ) d'un jus d'entrecôte (50 mL de jus centrifugé, filtré et dilué au 1/5) à $20^\circ\text{C}$ selon le type d'eau (eau milliQ, en vert, ou eau physiologique, en jaune) utilisé pour diluer le jus de viande en fonction du temps (à gauche) et les valeurs de $a^*$ normalisées en fonction du temps (à droite). ....	120
Figure 46 : Suivi du virement de couleur ( $a^*$ ) d'un jus d'entrecôte (50 mL de jus centrifugé, filtré et dilué au 1/5) à $20^\circ\text{C}$ selon la taille de la viande (Entière, en bleu, ou Morceaux, en rouge) congelée et décongelée en fonction du temps (à gauche) et les valeurs de $a^*$ normalisées en fonction du temps (à droite). ....	122
Figure 47 : Suivi du virement de couleur ( $a^*$ ) d'un jus d'entrecôte (50 mL de jus centrifugé, filtré et dilué au 1/5) à $20^\circ\text{C}$ selon le type d'emballage (sous air, en orange, ou sous vide, en bleu) de la viande congelée et décongelée en fonction du temps (à gauche) et les valeurs de $a^*$ normalisées en fonction du temps (à droite). ....	123
Figure 48 : Suivi du virement de couleur ( $a^*$ ) d'un jus d'entrecôte (50 mL de jus filtré et dilué au 1/5) à $4^\circ\text{C}$ avec, en bleu, ou sans, en rouge, l'étape de centrifugation (centrifugé ou non centrifugé) en fonction du temps (à gauche) et les valeurs de $a^*$ normalisées en fonction du temps (à droite). ....	125
Figure 49 : Suivi du pH (à gauche) et du pOR (à droite) d'un jus d'entrecôte (50 mL de jus centrifugé, filtré et dilué au 1/5) à $4^\circ\text{C}$ en fonction du temps. ....	127
Figure 50 : Suivi du virement de couleur ( $a^*$ ) d'un jus d'entrecôte (50 mL de jus centrifugé, filtré et dilué au 1/5) à $4^\circ\text{C}$ en fonction du temps à gauche, et les photos associées présentant le virement de couleur des jus filtrés (décontaminés) à $t = 1$ heure, $t = 96$ heures et $t = 320$ heures. Les sondes visibles dans les cristallisoirs ont permis de mesurer le pH et le pOR au cours du temps. ....	128
Figure 51 : Suivi du virement de couleur ( $a^*$ normalisé), en rouge, d'un jus d'entrecôte (50 mL de jus centrifugé, filtré et dilué au 1/5) et du potentiel d'oxydoréduction (pOR normalisé), en bleu, à $4^\circ\text{C}$ en fonction du temps. ....	128
Figure 52 : Suivi du virement de couleur ( $a^*$ ) d'un jus d'entrecôte non décontaminé (50 mL de jus centrifugé, non filtré et dilué au 1/5) à $4^\circ\text{C}$ et suivi du pOR en fonction du temps et les photos associées présentant les virements de couleur des jus non filtrés (non décontaminés) à $t = 1$ heure, $t = 150$ heures et $t = 288$ heures (en dupliqua à droite)....	130
Figure 53 : Suivi du virement de couleur ( $a^*$ normalisé) d'un jus d'entrecôte non décontaminé (50 mL de jus dilué au 1/5) à $4^\circ\text{C}$ et du potentiel (pOR normalisé) en fonction du temps et les photos associées présentant le virement de couleur des jus non décontaminés (en dupliqua à droite) à $t = 1$ heure, $t = 125$ heures et $t = 150$ heures. Il s'agit d'un zoom de la figure 52 en valeurs normalisées mais pour un temps compris entre 0 et 150 heures. .....	131
Figure 54 : Suivi du virement de couleur ( $a^*$ ) d'un jus d'entrecôte non décontaminé (50 mL de jus centrifugé, non filtré et dilué au 1/5) à $20^\circ\text{C}$ et suivi du pOR en fonction du temps	

et les photos associées présentant les virements de couleur des jus non filtrés (non décontaminés) à t = 1 heures, t = 20 heures et t = 96 heures (en tripliqua à droite). ...	132
Figure 55 : Suivi du virement de couleur (a* normalisé) d'un jus d'entrecôte non décontaminé (50 mL de jus centrifugé et dilué au 1/5) à 20 °C et du potentiel d'oxydoréduction (pOR normalisé) en fonction du temps et les photos associées présentant le virement de couleur des jus non décontaminés (en tripliqua à droite) à t = 1 heure, t = 10 heures et t = 20 heures. Il s'agit d'un zoom de la figure 54, en grandeurs normalisées et pour un temps compris entre 0 et 20 heures.....	133
Figure 56 : Suivi du virement de couleur (a*) d'une entrecôte et de son jus associé (50 mL pur à gauche et 50 mL dilué au 1/5 à droite) à 4 °C en fonction du temps (à gauche), les valeurs de a* normalisées en fonction du temps (à droite) et les photos associées présentant leurs virements de couleur à t = 1 heure, t = 96 heures, t = 240 heures et t = 370 heures. ....	134
Figure 57 : Suivi des pOR mesurés avec une sonde redox commerciale (Hanna Instrument) et une sonde redox développée en interne dans un jus d'entrecôte dilué au 1/5 non filtré au cours du temps (à gauche) et les valeurs de pOR normalisées en fonction du temps (à droite). ....	136
Figure 58 : Suivi du virement de couleur d'une entrecôte en barquette thermoscellée sous air et du pOR mesuré avec une sonde redox développée en interne à 4 °C en fonction du temps (à gauche), les valeurs normalisées en fonction du temps (à droite) et les photos associées présentant leurs virements de couleur à t = 1 heure, t = 20 heures et t = 144 heures. ....	137
Figure 59 : Évolution des pourcentages des différentes formes redox de la myoglobine et du potentiel d'oxydoréduction (pOR) dans le premier jus filtré ( $\phi$ ) en fonction du temps. %MetMb, %OxyMb et %DéoMb sont respectivement les pourcentages de MetMyoglobine, d'OxyMyoglobine et de DésoxyMyoglobine. Les barres d'erreurs sont les écart-types calculés à partir des triplica des spectres d'absorbance mesurés. Elles sont inférieures à la taille des symboles utilisés. Le croisement à 50% de MetMb et 50% d'OxyMb correspond à l'arrivée au maximum de la courbe de pOR et au passage à la phase de plateau et est schématisée par une barre verticale noire.....	144
Figure 60 : Évolution des pourcentages des différentes formes redox de la myoglobine et du potentiel d'oxydoréduction (pOR) dans le premier jus non filtré ( $\pi$ ) en fonction du temps. %MetMb, %OxyMb et %DéoMb sont respectivement les pourcentages de MetMyoglobine, d'OxyMyoglobine et de DésoxyMyoglobine. Les barres d'erreurs sont les écart-types calculés à partir des triplica des spectres d'absorbance réalisé. Elles sont inférieures à la taille des symboles utilisés. Les barres verticales déterminent des changements significatifs des différentes courbes. ....	145
Figure 61 : Suivi des microorganismes dans le premier jus non filtré en fonction du temps. Le nombre d'unité formant des colonies par mL est évalué par dénombrement en gélose profonde. Le nombre de cellules bactériennes par mL est calculé à partir d'une quantification d'ADN par qPCR. ....	147
Figure 62 : Droite d'étalonnage des amorces ciblant les bactéries totales pour la qPCR. L'équation de la droite permet d'associer un nombre de cycles seuils (Ct) obtenu après amplification à une quantité d'ADN. L'efficacité associée à cet étalon est de 205%. ..	149
Figure 63 : Suivi de l'identification et de la quantification des consortia bactériens dans le premier jus non filtré en fonction du temps. Le nombre d'unités formant des colonies par mL est évalué par dénombrement en gélose profonde pour les bactéries totales. Le nombre de cellules bactériennes par mL est calculé à partir d'une quantification d'ADN par qPCR. ....	150

Figure 64 : Suivi du virement de couleur ( $a^*$ ) de noix d'entrecôte mises en barquette sous air à 4 °C selon différentes conditions microbiologiques en fonction du temps. (normale : aucune modification n'a été faite par rapport à une viande découpée en abattoir ; décontaminée : la viande a subi un protocole de décontamination ; recontaminée : la noix a subi une décontamination puis une recontamination avec un consortium bactérien).....	153
Figure 65 : Quantité de microorganismes (en UFC/cm <sup>2</sup> ) de la flore totale, de la flore lactique, des Pseudomonas, Brochotrix thermosphacta et des entérobactéries d'échantillons de noix d'entrecôtes (normale, décontaminée, recontaminée) conditionnées en barquettes thermosoudées sous air pendant 13 jours à 4 °C.....	153
Figure 66 : Comparaison des potentiels d'oxydoréduction (pOR) et des différents pourcentages de myoglobine du jus filtré ( $\phi$ ) ou non ( $\pi$ ) de la première expérience. %MetMb, %OxyMb et %DéoMb sont respectivement les pourcentages de MetMyoglobine, d'OxyMyoglobine et de DésoxyMyoglobine. Les barres verticales noires déterminent des changements significatifs des différentes courbes.....	155
Figure 67 : Photo des jus non filtré (à gauche) et filtré (à droite) après 15 jours d'incubation à 4 °C.....	156
Figure 68 : Récapitulatif des différentes données suivies durant les 15 jours d'incubation du jus non filtré ( $\pi$ ). %MetMb, %OxyMb et %DéoMb sont respectivement les pourcentages de MetMyoglobine, d'OxyMyoglobine et de DésoxyMyoglobine. La courbe de potentiel d'oxydoréduction (pOR) a été normalisée et rajoutée avec une unité arbitraire (axe non représenté) afin d'en observer les variations sur les mêmes temps de mesure. ....	157
Figure 69 : Exemple de courbe d'évolution du paramètre colorimétrique $a^*$ (pression partielle en dioxygène : 20 %, température de stockage de la viande : 10 °C , temps de maturation sous vide du muscle : 14 jours et angle de découpe du muscle en tranches : 90 °). ....	160
Figure 70 : Lissage de la courbe d'évolution du paramètre colorimétrique $a^*$ (pression partielle en dioxygène : 20 %, température de stockage de la viande : 10 °C , temps de maturation sous vide du muscle : 14 jours et angle de découpe du muscle en tranches : 90 °) par cinq équations non linéaires. ....	162
Figure 71 : Domaines de variation des paramètres caractéristiques de la courbe d'évolution du paramètre colorimétrique $a^*$ déterminés par une méthode de bootstrap (5000 échantillons) pour l'équation de Gompertz (a) et l'équation de Verhulst (b) (pression partielle en dioxygène : 20 %, température de stockage de la viande : 10 °C , temps de maturation sous vide du muscle : 14 jours et angle de découpe du muscle en tranches : 90 °). ....	164
Figure 72 : Détection des point influençant (points rouges) la valeur des paramètres de l'équation de Gompertz dans le cas de la courbe d'évolution du paramètre colorimétrique $a^*$ (pression partielle en dioxygène : 20 %, température de stockage de la viande : 10 °C , temps de maturation sous vide du muscle : 14 jours et angle de découpe du muscle en tranches : 90 °).....	165
Figure 73 : Différentes représentations graphiques des résidus permettant de vérifier la distribution des résidus de l'équation de Gompertz dans le cas de la courbe d'évolution du paramètre colorimétrique $a^*$ (pression partielle en dioxygène : 20 %, température de stockage de la viande : 10 °C , temps de maturation sous vide du muscle : 14 jours et angle de découpe du muscle en tranches : 90 °).....	167
Figure 74 : Comparaison des logarithmes de base 10 des temps de latences expérimentaux ( $\log_{10}(\text{lag})$ ) et des logarithmes de base 10 des temps de latences calculés par la régression linéaire.....	171
Figure 75 : Étude des résidus du modèle de régression linéaire ascendante sur le logarithme de base 10 du temps de latence ( $\log_{10}(\text{lag})$ ) calculé par l'équation de Gompertz : (a) = résidus studentisés et (b) graphique quantile-quantile. ....	172

Figure 76 : Graphiques Variable + Résidu pour les variables de la régression linéaire sur le logarithme de base 10 du temps de latence ( $\log_{10}(\text{lag})$ ) calculé par l'équation de Gompertz.....	173
Figure 77 : Importance relative des variables de la régression linéaire ascendante du logarithme de base 10 du temps de latence ( $\log_{10}(\text{lag})$ ) selon les méthodes LMG, Last, First, Pratt, Genizi et CAR. ....	174
Figure 78 : Comparaison des logarithmes de base 10 des pentes expérimentales ( $\log_{10}(\mu\text{max})$ ) et des logarithmes de base 10 des pentes calculées par la régression linéaire. ....	175
Figure 79 : Étude des résidus du modèle de régression linéaire ascendante sur le logarithme de base 10 de la pente ( $\log_{10}(\mu\text{max})$ ) calculé par l'équation de Gompertz : (a) = résidus studentisés et (b) graphique quantile-quantile.....	176
Figure 80 : Courbes de valeurs de $a^*$ calculées et expérimentales (images traitées au 64ième) en fonction des différentes conditions expérimentales au cours du temps (partie 1).....	179
Figure 81 : Courbes de valeurs de $a^*$ calculées et expérimentales (images traitées au 64ième) en fonction des différentes conditions expérimentales au cours du temps (partie 2).....	180
Figure 82 : Modifications des cinétiques de $a^*$ en fonction de l'amplitude d'une perturbation sur un des coefficients du modèle de prévision (partie 1).....	182
Figure 83 : Modifications des cinétiques de $a^*$ en fonction de l'amplitude d'une perturbation sur un des coefficients du modèle de prévision (partie 2).....	183
Figure 84 : Intervalles de confiance des cinétiques de $a^*$ à partir de 5 000 cinétiques simulées par la méthode de Monte-Carlo (partie 1).....	184
Figure 85 : Intervalles de confiance des cinétiques de $a^*$ à partir de 5 000 cinétiques simulées par la méthode de Monte-Carlo (partie 2).....	185
Figure 86 : Comparaison des logarithmes de base 10 des temps de virement de couleur expérimentaux et des logarithmes de base 10 des temps de virement de couleur expérimentaux par la régression linéaire.....	187
Figure 87 : Représentation en graphique 3D de l'impact des facteurs ( $pO_2$ , Angle, Temp, Mat) sur le temps de virement de couleur (avec les valeurs exprimées en logarithme de base 10. Sur la figure (a), la $pO_2$ et Angle varient de (-3 à 2), Temp est représentée selon trois valeurs (0,3 ; 0,778 et 1) et Mat est fixée à 1,146. La figure (b) est un zoom avec des valeurs $pO_2$ et Angle allant de -1 à 2. ....	190
Figure 88 : Représentation en graphique 3D de l'impact des facteurs ( $pO_2$ , Angle, Temp, Mat) sur le temps de virement de couleur (avec les valeurs exprimées en logarithme de base 10). $pO_2$ et Angle varient de (-1 à 2), Mat est représentée selon trois valeurs (-1 ; 0,845 et 1,146) et Temp est fixée à 0,3. ....	191
Figure 89 : Modifications du temps de virement de couleur en fonction de l'amplitude d'une perturbation sur un des coefficients du modèle de prévision. ....	192
Figure 90 : Intervalles de confiance sur les temps de virement de couleur à partir de 5 000 cinétiques simulées par la méthode de Monte-Carlo (partie 1).....	193
Figure 91 : Intervalles de confiance sur les temps de virement de couleur à partir de 5 000 cinétiques simulées par la méthode de Monte-Carlo (partie 2).....	194
Figure 92 : Prédiction de la cinétique de la valeur de $a^*$ avec des valeurs de logarithme de base 10 des facteurs Angle = -1 ; $pO_2$ = 1,9 ; Temp = 0,69 ; Mat = 0,7 et avec des valeurs de $a^*$ initiale et $a^*$ finale égales à 35 et 0 respectivement.....	195
Figure 93 : Passage d'une couleur rouge à violacée d'une entrecôte emballée sous 100 % d'azote au bout d'une heure. ....	196
Figure 94 : Tranches d'entrecôte (même muscle) selon une découpe perpendiculaire aux fibres musculaires, à gauche et selon une découpe parallèle aux fibres musculaires, à droite.....	197

# Liste des tableaux

Tableau 1 : Évolution de 1995 à 2017 des nombres de vaches et de bovins (par 1000 têtes) en France métropolitaine (L'institut de l'élevage et la confédération nationale de l'élevage, 2017).....	42
Tableau 2 : Nombre de vaches par 1000 têtes présentes au 1er janvier classés par principaux types raciaux (L'institut de l'élevage et la confédération nationale de l'élevage, 2017).	42
Tableau 3 : Production finie de gros bovins et de veaux (L'institut de l'élevage et la confédération nationale de l'élevage, 2017). .....	43
Tableau 4 : Consommation nationale de viande contrôlée en France (L'institut de l'élevage et la confédération nationale de l'élevage, 2017).....	47
Tableau 5 : Composition chimique du muscle typique de mammifère adulte après la rigor mortis mais avant les changements de dégradation post-mortem (Lawrie and Ledward, 2006).....	59
Tableau 6 : Dérivés de la myoglobine et coloration de la viande en fonction de l'état du fer et du sixième ligand au niveau de l'hème (Lawrie and Ledward, 2006). .....	65
Tableau 7 : Différents genres bactériens les plus couramment retrouvés à la surface de la viande et de leur origine (1 : García-López et al., 1998 ; 2 : Nychas et al., 2008 ; 3 : Yang et al., 2018 ; 4 : Zagorec and Champomier-Vergès, 2017 ; 5 : Lawrie and Ledward, 2006 ; 6 : Holzapfel, 1998 ; 7 : Kandi et al., 2016 ; 8 : Lee et al., 2017).....	90
Tableau 8 : Récapitulatif des amorces utilisées et de leur cible. Entre parenthèses se trouve le microorganisme représentant du groupe recherché utilisé pour les tests et les étalons (Th : température d'hybridation, pb : paires de bases, ND : Non déterminée). .....	106
Tableau 9 : Matrice de Jones et Nachtsheim pour quatre facteurs en valeurs réduites (à gauche) et en valeurs expérimentales (à droite) avec la pression partielle en dioxygène au sein du MAP (pO <sub>2</sub> ), la température de stockage de la viande (Temp), le temps de maturation sous vide du muscle (Mat) et l'angle de découpe du muscle en tranches (Angle). .....	111
Tableau 10 : Quantités de microorganismes (UFC/mL) associées aux chutes de potentiel d'oxydoréduction (pOR) dans les différents jus non filtrés. ....	156
Tableau 11 : Valeurs des paramètres des cinq équations testées pour représentées la cinétique d'évolution du paramètre colorimétrique a* dans les conditions pression partielle en dioxygène : 20 %, température de stockage de la viande : 10 °C , temps de maturation sous vide du muscle : 14 j et angle de découpe du muscle en tranches : 90 °.....	161
Tableau 12 : Matrice de corrélation des paramètres obtenus par optimisation non linéaire dans le cas de la courbe d'évolution du paramètre colorimétrique a* (pression partielle en dioxygène : 20 %, température de stockage de la viande : 10 °C , temps de maturation sous vide du muscle : 14 jours et angle de découpe du muscle en tranches : 90 °). .....	163
Tableau 13 : Valeurs de lag et de $\mu_{max}$ exprimées en logarithme de base 10 pour chaque courbe de valeurs de a* modélisé avec Gompertz.(avec camX la caméra associée à l'expérience).....	169
Tableau 14 : Résultats de la régression linéaire ascendante pour le logarithme de base 10 du temps de latence ( $\log_{10}(\text{lag})$ ). .....	170
Tableau 15 : Tests statistiques de Shapiro, de Durbin Watson et du score de variance non-constante sur le logarithme de base 10 du temps de latence ( $\log_{10}(\text{lag})$ ) calculé par l'équation de Gompertz. ....	172
Tableau 16 : Récapitulatif du VIF ( $(\log_{10}(\text{lag}))$ ). .....	173

Tableau 17 : Résultats de la régression linéaire ascendante pour le logarithme de base 10 de la pente ( $\log_{10}(\mu_{\max})$ ).	175
Tableau 18 : Récapitulatif du VIF ( $\log_{10}(\mu_{\max})$ ).	176
Tableau 19 : Récapitulatif des tests statistiques de Shapiro, de Durbin Watson et du score de variance non-constante ( $\log_{10}(\mu_{\max})$ ).	177
Tableau 20 : Synthèse du plan d'expérience de Jones et Nachtsheim avec les conditions expérimentales (Température de stockage, $pO_2$ soit la pression partielle en dioxygène, le temps de maturation et l'angle de découpe), le temps de virement à la fin du palier initial, le temps de virement au point d'inflexion et la moyenne entre les deux, appelé temps moyen.	186
Tableau 21 : Résultats de la régression linéaire ascendante pour le logarithme de base 10 du virement de couleur.	187

# Introduction

Chaque année en France, environ 3,5 millions de bovins sont élevés et abattus pour la production de viande, ce qui représente 1 million de tonnes de viande bovine. La plus grande partie de cette viande est distribuée dans les grandes et moyennes surfaces et représente à elle seule, 75 % des achats de viande rouge fraîche en France. Aujourd'hui, depuis les récentes innovations dans les emballages et à cause des changements de modes de consommation, les consommateurs se sont tournés vers des viandes découpées et emballées en barquette, appelées unités ventes consommateurs (UVC) plutôt que vers des viandes vendues au rayon traditionnel ou en boucherie. Un grand nombre de choix de viandes est ainsi disponible dans les rayons. Le consommateur est donc libre de pouvoir sélectionner le produit qu'il souhaite selon ses propres critères. Un consommateur sur deux achète de la viande rouge fraîche en fonction de son aspect et de sa couleur. En effet, plus le produit est « beau » plus il paraîtra frais et de qualité. La qualité microbiologique d'un produit carné a une place particulière auprès du consommateur notamment à cause des dernières crises sanitaires, comme la maladie de la vache folle ou encore les intoxications par *Escherichia coli*. La consommation de viande bovine est de 18,5 kg de viande/an/habitant dont 65 % de vaches de réforme et 15 % de jeunes bovins. Cependant, si la viande rouge ne correspond pas aux exigences du consommateur (une belle couleur et une bonne odeur), ce dernier ne l'achète pas, ce qui entraîne du gaspillage alimentaire. Mais d'où vient cette couleur rouge de la viande bovine fraîche ? La viande est un milieu complexe et sa structure a une influence sur les qualités technologiques et sensorielles comme la tendreté\*, la jutosité\* et la couleur. Cette structure est constituée d'un enchevêtrement de fibres musculaires qui sont divisées en trois grandes catégories : les fibres glycolytiques, intermédiaires et oxydatives. La viande rouge est principalement composée de fibres oxydatives dites à contraction lente qui sont riches en myoglobine\*. La myoglobine est une protéine hydrosoluble intramusculaire qui se lie au dioxygène et qui permet la respiration cellulaire au niveau du muscle. Elle est constituée de la globine et d'un groupe prosthétique appelé hème\*. Au centre de l'hème, se situe un atome de fer avec ses six sites de coordinations. Le sixième site de coordination permet de lier un ligand tel que le dioxygène ou encore l'eau. En fonction de l'état d'oxydation du fer (ferreux  $Fe^{2+}$  ou ferrique  $Fe^{3+}$ ) et du ligand lié, la myoglobine se trouve couramment sur 3 formes : la désoxymyoglobine, l'oxymyoglobine ou la metmyoglobine. Chaque forme redox de la myoglobine, quand elle est majoritairement présente dans la viande, engendre des couleurs différentes. La désoxymyoglobine est de couleur violacée et est associée

à un produit sous vide ou immédiatement coupé. L'oxymyoglobine est de couleur rouge vif et est associée à une viande rouge en barquette de bonne qualité alors que la metmyoglobine, de couleur marron sur la viande, entraîne un rejet du consommateur pour le produit. En effet, il existe une dynamique d'interconversions (réactions d'oxydoréduction) entre ces trois formes de la myoglobine. Initialement, la myoglobine ou désoxymyoglobine subit une oxygénation ou blooming\* en se liant au dioxygène et devient de l'oxymyoglobine de couleur rouge. Sous de faibles pressions partielles en dioxygène comme lors de la respiration cellulaire par le tissu musculaire, l'oxymyoglobine peut redevenir de la désoxymyoglobine qui est sensible à l'oxydation. Cette oxydation au niveau de l'atome de fer au centre de l'hème entraîne le passage de la désoxymyoglobine de couleur violacée en metmyoglobine de couleur brune. Cependant, cette chimie de la myoglobine ne correspond pas aux phénomènes de changements de couleur visible à la surface de la viande. En effet, visuellement la viande bovine passe d'une couleur violacée à rouge puis brune c'est-à-dire de la désoxymyoglobine à l'oxymyoglobine et enfin à la metmyoglobine. Cela s'explique par le fait que le dioxygène ne peut pénétrer jusqu'au cœur de la viande. La surface de la viande est rouge et riche en oxymyoglobine et plus on pénètre dans la viande plus le dioxygène se fait rare jusqu'à arriver à la couche de désoxymyoglobine à cœur. À la limite entre ces deux couches, une fine couche de metmyoglobine se crée à partir de la désoxymyoglobine. Progressivement, cette couche de metmyoglobine remonte à la surface entraînant un virement de couleur visuel de rouge à marron.

Il est possible de nos jours de mesurer et représenter, en conditions industrielles, la couleur de la viande grâce à différents équipements. Cette mesure de la couleur est dépendante de la source lumineuse qui éclaire la viande et du détecteur qui reçoit et traite l'information (la ou les longueur(s) d'onde réfléchies). Pour cela, la source lumineuse doit être standardisée tant sur le type de lumière (lumière fluorescente, LED...) que sur l'intensité de la source ou encore le fond utilisé. Le détecteur peut aussi être difficile à contrôler surtout quand l'œil humain sert de détecteur. Des appareils tels que les colorimètres ou les spectrophotomètres permettent de mesurer la couleur de façon standardisée. De nouvelles méthodes basées sur l'analyse d'images comme la vision par ordinateur permettent d'obtenir des mesures de couleur de viande fiables et représentatives du morceau de viande. Les mesures de couleur peuvent être représentées selon différents systèmes. Le premier est celui inventé par Munsell, fondé sur le classement des couleurs selon trois critères de perception visuelle qui sont la teinte, la valeur et la saturation. Ensuite, la Commission Internationale de l'Éclairage (CIE) a développé le système CIE XYZ qui est une amélioration du système RVB constitué des trois couleurs primaires (Rouge, Vert, Bleu ou Red, Green, Blue (RGB) en anglais). Enfin, pour se rapprocher de la perception de

l'œil humain, la CIE développa le système CIE Lab qui correspond à la luminosité  $L^*$  (de 0 noir à 100 blanc), la valeur de  $a^*$  (de +60 pour le rouge à -60 pour le vert) et le  $b^*$  (de +60 pour le jaune à -60 pour le bleu). De nombreuses études ont été menées afin de mettre en évidence et comprendre quels facteurs pouvaient influencer cette valeur de  $a^*$  représentative de la couleur rouge de la viande. Différents facteurs ont été répertoriés et peuvent être classés en deux catégories : les facteurs pré-abattage et les facteurs post-abattage. Les facteurs pré-abattage sont notamment liés à l'animal comme l'espèce, la race, le sexe, l'âge de l'animal ou encore le régime alimentaire et l'activité ; ils sont plus difficilement étudiables. En revanche, certains facteurs pré-abattage comme le type de muscle, la teneur en myoglobine ou l'auto-oxydation des pigments ont été étudiés. En ce qui concerne les facteurs post-abattage, leur étude a aussi mené à de nombreuses recherches. Ces facteurs correspondent notamment à la température de *rigor mortis*\*, à la chute de pH et de la valeur de pH ultime lors de la transformation du muscle en viande et à la pression partielle en dioxygène, à l'atmosphère et la température de stockage ou encore la lumière. La microbiologie peut aussi tenir un rôle dans les virements de couleur de la viande rouge fraîche. Les muscles de l'animal étant stériles, aucun microorganisme ne devrait être présent à la surface de la viande. Cependant durant les étapes de transformation, de transport ou de manipulation, la viande peut être contaminée. Les microorganismes les plus souvent retrouvés à la surface de la viande sont les *Pseudomonas*, les entérobactéries, les bactéries lactiques et *Brochothrix thermosphacta*. La diversité des microorganismes retrouvés dépend notamment de la diversité initiale, de la température de stockage et des conditions atmosphériques (présence de dioxygène ou non). De plus, ces microorganismes n'ont pas la même influence sur les virements de couleur. En effet, certains sont capables d'accélérer le virement de rouge à marron comme les *Pseudomonas* alors que d'autres comme certains *Enterococcus* sont capables de favoriser le passage de marron à rouge. Certaines bactéries lactiques ont la capacité d'engendrer le passage de l'oxymyoglobine en cholemyoglobine ou sulfomyoglobine qui donne la couleur verte à la viande.

Enfin, il serait intéressant de pouvoir modéliser et prédire ces virements de couleur en fonction des différents facteurs pour être capable de pallier ces phénomènes notamment en industrie. Cependant peu d'études ont été réalisées à ce jour. Les travaux qui ont été réalisés et synthétisés dans cet ouvrage s'inscrivent dans cette optique. Cette thèse financée par le FEDER, la région Auvergne et l'Association pour le Développement de l'Institut de la Viande (ADIV) a pour but de (1) développer une nouvelle méthode de mesure du potentiel d'oxydoréduction comme indicateur des virements de couleurs dans la viande fraîche bovine, (2) modéliser l'impact des facteurs influençant ces virements et (3) développer un outil de prédiction de ces

virements. L'approche de cette étude est partie du constat que comme les interconversions entre les formes de la myoglobine sont des réactions d'oxydoréduction (oxydation du fer), une mesure du potentiel d'oxydoréduction (pOR) devient cohérente. Le pOR est une grandeur thermodynamique qui indique l'état oxydant ou réducteur d'une substance. Il est donc possible que le pOR permette de suivre les virements de couleur de la viande fraîche bovine. De plus, cette mesure de pOR peut s'affranchir des contraintes de standardisation que la mesure de la couleur impose. Le but de cette étude est de réaliser une mesure du pOR à même une carcasse, au niveau du muscle entrecôte (qui est accessible lors de la séparation entre le quartier avant et le quartier arrière) afin de savoir, grâce cette valeur et à un modèle de prédiction, au bout de combien de temps la viande sur la carcasse passera d'une couleur rouge à brune. Cela permettrait de classer en amont les carcasses afin de mieux les orienter. En effet, une carcasse dont la valeur de pOR indiquerait un virement précoce serait alors envoyée sur une ligne de produits transformés, tandis qu'une carcasse dont la valeur de pOR indiquerait un virement plus tardif serait distribuée en grandes et moyennes surfaces (GMS) et proposée en viande découpée et emballée.

L'étude faite dans le cadre de cette thèse sera présentée comme suit : une première partie bibliographie présentera un récapitulatif de l'obtention de la viande rouge de la fourche à la fourchette, puis la viande rouge et les virements de couleur afin de mieux comprendre ces phénomènes complexes et comment on les mesure, puis les facteurs qui influencent les virements de couleur seront présentés avec un arrêt particulier sur la microbiologie et enfin une partie modélisation des virements de couleur. Cet état de l'art sera suivi d'une partie matériels et méthodes qui résumera les différentes techniques qui ont été développées et utilisées comme la préparation des différents échantillons (viandes rouges et leurs jus), le développement des prototypes de mesures en passant par le suivi des mesures physicochimiques et l'analyse des données. Par la suite, les résultats seront présentés et discutés selon trois axes : les virements de couleur et le potentiel d'oxydoréduction, les rôles de la microbiologie sur les virements de couleur et enfin la modélisation et la prédiction du virement de couleur. Enfin, cette étude se terminera par une conclusion générale et des perspectives qui permettront de mettre en avant les points clés qui ont été résolus et les travaux qu'ils restent à effectuer.

# **Chapitre I – État de l’art**

# 1. Viande rouge bovine : de la fourche à la fourchette

## 1.1 Élevage de bovins

### 1.1.1 Famille des bovins

Depuis l'antiquité, la famille des bovins a toujours été composée du veau, du jeune bovin, de la génisse, du bœuf, du taureau et de la vache (figure 1).



Figure 1 : Récapitulatif de la famille des bovins (Cartier et Moevi, 2007).

### 1.1.2 Races bovines

En France, le cheptel bovin est composé essentiellement de 38 races différentes (annexe 1). Cela fait de la France le premier pays d'Europe avec le plus grand nombre de races comme par exemple la Charolaise, la Limousine, la Prim'Holstein, la Bretonne pie noire, la Normande ou encore la Montbéliarde (annexe 2). Ces races mettent en avant un véritable patrimoine tout comme le charme et la variété de nos campagnes qui le constituent.

En effet, la nature du sol, l'inclinaison, le climat, les différentes qualités d'herbage mais aussi la volonté de l'éleveur, expliquent l'implantation sur nos terroirs de ces différentes races (Cartier et Moevi, 2007).

Les races bovines sont séparées en trois types :

- les races à viandes (ou races allaitantes) élevées pour la production de viande qui se composent de trois familles :
  - o les traditionnelles : Charolaise, Limousine, Blonde d'Aquitaine, Rouge de prés, etc.
  - o les régionales : Blanc bleu, Parthenaise, etc.
  - o les rustiques : Salers, Gasconne, Aubrac, etc.
- les races laitières élevées pour la production de lait : Hosltein, Prim'Holstein, Bretonne pie noire, Jersaise, etc.
- les races mixtes élevées pour la production de lait et de viande : Normande, Montbéliarde, Abondance, Tarentaise, Simmentale, etc.

### 1.1.3 Identification des bovins

En 1978, la France a mis en place un système exemplaire d'identification de l'ensemble des bovins.

Quatre principaux éléments d'identification sont utilisés :

- l'attribution à chaque animal d'un numéro national unique porté sur un repère apposé aux deux oreilles. En France, le numéro d'identification comporte 10 chiffres, précédés des initiales FR indiquant le code du pays. Les deux premiers chiffres correspondent au numéro du département ;
- l'inscription des mouvements de chaque bovin dans un registre d'élevage ;
- l'enregistrement de ces informations dans une base de données nationale ou l'EDE ;
- l'édition d'un document d'identité, le passeport du bovin, qui accompagne chaque bovin tout au long de sa vie et notifiant au verso tous ses déplacements, (annexe 3).

### 1.1.4 Organisation de l'élevage bovin

L'élevage bovin est réparti en deux types, l'élevage allaitant et l'élevage laitier. La répartition des deux types de production est présentée en figure 2.



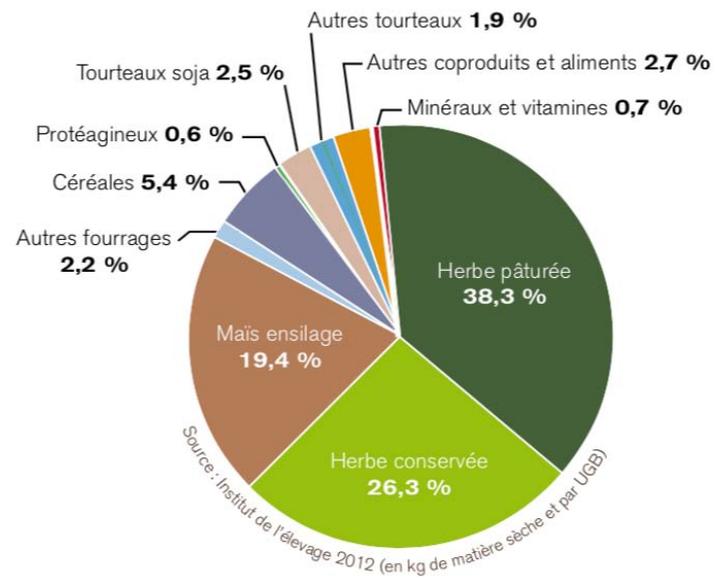
- □NRD(f)E En0RD RD C D D f U A I D m p 9 D I E f h m 0 R M m D). □ D N □ R (□ U f . D R E V I D p n E n L U M C C h (□ R □ N a I D R U R □ M f h 0 9 . R □ □ R D C h 0 R □ M R S m D M a R H R □ f) □ f U U h D f . . R N R S R ( M D f E 0 2 f □ f) M R p) N p R M R R ((R E n V R □ □
- □NRD(f)E En0RD p N D f) □ S f C D I L L 2 L D □ U f . D R E V I D □ N a I E C M R N a C E M r d). □ G C S □ p n D (□ R □ F) R □ R D □ L N V R E D □ m p p R N R ( □ N R E) I m . . m 0 R □ M a R H R □ f) □ M R I N I 0) S C R) D R □ o R D) p E f M) C C ( R E S L M a C R R . ( H R) 6 f C R I ( ) . R □ . D C h 0 R □ □

□2nF)R□-f)E □ N a C S m n M f C □ U f . D f S S R E □ D n E n C. □ U o R D □ M R □ N a F) m ( C L □ M a C S R ( D □ . L U R D □ C R p f) E □ U f) V E C I R D I R D C D □ □ R ( R E n C. □ V h R D C V n t ( N R D p 9 U R m C S m R □ N z 0 R M R N a C S m n R ( h p R p E C U G p n M P E f M) U C. □ V a M R) N n C □ N m D n C □ R ( N a E L O C. M a R V i 0 R □ □ G C N a E n C. □ . c e R D □ p n D D) 6 6 C n ( R □ N E N V R E p R) ( H R U) E C □ . R □ D p p N S R ( n C. □ m V R U M R □ U S p N S R ( D n S R ( n C R D 6 0) E R □ □ □ □

□□ p H ( L F) R D □ □ ( C D n C. □ M R ( f) E ( R m b □ M R 0 E n C R D f n 0 C R) D R D U S S R N R D - m N R I C □ N R □ ( f) E . R D N) R . U f E R N R U f N & m □ □

□□ L R E O L ( F) R D □ □ ( C D n C. □ M R L H m n R D E C 2 R D R □ 0) N U C M R U S S R N R I N □ N a E O R f) □ N R S m D □ S n C n) D □ M R V L O L ( m b U f S S R N R D) N p R M R R ((R E n V I D □ □

□



□

□ \*ÉCq □□□□□jC-IT c: qhhql(q ēcÉCq xq I b 7Cj- qlq-ECc-7\*hl □ 7x7-j- ql b ch l c T 7ql q h □ □ Ghb qEjC-qlSc' \*hI(q IZ-q'jxq IECc(Éb-qÉC(q -j\*-q- q □ \*h(q □ gwhl-\*É- q -w-q'jxq q -q □ qh-Cq(w hécCTj-\*hI(q Id \*h(q I □ □ □

□

□

### 1.1.5.2 Alimentation des bovins

Les génisses sont élevées et engraisées en moyenne pendant 3 ans. Après leur sevrage et avoir pâture pendant les huit premiers mois avec leur mère, la ration alimentaire des génisses varie en fonction des saisons. En effet, au printemps et en été, elles pâturent uniquement, alors que pendant l'automne et l'hiver, elles mangent du foin et des fourrages conservés ainsi que des tourteaux et des céréales. Les génisses à viande sont élevées de 42 à 45 mois et font généralement un veau mais l'alimentation reste la même comme pour les bœufs. Pour les jeunes bovins ou les taurillons, ils sont alimentés par des fourrages à base de maïs (plante entière). Cette plante est riche en glucides mais pauvre en protéines donc les rations sont complétées avec de la matière azotée comme des tourteaux de céréales (exemple : tourteaux de soja). Pour les vaches laitières et allaitantes, l'alimentation est quasiment la même. Elle est divisée en 3 périodes : (1) la période d'élevage qui se termine avec le premier vêlage (alimentation de la génisse), (2) la période de production de lait avec une alimentation énergétique composée au trois quart de fourrages (herbe et maïs) et le dernier quart de céréales, et enfin (3) la période de finition pour préparer la vache de réforme avec une ration riche avec deux tiers de céréales et un tiers de fourrage. Pour les vaches allaitantes, la deuxième période est consacrée à porter et allaiter le veau donc les besoins en énergie sont moindres et elles passent 60 à 80 % de l'année à pâture.

## 1.2 Production de viande rouge bovine

### 1.2.1 Abattage

Après avoir été élevés et nourris, les différents bovins sont acheminés grâce à une bétailière jusqu'à un abattoir où ils seront abattus, éviscérés devenant ainsi des carcasses (figure 4 et 5). Une fois réfrigérées, les carcasses seront distribuées directement sous forme de carcasses ou découpées en quartiers ou en morceaux selon les circuits de commercialisation (cf. Chapitre I - 1.3.1).

□ofū\*d i. â xofuo\*xo\*cxi\*fxo.ūi v o  
f. gxo. i dlgAuoP xof g r pof  
□o□ ofpq\*fi mo□□gqouclq\*□□\*d i vo  
□ □□ xovē mi aqdf.g Éodvoūt d\*xo  
li g \*clq v nūb\*clj di \*uo xofū\*d i. â □

□o m q. Écbg □ u q \*clj (i māt) l g Auo  
i. â m q. uof xÉko\*cl di clj \*□o\* x b \*ū Éou  
vo. g pi f fop q g d \* x d É k. ov q. x q u. r o \* c x o  
u d g u. v i c l j \* □

□ofū\*d i. â f q \* c i r o \* ) f i i. p q f a o  
x É m i a q d g □ □ of x d p q f d d f f q \* c r d f o \*  
p v i u o p q . g ) É d o g x o . g f g o f f i u q r r o x o f  
f q v f i \* c k ) g p i \* c f q . x o f f ) u i \* d r o f  
i \* c l g o u . v f p q . g ) É d o g x o f m q f u . v i x o f

□É \* d i v ) a q . x d o c d \* u q \* f u b \* c a q r n o o c  
f É t t i w □ □ i É ) g t d i c l j \* x o  
v É \* u q \* f u b \* u o x o v É \* d i v o f c o t t o u c ) o  
□É \* d i v o f c o v É ) p i g v É \* o x o f f o f p i a o f  
i g g d g o f p q . g o \* c g g x i \* f v i ū é i d \* o  
x É m i a l o □

□ofū\*d i. â f q \* c d \* f a w ) f x i \* f v i  
m q . É c g b □ □ d o f c ) ' . d p ) o x É m g . É q d f o c  
i r ) \* i l ) o p q . g t i u d d o g x o . g ū d g u . v i c l j \*  
o c x o . g p p q f  
□ i É ) g t d i c l j \* x o v É ) a c x o f i \* c ) x o f  
i \* d i . â o f c o t t o u c ) o p i g v o f d \* f p o u a . g  
É ) c g \* i d g f x o v É R a c

□ofū\*d i. â f q \* c d r q m d f ) f l g A u o P  
x o f ) ' . d p o r o \* c f  
□É \* d i v o f c ) a q . g x d d \* f a \* a \* ) r o \* c  
l g A u o P . \* p d a q v o c x É m i a l o □ □ i a x q g □

s \* (q p ) g i o . g É k o v É \* d i v x o f q \* f i \* l  
v o p v f l g p k o r o \* c p q f f d n o □ □ t d \*  
x É f f . g o g v i v d ) f i \* d i d g x o u q \* c l j  
x o v i r q g x o v É \* d i v o f c i . f f d d  
g i v d ) □



## 1.2.2 Classement des carcasses de gros bovins

### 1.2.2.1 Catégorie

Les carcasses sont classées selon 5 catégories représentées par les lettres A, B, C, D et E (France AgriMer, 2016) :

- A : carcasses de jeunes bovins mâles non castrés de moins de deux ans (jeunes bovins) ;
- B : carcasses d'autres animaux mâles non castrés (taureaux) ;
- C : carcasses d'animaux mâles castrés (bœufs) ;
- D : carcasses d'animaux femelles ayant déjà vêlées (vaches) ;
- E : carcasses d'autres animaux femelles (génisses).

Depuis juillet 2008, la réglementation communautaire impose dans son règlement N° 1234/2007 concernant la commercialisation des viandes issues de bovins âgés de 12 mois au plus, l'identification des carcasses issues de ces animaux :

- V : carcasses issues d'animaux ayant un âge inférieur ou égal à 8 mois. La dénomination de vente utilisée est « veau » ;
- Z : carcasses issues d'animaux mâles ou femelles ayant un âge supérieur à 8 mois et inférieur ou égal à 12 mois. La dénomination de vente utilisée est « jeune bovin ».

### 1.2.2.2 Conformation

La conformation ou encore « forme » du bovin représente le capital musculaire de l'animal notamment au niveau de la cuisse, du dos et de l'épaule. Elle est répartie en 5 niveaux qui sont représentés par les lettres E.U.R.O.P :

- E : excellente, développement musculaire exceptionnel ;
- U : très bonne, fort développement musculaire ;
- R : bonne, bon développement musculaire ;
- O : assez bonne, développement musculaire moyen ;
- P : médiocre, développement musculaire réduit.

Un 6<sup>ème</sup> niveau existe, la conformation S (supérieure) pour les animaux présentant un développement musculaire exceptionnel avec doubles muscles (annexes 4 et 5). Cette conformation est souvent donnée aux animaux du type culard, c'est-à-dire, un animal possédant un arrière train avec une hypertrophie musculaire (France AgriMer, 2016).

### 1.2.2.3 État d'engraissement

Les carcasses sont aussi classées selon leur état d'engraissement notamment au niveau de l'extérieur de la carcasse et sur la face interne de la cage thoracique (annexes 6 et 7). Cet état est réparti en 5 niveaux allant de 1 à 5 (France AgriMer, 2016) :

- 1 : très faible ;
- 2 : faible ;
- 3 : moyen ;
- 4 : fort ;
- 5 : très fort.

### 1.2.2.4 Marquage

Après que les carcasses aient été classées en fonction de la catégorie, de la conformation et de l'état d'engraissement, un marquage est réalisé par estampillage (marquage à l'aide d'un tampon) (France AgriMer, 2016) :

- à l'encre indélébile et non toxique (encre de qualité alimentaire) ;
- sur les quartiers arrière, au niveau du faux-filet, à la hauteur de la quatrième vertèbre lombaire ;
- sur les quartiers avant, au niveau du gros bout de poitrine, à environ 20 centimètres de la fente du sternum ;
- les lettres et les chiffres utilisés doivent avoir au moins 2 centimètres de hauteur.

## 1.2.3 Maturation

### 1.2.3.1 Différents types de maturation

Il existe deux principaux types de maturation :

- la maturation à sec, aussi appelée « dry aging », consiste à une maturation sur carcasse. En effet, les carcasses sont pendues pendant plusieurs jours (entre 12 et 14 jours) à l'air libre et à basse température (entre 1 et 2 °C). Cette technique favorise la croissance de certaines espèces fongiques à l'extérieur de la pièce de viande, qui forment une espèce de croûte dure. Plutôt que de gâter la viande, ces champignons aident, les enzymes à

attendrir la viande et ajouter du goût. Cette croûte est ensuite enlevée quand la viande est prête à être cuisinée ;

- la maturation humide, aussi appelée « wet aging », consiste à maturer des morceaux de carcasses sous vide et à basse température. En effet, cela permet d'accélérer le processus de maturation (entre 4 à 10 jours). Cela signifie que la viande peut être maturée pendant son transit entre l'abattage et le point de vente, évitant les inconvénients du stockage pendant plusieurs semaines.

### 1.2.3.2 Mécanismes de la maturation

L'étape de maturation de la viande s'effectue en 3 états successifs :

- l'état pantelant\* : lorsque l'animal est vivant, ses muscles se contractent et se relâchent grâce à une molécule énergétique, l'ATP (Adénosine TriPhosphate). Cette molécule est produite à partir du glycogène, réserve de glucose, présent dans les muscles (annexe 8). Immédiatement après l'abattage, le muscle est encore souple et la couleur des muscles est relativement foncée par le manque d'oxygénation. La quantité d'ATP disponible conditionne la durée de cet état pantelant (environ 30 min). Celui-ci varie selon l'espèce, le muscle, les conditions de stockage et du traitement des carcasses, mais aussi de l'état physiologique de l'animal avant l'abattage ;
- l'état de rigidité cadavérique ou *rigor mortis* : après la mise en chambre froide des carcasses, les réserves énergétiques stockées sous forme de glycogène s'épuisent rapidement. En effet, le glycogène est alors transformé en acide lactique à cause de la chute de la quantité d'oxygène dans le sang (annexe 8).

L'acide lactique s'accumule et acidifie le muscle (chute du pH de 7 à 5,6 en moyenne) jusqu'à atteindre une valeur finale de pH appelée pH ultime.

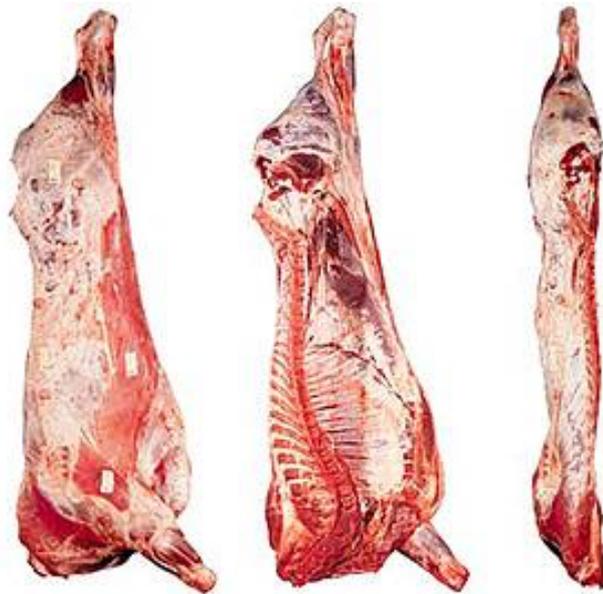
Suite à ce manque d'ATP, les fibres musculaires se figent diminuant ainsi la rétention d'eau dans le muscle et celui-ci devient alors rigide. Cet état dure plusieurs jours.

- l'état de maturation à proprement dit : cette acidification permet l'activation de protéases, enzymes qui progressivement fragmentent les protéines du muscle (notamment au niveau de la strie Z, cf. Chapitre I - 2.1.1.2) et permettent ainsi son attendrissement naturel. Cet état correspond à la transformation du muscle en viande, au cours de laquelle se forment également les précurseurs des arômes et de la saveur de la viande.

## 1.2.4 Découpe

### 1.2.4.1 Processus de la découpe

L'étape de découpe est divisée en quatre transformations successives. Suite à l'abattage des animaux, les carcasses entières ou demi-carcasses (figure 6) sont placées dans des chambres de ressuage puis dans des chambres froides de conservation pour la maturation à sec. Cependant, elles peuvent directement être envoyées en première et deuxième transformation pour la maturation humide. La 1<sup>ère</sup> transformation correspond à la grosse découpe, c'est-à-dire la division des carcasses en quartiers.



*Figure 6 : Représentation d'une demi-carcasse gauche de bœuf sous différentes vues : vue extérieure, vue intérieure et vue de profil, représentées de gauche à droite (<http://www.fleisch-teilstuecke.at>).*

La deuxième transformation correspond à la transformation des quartiers en morceaux suite aux opérations de découpe, désossage, parage, piéçage\* (figure 7).

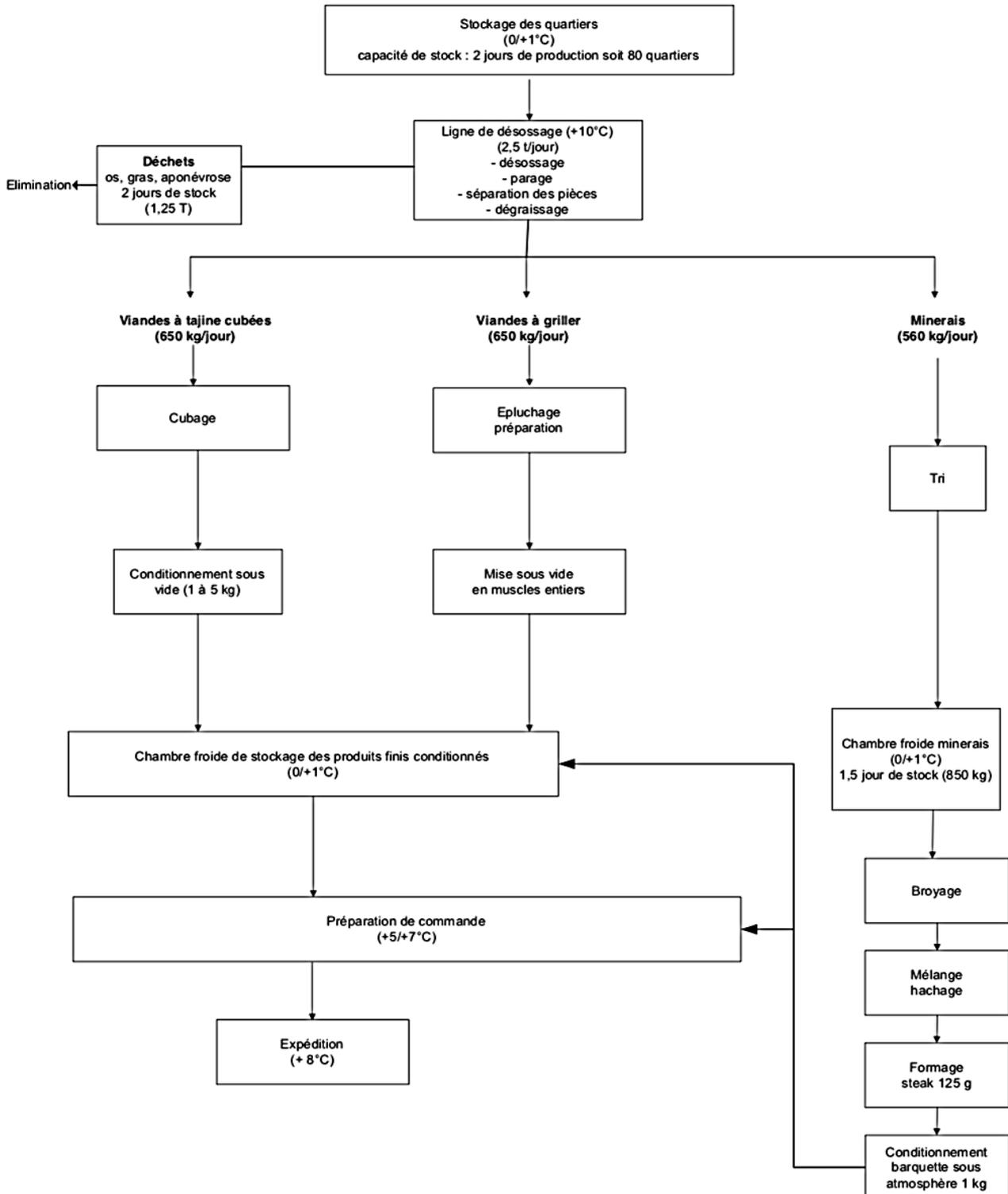


Figure 7 : Schéma des opérations successives de découpe des quartiers. Le nombre de quartiers produits et les tonnages traités sont représentatifs de l'ADIV (Association pour le Développement de l'Institut de la Viande, 2010).

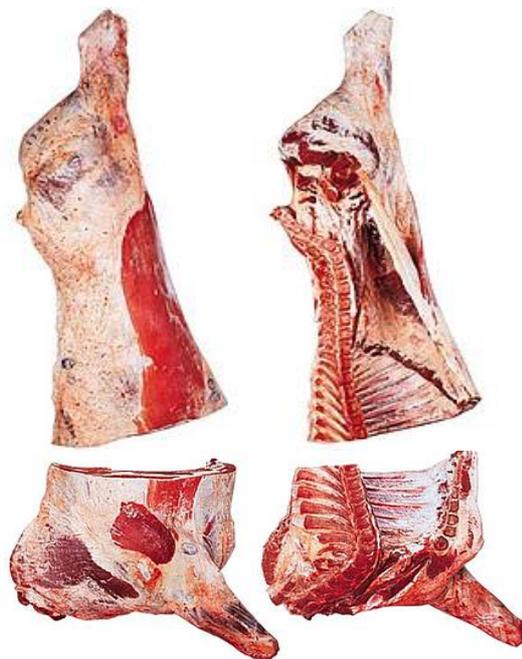
Les troisièmes et quatrièmes transformations correspondent à la réalisation des opérations de fabrication des produits élaborés (préparation des ingrédients, approvisionnement des lignes de production, conduite des machines, conditionnement, étiquetage des produits, etc.).

#### 1.2.4.2 Types de coupe

Il existe deux principaux types de coupe utilisés pendant la 2<sup>ème</sup> transformation pour séparer les demi-carcasses en quartier puis en morceaux (Cartier et Moevi, 2007) :

- la coupe droite à 5 côtes donnant (figure 8) :
  - le quartier arrière à 8 côtes avec le flanchet\*, coupe droite ;
  - le quartier avant à 5 côtes, coupe droite ;
- la coupe pistolet donnant (figure 9) :
  - le quartier arrière sans le flanchet ;
  - le quartier avant, coupe pistolet.

*Remarque : Une coupe droite à 10 côtes existe séparant un quartier avant à 10 côtes et un quartier arrière à 3 côtes.*



*Figure 8 : Représentation du quartier arrière (avec le flanchet) et du quartier avant de bœuf suite à une coupe droite, vue extérieure à gauche et vue intérieure à droite (<http://www.fleisch-teilstuecke.at>).*





## 1.2.5 Quelques chiffres sur la production française de viande bovine

En 2016, la production française de bovins c'est :

- 19 millions de têtes dont 21 % de vaches allaitantes et 20 % de vaches laitières. La différence entre le nombre total de bovins et le nombre de vaches est constitué des femelles qui ne sont pas en âge de se reproduire et des mâles (tableau 1) ;
- Les trois races les plus produites sont la Prim'Holstein avec 31 %, la Charolaise avec 19 % et la Limousine avec 14% (tableau 2) ;
- 3,5 millions de têtes sont élevées pour la production de viande soit 1,3 millions de tonnes équivalent-carcasse (1 tec = 0,77 tonnes de viande de bovine) dont 50 % de vaches, 32 % de taureaux, 12 % de génisse et 6 % de bovins (tableau 3).

Tableau 1 : Évolution de 1995 à 2017 des nombres de vaches et de bovins (par 1000 têtes) en France métropolitaine (L'institut de l'élevage et la confédération nationale de l'élevage, 2017).

Au 1 <sup>er</sup> janvier	1995	2000	2005	2015	2016	2017
Vaches laitières*	4 760	4 424	4 034	3 835	3 803	3 784
Vaches allaitantes	3 983	4 071	3 974	3 994	4 055	4 072
<b>Total bovins</b>	<b>20 507</b>	<b>20 216</b>	<b>19 428</b>	<b>19 224</b>	<b>19 367</b>	<b>19 338</b>

\* Les vaches croisées de père laitier sont désormais comptabilisées comme laitières (2005 à 2017).

Tableau 2 : Nombre de vaches par 1000 têtes présentes au 1er janvier classés par principaux types raciaux (L'institut de l'élevage et la confédération nationale de l'élevage, 2017).

Type racial	2005	2017	Évolution 2017/2005	% du total 2017
Prim'Holstein	2 656	2 425	- 9 %	31 %
Charolaise	1 499	1 512	+ 1 %	19 %
Limousine	870	1 109	+ 27 %	14 %
Montbéliarde	633	639	+ 1 %	8 %
Blonde d'Aquitaine	431	499	+ 16 %	6 %
Normande	493	331	- 33 %	4 %
Salers	184	218	+ 18 %	3 %
Aubrac	117	199	+ 70 %	3 %
Croisée*	687	615	- 10 %	8 %
Autres types raciaux	437	307	- 30 %	4 %
<b>Total</b>	<b>8 008</b>	<b>7 855</b>	<b>- 2 %</b>	<b>100 %</b>

\* Calcul basé non pas sur les déclarations mais sur la race des parents.

Tableau 3 : Production finie de gros bovins et de veaux (L'institut de l'élevage et la confédération nationale de l'élevage, 2017).

	2005	2016		
	En 1 000 têtes	En 1 000 têtes	En 1 000 téc	En % des gros bovins
Vaches	1 821	1 839	664	50 %
Génisses	502	436	164	12 %
Boeufs	248	185	73	6 %
Taureaux	1 060	1 021	421	32 %
<b>Total gros bovins</b>	<b>3 632</b>	<b>3 481</b>	<b>1 321</b>	<b>100 %</b>
<b>Total veaux</b>	<b>1 797</b>	<b>1 321</b>	<b>192</b>	

## 1.3 Commercialisation, achat et consommation des viandes bovines fraîches

### 1.3.1 Circuits de commercialisation

Il existe 4 principaux circuits de commercialisation pour les carcasses bovines qui sont basés sur le poids des carcasses (figure 12) :

- le circuit du « haché » pour les carcasses légères (moins de 230-250 kg). Pour ce circuit, la plus part des morceaux de la carcasse sont broyés afin de donner de la viande hachée qui peut être fraîche ou surgelée. La viande fraîche est destinée aux Grandes et Moyennes Surfaces (GMS) alors que la viande surgelée est destinée à la Restauration Hors Domicile (RHD) ou encore le Hard Discount (HD) ;
- le circuit du « catégoriel » pour les carcasses moyennes (environ 250-290 kg). Les carcasses sont transformées en pièces bouchères de façon anonyme c'est-à-dire qu'elles n'ont pas de référence directe aux carcasses dont elles proviennent. Les muscles sont dits anonymes comme par exemple, le faux-filet ou le rumsteck. Ce circuit fournit également la RHD, ou les promotions, lesquelles ne concernent jamais tous les morceaux de la carcasse en même temps ;
- le circuit du « reconstitué » (ou « compensé ») pour les carcasses lourdes (environ 290-340 kg). Les carcasses sont transformées en pièces bouchères, puis ces différentes pièces bouchères sont reconstituées pour reformer la carcasse. Ce circuit alimente principalement les rayons de GMS tout au long de l'année ;

- Le circuit de la « cheville » pour les carcasses les plus lourdes (environ 340-380 kg). Les carcasses ou les quartiers sont vendus tel quels et sont surtout destinés aux boucheries artisanales.

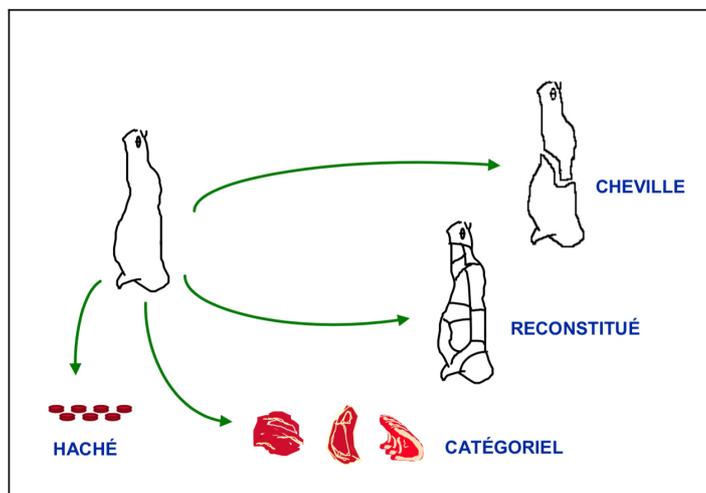


Figure 12 : Schéma des principaux circuits de commercialisation de la viande bovine (Cartier et Moevi, 2007).

### 1.3.2 Achat de viandes bovines fraîches

En France, les trois quarts des achats de viande de boucherie fraîche sont effectués dans les rayons des GMS et HD (circuit du « reconstitué »). En effet, depuis les années 1970, les GMS se sont développées permettant aux consommateurs de pouvoir effectuer tous leurs achats au même endroit, y compris les produits frais (figure 13).

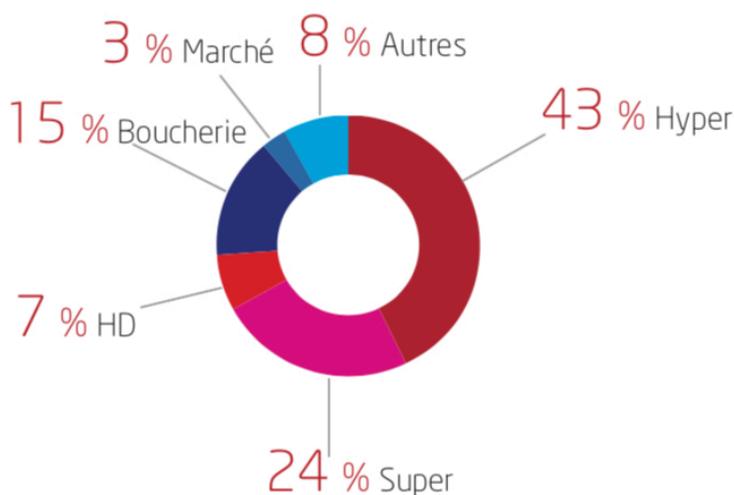


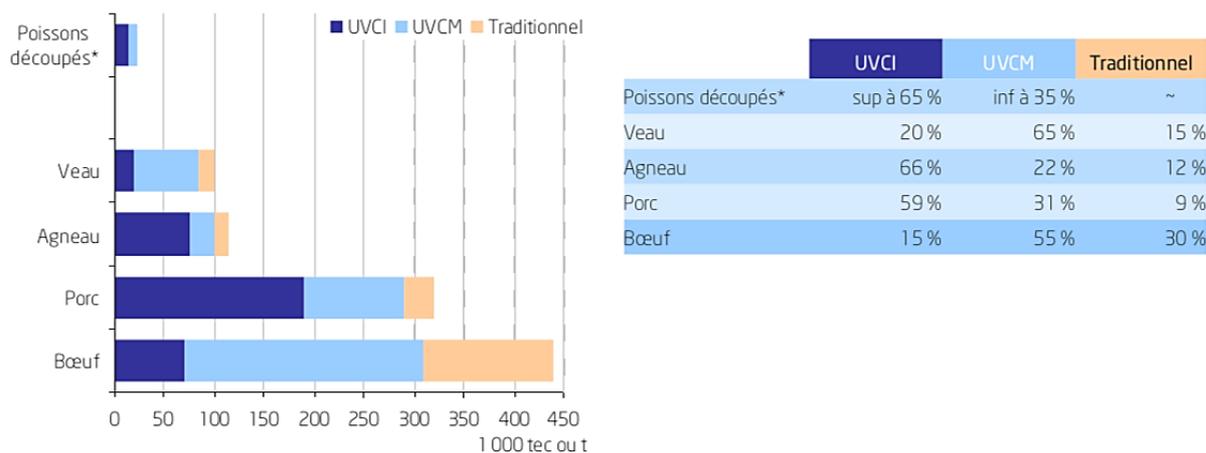
Figure 13 : Répartition des circuits de distribution des achats de ménages de viandes de boucheries fraîches en 2011 (France AgriMer, 2012).

### 1.3.2.1 Formats de ventes en grandes et moyennes surfaces et hard discount

Dans la grande distribution, au départ, le consommateur pouvait acheter de la viande au rayon traditionnel installé au sein des magasins, puis au rayon « libre-service » avec des morceaux de viande préparés et pré-emballés sur place par les bouchers. C'est ce que l'on appelle des Unités Vente Consommateur Magasin (UVCM). En effet, la viande est découpée et conditionnée sur place dans la boucherie du magasin. Puis progressivement, il est alors apparu dans le secteur carné, des UVCI (Unités Vente Consommateur Industrielle) directement fabriquées par les abatteurs-transformateurs de viande, notamment pour les découpes de volailles et la viande hachée. Le développement de ces UVCI tient à trois raisons principales (Cartier et Moevi, 2007) :

- l'innovation sur les emballages et les modes de conservation a permis d'allonger la durée de vie du produit. Le conditionnement Hebdopack®\* est le plus connu : créé par Charal en 1986, il portait le délai de conservation de la viande à 23 jours ;
- les crises sanitaires ont indirectement favorisé les unités de vente consommateur (UVC). Les crises dites de l'Encéphalopathie Spongiforme Bovine\* (ESB), aussi appelée maladie de la vache folle, en 1996 et 2000 et les intoxications sévères en 2005, suite à l'ingestion de steak haché contaminé par une bactérie pathogène *Escherichia coli*, ont conduit à un renforcement des normes d'hygiène pour la préparation et la distribution des aliments. La mise aux normes est parfois difficile à réaliser dans les petites unités comme les ateliers de découpe en magasin. Elle est souvent coûteuse par rapport au retour sur investissement espéré ;
- enfin, la relative désaffection des jeunes pour les métiers de bouche a rendu très difficile le remplacement des bouchers partant en retraite, ce qui a indirectement favorisé le développement des solutions alternatives au rayon traditionnel comme les rayons UVCI.

Aujourd'hui, le consommateur a plus tendance à se diriger vers des UVC que vers le rayon traditionnel pour acheter de la viande (figure 14).



\* hors poisson vendu au rayon traditionnel

Figure 14 : Parts relatives des UVCI/UVCM (Unités Vente Consommateur Industrielles/Magasin) dans les rayons libre-service des GMS (Grandes et Moyennes Surfaces) y compris HD (Hard Discount) (France AgriMer, 2012).

### 1.3.2.2 Critères d’achats

En France, les premiers critères d’achats sont l’aspect et la couleur à 44 % (90 % font ce choix), suivis par la présence de la mention de l’origine française de la viande à 26 % puis par le prix le plus bas à 14 % (figure 15).

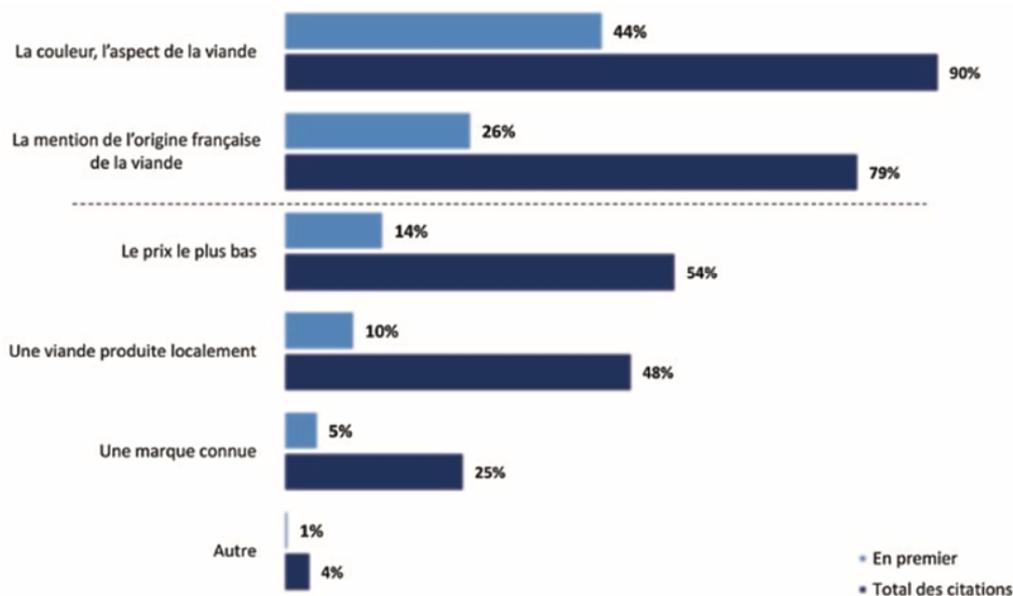


Figure 15 : Classement des critères d’achats de viandes fraîches dans les GMS (Syndicat national de l’industrie des viandes et syndicat national du commerce du porc, 2014)

### 1.3.3 Quelques chiffres sur la consommation de viande bovine en France

En 2016, la consommation de viande bovine s’élève à 1,6 million de tonne équivalent carcasse\* (téc) soit une consommation par habitant de 24 kg équivalent-carcasse (kg éc) avec un autoapprovisionnement de 94 %. La consommation de viande bovine se classe en troisième position derrière les porcins et les volailles (tableau 4).

Tableau 4 : Consommation nationale de viande contrôlée en France (L’institut de l’élevage et la confédération nationale de l’élevage, 2017).

	2005			2016		
	Conso. totale (1 000 téc)	Conso./hab. (kg éc)	Autoappro. (%)	Conso. totale (1 000 téc)	Conso./hab. (kg éc)	Autoappro. (%)
Bovins	1 670	26,6	94 %	1 585	23,8	95 %
Porcins	2 160	34,4	107 %	2 209	33,1	102 %
Ovins	232	3,7	44 %	165	2,5	50 %
Volailles	1 475	23,5	132 %	1 820	27,3	101 %
<b>Toutes viandes</b>	<b>5 568</b>	<b>88,7</b>	<b>105 %</b>	<b>5 796</b>	<b>86,9</b>	<b>98 %</b>

En ce qui concerne le type de viande bovine consommé, 65 % proviennent de vaches de réforme, 15 % de jeunes bovins (JB) et de taureaux (T), 13 % de génisses et enfin 7 % de bœufs (figure 16).

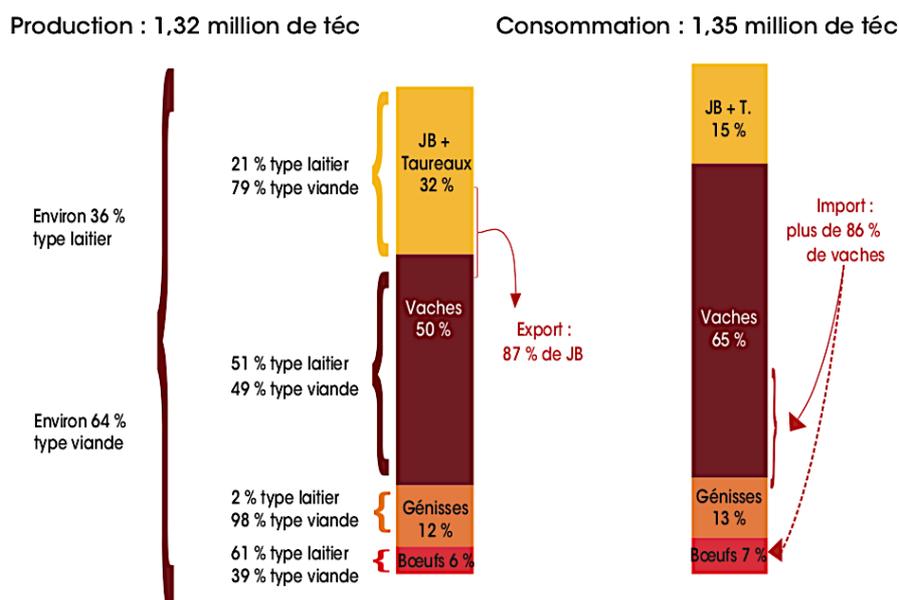


Figure 16 : Type de viande produite et consommée en France en 2016 (L’institut de l’élevage et la confédération nationale de l’élevage, 2017).

## 1.4 Gaspillage alimentaire dans le domaine de la viande

### 1.4.1 Au niveau mondial

Les pertes et gaspillages alimentaires de la viande et des produits carnés dans les régions industrialisées sont plus importants en bout de chaîne alimentaire, avec la combinaison d’une importante consommation de viande par habitant et d’une grande quantité de gaspillage par les distributeurs et les consommateurs, tout particulièrement en Europe et aux États-Unis. Le gaspillage constaté au stade de la consommation représente à peu près la moitié de la totalité des pertes et gaspillages alimentaires. Les niveaux relativement faibles de gaspillage constatés au stade de la production, des opérations d’après récolte et du stockage s’expliquent par un faible taux de mortalité des animaux pendant l’élevage ou le transport vers l’abattoir. Pour l’ensemble des régions en développement, les pertes se répartissent presque uniformément tout au long de la chaîne alimentaire. Il faut toutefois noter le niveau relativement élevé des pertes au stade de la production agricole en Asie du Sud et en Asie du Sud-Est. Cela s’explique par un taux important de mortalité des animaux dû à de fréquentes maladies (par exemple, pneumonie, maladies de l’appareil digestif et parasites) pendant l’élevage (figure 17).

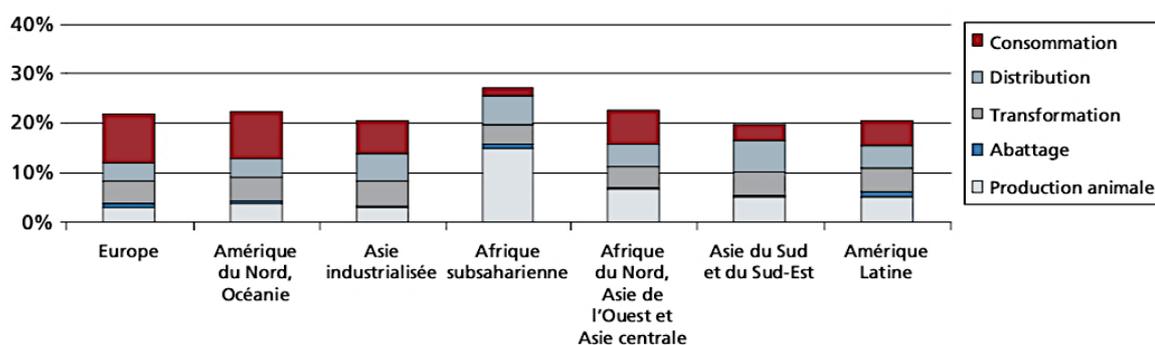
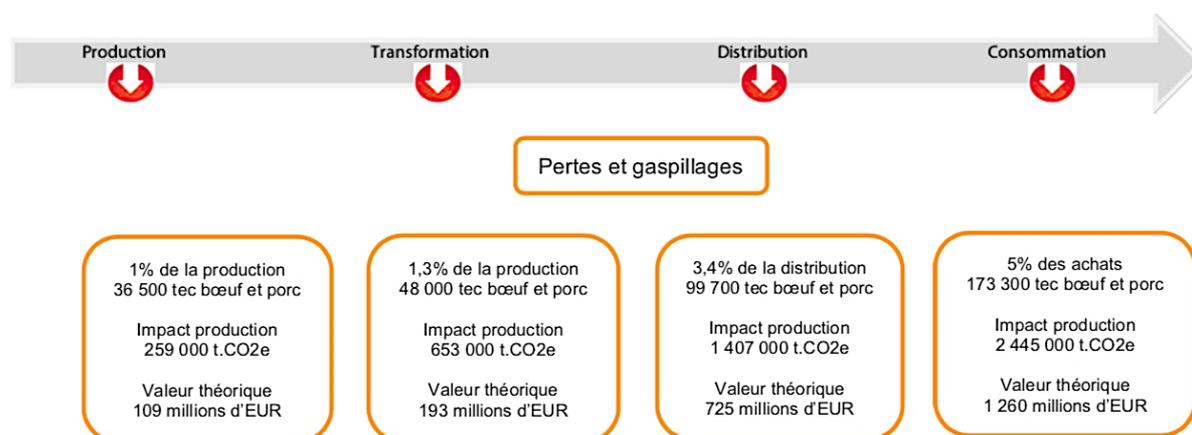


Figure 17 : Production initiale de viande perdue ou gaspillée par continent aux différents stades de la chaîne alimentaire (Food and Agriculture Organization, 2012).

### 1.4.2 Au niveau français

Avant abattage, les pertes et gaspillages constatés sont d’environ 1% et sont dans les élevages de porcs essentiellement liés à des crises cardiaques et dans les élevages bovins liés à des maladies pulmonaires ou à des accidents pouvant entraîner la mort de l’animal. Les pertes et gaspillages mesurés par les abattoirs sont très faibles, de l’ordre de 1 %, si l’on ne prend pas en compte les pertes non alimentaires (issues d’abattage et de découpe). Les pertes lors de la

transformation industrielle sont de 1 %. Les pertes et gaspillages mesurés chez les traiteurs sont plus élevés (10 % en total produits écartés et déclassés et 5 % pour l’alimentation humaine) avec une perte lors de la consommation qui augmente à cause des événementiels. Les pertes et gaspillages en GMS sont détaillés dans certains magasins et globalisés dans d’autres – en hypermarché les pertes et gaspillages sont mesurés en moyenne à 3,7 % (5 hypermarchés) et en supermarchés à 5,7 % (5 supermarchés). Les dons (associations, clients et salariés) sont évalués à 25 % en moyenne, mais ils peuvent monter dans certains magasins jusqu’à 60 %. Les données de panel consommateurs indiquent des pertes et gaspillages à hauteur de 4 % qui correspondent pour plus des 2/3 aux restes de repas. Il est considéré que les pertes et gaspillages en restauration hors domicile sont d’environ 10 % sur la viande, ce qui établit le bilan global des pertes et gaspillages lors de la consommation à 5 % soit 173 300 tonnes (figure 18).



Nous avons établi un prix moyen basé sur 60% de porc et 40% de bœuf (données de consommation)  
 Le prix de vente sortie élevage est 2 980 EUR la tonne  
 Le prix est de 4 020 EUR la tonne sortie abattoir et découpe  
 Le prix de vente en distribution est de 7 270 EUR la tonne (FranceAgriMer – Observatoire de la formation des prix et des marges – prix 2014 – juin 2015)

Figure 18 : Pertes et gaspillages de la viande bovine et porcine aux différents stades de la chaîne alimentaire en France (Agence de l’Environnement et de la Maîtrise de l’Énergie, 2016).

Lors de l’étape de consommation de la figure 18, une partie du gaspillage alimentaire en GMS et HD peut être causée par un rejet du consommateur suite à un changement de couleur de la viande (passage d’une couleur rouge à vert/marron). En effet, si la viande n’a pas un bon aspect et une bonne couleur, le consommateur ne l’achète pas (figure 15) ; ce qui entraîne du gaspillage alimentaire. Ces phénomènes de virements de couleurs seront expliqués dans la partie suivante.

## 2. Viande rouge et viements de couleurs

### 2.1 Complexité du milieu viande

#### 2.1.1. Structure du muscle

Les espèces animales de rente (ou de production) comme les bovins possèdent environ 40 à 43 % de masse musculaire, 7 à 21 % de tissus adipeux, 12 à 17 % de tissus osseux, 15 à 17 % pour la peau et le tractus digestif et 12 à 13 % par les organes sur le poids vif vide\* de l'animal (Micol *et al.*, 1993). Cette masse musculaire est composée de muscles striés squelettiques, de muscles lisses et du muscle cardiaque. Les muscles striés squelettiques, qui sont rattachés au squelette, sont responsables des mouvements volontaires, de la locomotion et du maintien de la posture de l'animal. Ils contiennent principalement des fibres musculaires mais aussi du tissu adipeux, du tissu conjonctif\*, du tissu vasculaire et du tissu nerveux en plus petite proportion. Ce sont principalement les muscles striés squelettiques qui seront transformés en viande.

##### 2.1.1.1 Échelle macroscopique

Le muscle squelettique est donc composé de fibres musculaires qui sont groupées parallèlement pour former des faisceaux. Chacun de ses niveaux de structure est enveloppé par du tissu conjonctif. On distingue ainsi, de la périphérie vers le centre du muscle, l'épimysium, qui est l'enveloppe externe du muscle, le périmysium qui délimite les faisceaux de fibres musculaires et l'endomysium qui enveloppe chaque fibre musculaire. Quand les morceaux de viande consommés sont constitués d'un seul muscle, l'épimysium est retiré. Dans le cas où les morceaux consommés sont constitués de différents muscles, il n'est éliminé que sur l'extérieur (figure 19).

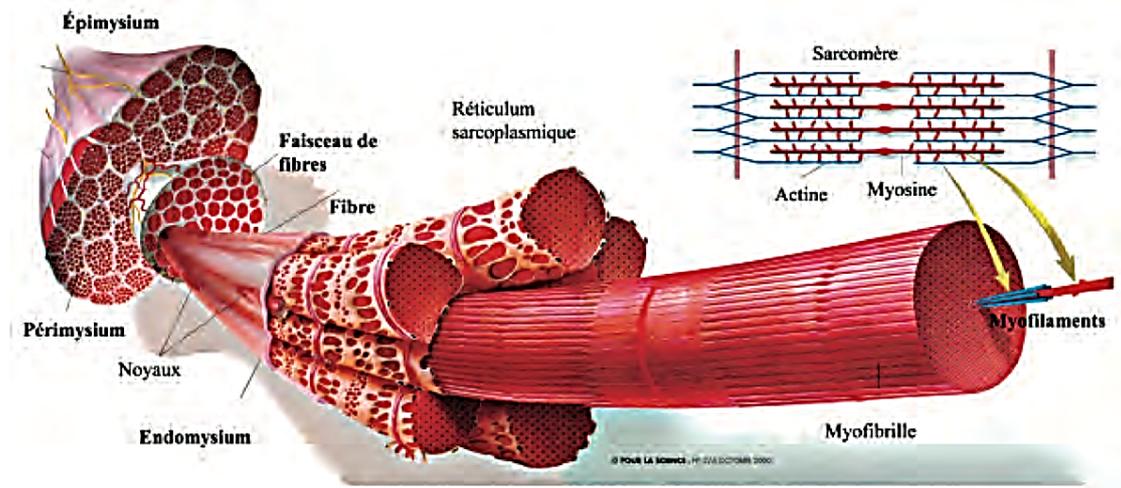


Figure 19 : Organisation générale du muscle (Listrat et al., 2015).

### 2.1.1.2 Échelle microscopique

Les fibres musculaires sont des cellules plurinucléées allongées et fusiformes, d'un diamètre de 10 à 200  $\mu\text{m}$  et d'une longueur de plusieurs centimètres. Pour toutes les espèces, la taille des fibres augmente avec l'âge et constitue un paramètre important de la croissance musculaire. Ces cellules sont délimitées par une membrane plasmique appelée membrane sarcoplasmique ou encore sarcolemme. Dans les fibres musculaires, les myofibrilles regroupées en faisceaux occupent la presque totalité du volume intracellulaire. Elles ont un diamètre d'environ 1  $\mu\text{m}$  et sont composées de myofilaments (figure 19). Les myofibrilles présentent en alternance des zones sombres (bandes A) et de zones claires (bandes I) observables en microscopie électronique à transmission (coupe longitudinale). Chaque bande I est séparée en deux par une strie Z. Entre deux stries Z se trouve l'unité contractile de la myofibrille appelée sarcomère (figure 20). Ce motif se répète tout le long de la myofibrille.

Le sarcomère est composé de deux types de filaments (figure 20) :

- les filaments fins essentiellement constitués d'actine\*, de protéines régulatrices de la contraction musculaire, des troponines\* T, I et C et de la tropomyosine\* disposée bout à bout le long de la chaîne d'actine ;
- les filaments épais généralement composés d'une suite de molécules de myosine possédant une activité ATPasique permettant de catalyser la dégradation de l'ATP (Adénosine TriPhosphate) en ADP (Adénosine DiPhosphate) et de l'énergie chimique indispensable à la contraction musculaire.

Le cytoplasme des fibres musculaires, aussi appelé sarcoplasme, héberge de nombreuses protéines solubles comme les enzymes de la glycolyse et la myoglobine (métalloprotéine contenant un atome de fer) responsable du transfert d'oxygène jusqu'aux mitochondries et qui pigmente les cellules en rouge. De plus, il contient des granules de glycogène (réserve énergétique) et des gouttelettes lipidiques.

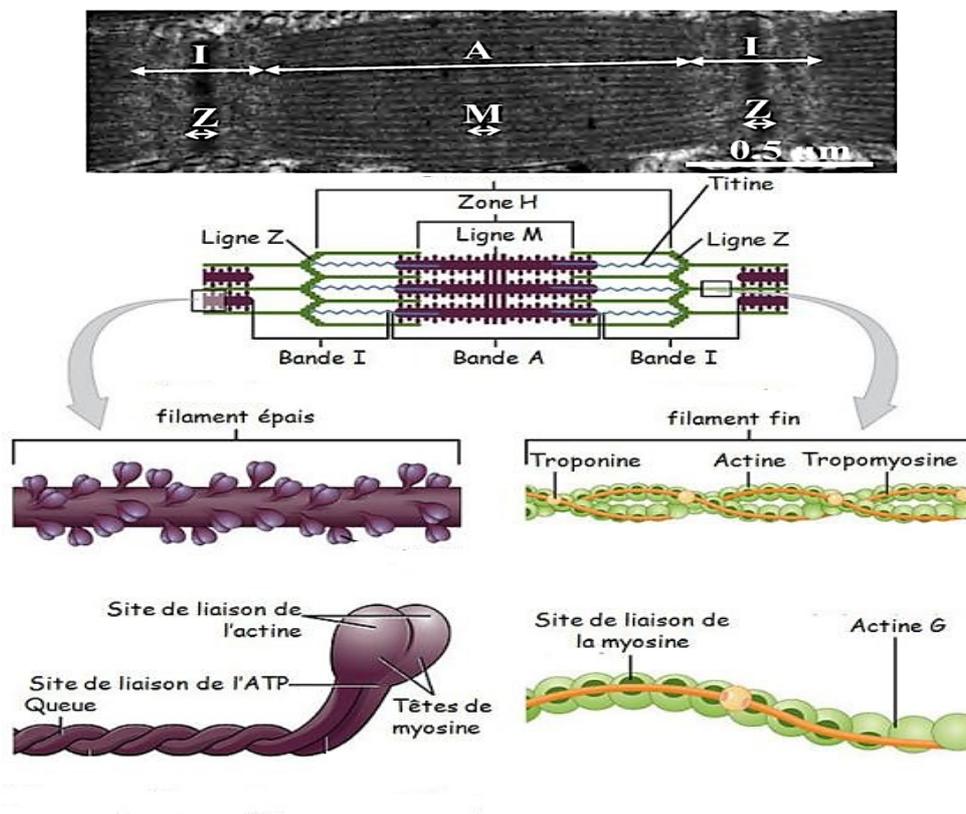


Figure 20 : Structure d'un sarcomère observé en microscopie électronique (en haut) et schématisée (en bas) avec les deux types de filaments, épais à gauche et fin à droite (Listrat et al., 2015).

## 2.1.2. Principaux composants du muscle

### 2.1.2.1 Fibres musculaires

Sur la base de la coloration histochimique ou de techniques moléculaires, Harper (1999) a divisé les fibres musculaires en trois grandes catégories : glycolytique (à contraction rapide B), oxydation lente (à contraction lente) et intermédiaire (oxydation – glycolytique, à contraction rapide A). Les types de fibres musculaires contiennent différentes concentrations de Mb, d'enzymes oxydantes et glycolytiques et de différentes protéines contractiles (Klont et al., 1998). Les fibres à oxydation lente (à contraction lente), qui sont généralement rouges,

présentent des concentrations élevées de mitochondries, de myoglobine (Mb) et de vaisseaux sanguins, mais le diamètre de la fibre est petit. Les muscles à oxydation rapide-glycolytique (à contraction rapide A) sont roses, avec des concentrations intermédiaires de mitochondries, de Mb et de vaisseaux sanguins. Les fibres à glycolyse rapide (à contraction rapide B) sont de couleur blanche, avec de faibles concentrations de mitochondries, Mb, et moins de vaisseaux sanguins. La variation de composition d’un muscle en fibres dépend notamment du type de muscle, éventuellement en relation avec sa fonction spécifique, mais la race, le sexe, l’âge, l’exercice physique, la température ambiante et la conduite alimentaire jouent aussi un rôle. En effet, une étude conduite sur les trois principales races bovines à viande a montré une différence de pourcentage en fibres musculaires. Pour les animaux de race Limousine, 45 % des fibres musculaires étaient des MyHc IIb contre 35 % pour la race Blonde d’Aquitaine et seulement 9 % pour la race Charolaise (Listrat *et al.*, 2015).

#### 2.1.2.2 Tissu conjonctif intramusculaire

Les fibres musculaires et les faisceaux de fibres sont entourés de tissu conjonctif dit lâche. Il est constitué de cellules et d’une matrice extracellulaire composée principalement d’un réseau composite de fibres de collagène enveloppées dans une matrice de protéoglycanes\*. Il existe plusieurs types de collagène mais ce sont toutes des glycoprotéines\* fibreuses. Les types de collagène sont tous formés d’une triple hélice polypeptidique, appelée tropocollagène. Ces hélices s’assemblent grâce à des liaisons covalentes formant ainsi des fibrilles (50 nm de diamètre). Ces fibrilles sont maintenues entre elles par des liaisons intramoléculaires (ponts disulfures ou hydrogènes) ou intermoléculaires aussi appelées liaisons de réticulation ou « Cross-Links ». Dans le muscle, différents types de collagène existent comme principalement les collagènes fibrillaires de type I et III (Bailey and Light, 1989). La proportion et le degré de réticulation du collagène intramusculaire varient selon le muscle, l’espèce, le type génétique, l’âge, le sexe et l’exercice physique (Purslow, 2005). En effet, le contenu en collagène total varie de 1 à 15% du poids sec des muscles chez les bovins adultes (Bailey and Light, 1989).

#### 2.1.2.3 Tissu adipeux et les lipides intramusculaires

Dans le muscle, les lipides majoritaires sont des lipides de structure (les phospholipides) et des lipides de réserve (les triglycérides et le cholestérol). La majorité des triglycérides sont stockés

dans les adipocytes\* (environ 80 %) et le reste (5 à 20 %) dans le cytoplasme des fibres musculaires sous forme de gouttelettes lipidiques (lipides intramyocellulaires) (Essén-Gustavsson *et al.*, 1994). La taille et le nombre d’adipocytes intramusculaires impactent la teneur en lipides intramusculaires (LIM). Ainsi, chez le porc et le bovin, la variation de teneur en LIM entre les muscles est associée à une variation du nombre d’adipocytes intramusculaires ; par ailleurs, au sein d’un muscle donné, la taille des adipocytes contribue à la variabilité de la teneur en lipides intramusculaires entre individus soumis à différents régimes alimentaires. Cette dernière étude montre que le nombre d’adipocytes intramusculaires participerait majoritairement à la variabilité du taux de LIM du muscle *Longissimus* entre individus à fort ou faible taux de lipides intramusculaires (Gondret and Lebret 2002 ; Damon *et al.*, 2006). Cette teneur en lipides intramusculaires varie selon l’origine anatomique du muscle, l’âge, la race, le génotype, l’alimentation et les conditions d’élevage des animaux de rente (Mourot and Hermier, 2001 ; Wood *et al.*, 2004 ; Bauchart et Thomas, 2010 ; Bonnet *et al.*, 2015). En effet, chez le bovin, il a été montré que la sélection sur la masse musculaire s’accompagne d’une diminution des teneurs en lipides intramusculaires et en collagène. Par conséquent, les principales races à viande Charolaise, Limousine et Blonde d’Aquitaine ont des teneurs en lipides intramusculaires inférieures aux races rustiques comme l’Aubrac et la Salers qui ont elles-mêmes des teneurs en lipides intramusculaires inférieures aux races laitières (Bauchart et Thomas, 2010).

### 2.1.2 Qualités de la viande

Les qualités technologique et sensorielle (couleur, tendreté, jutosité) résultent d’interactions entre la composition chimique et les propriétés métaboliques du muscle à l’abattage, et son évolution *post-mortem* conduisant à sa conversion en viande. En revanche, la qualité nutritionnelle est déterminée essentiellement par la composition chimique du tissu musculaire au stade d’abattage. La structure et la composition du muscle ainsi que la cinétique d’évolution *post-mortem* varient selon les espèces, engendrant des différences majeures de qualité intrinsèque entre espèces, auxquelles s’ajoutent des utilisations différentes (consommation en viande fraîche ou diverses transformations).

#### 2.1.2.1 Qualités technologiques

Après l’abattage, les carcasses sont conservées en chambre froide puis découpées en muscles ou pièces, selon les espèces et les marchés considérés. Au cours du stockage, la structure interne

des muscles est modifiée. Les fibres musculaires, en se rétrécissant latéralement, expulsent l’eau intracellulaire vers les espaces extracellulaires. Cette eau est ensuite exsudée au niveau des extrémités coupées des muscles (Guignot *et al.*, 1993). La qualité technologique de la viande est influencée par la composition en fibres musculaires. De plus, la capacité de rétention en eau de la viande dépend de la cinétique d’évolution *post-mortem* du pH et de la température du muscle. La chute *post-mortem* du pH est généralement plus rapide et de plus forte amplitude dans les muscles glycolytiques que dans les muscles oxydatifs, même si cette relation n’est pas systématique (Lebret and Guillard, 2005). Par exemple, le pH à 45 minutes *post-mortem* est plus bas dans le muscle *Psoas major* de porc (27% de fibres I) que dans le *Longissimus* (10% de fibres I), ce qui peut s’expliquer par des différences de pouvoir tampon entre types de fibres et de cinétique de diminution de la température *post-mortem* selon la localisation anatomique des muscles (Lefaucheur, 2010). Une stimulation exacerbée du métabolisme glycolytique musculaire dans l’heure qui suit l’abattage augmente la vitesse de chute du pH qui, associée à une température élevée du muscle, peut conduire à une dénaturation des protéines et engendrer le phénomène PSE (« *Pale, Soft and Exudative* ») dans les muscles blancs, surtout chez le porc et le poulet. Une forte amplitude de chute du pH *post-mortem* (mesurée par le pH à 24 heures), principalement liée à une teneur élevée en glycogène musculaire au moment de l’abattage, est favorisée par une proportion importante de fibres à contraction rapide (IIa, IIx et IIb), riches en glycogène.

### 2.1.2.2 Qualités sensorielles

#### 2.1.2.2.1 Couleur et aspect

La couleur de la viande est influencée par la composition en fibres des muscles, plus précisément par la quantité et l’état chimique de la myoglobine. La forte teneur en myoglobine des fibres de type I et IIa se traduit par une corrélation positive entre la proportion de ces fibres et l’intensité de couleur rouge. Au cours de la conservation, la myoglobine peut s’oxyder et assombrir la viande entraînant un rejet de celle-ci par le consommateur (Suman and Joseph, 2013). L’oxydation de la myoglobine dans des viandes à proportion élevée en fibres I détériore la stabilité de la couleur rouge en induisant la formation d’une couleur brunâtre (cf. Chapitre I - 2.2). Ce défaut est plus prononcé chez les bovins (Renerre, 1990) et les animaux présentant une musculature rouge (ovins, chevaux, oiseaux migrateurs tels que les oies ou les canards). En revanche, une forte quantité de fibres glycolytiques conduit à l’obtention d’une viande blanche,

comme chez le poulet et le porc. La couleur de la viande dépend aussi de l'alimentation. Ainsi, l'alimentation des veaux nourris au lait de vache, dépourvu de fer, limite la biosynthèse de myoglobine entraînant la production d'une viande claire. En ce qui concerne l'aspect de la viande bovine, la distribution et l'épaisseur du tissu conjonctif associées au degré d'infiltration de gras visible (appelé persillé) dans une coupe transversale de muscle est appelé « le grain de la viande » (Purslow, 2005).

#### 2.1.2.2.2 Tendreté

Pour le consommateur de viande bovine, la tendreté (ou dureté) est la qualité sensorielle la plus importante. Cette dureté de base est déterminée par l'importance, la distribution et la nature de la trame conjonctive intramusculaire. Elle est beaucoup plus élevée dans la viande bovine que dans les viandes de porc ou de volailles (Lawrie, 1998). L'étape de maturation de la viande permet de réduire cette dureté. En effet, le processus de protéolyse *post-mortem* entraîne une fragmentation de la structure myofibrillaire et donc un attendrissement progressif de la viande. Ce processus est beaucoup plus lent chez le bovin que chez le porc et surtout la volaille ; par conséquent, la durée de maturation est plus longue chez le bovin que chez le porc ou la volaille (Warriss, 2000b). Chez le bovin, le type de muscle, le sexe et l'âge influencent les relations entre les caractéristiques des fibres et la tendreté de façon complexe (Guillemin *et al.*, 2009). En effet chez les taurillons, une augmentation du métabolisme oxydatif du muscle *Longissimus* est souvent associée à une augmentation de la tendreté. De même, les muscles *Semitendinosus* *Vastus Lateralis* (annexe 10) ont des activités glycolytiques les plus élevées, et sont reconnus comme les muscles les plus tendres (Chriki *et al.*, 2013). En revanche, Zamora *et al.* (1996) ont montré une corrélation entre l'intensité du métabolisme oxydatif et la tendreté du *Longissimus* chez le bovin. Le muscle *Semitendinosus* possède une partie profonde oxydative et riche en fibres I qui est moins tendre que la partie superficielle plus glycolytique (Totland *et al.*, 1988). En adéquation avec ces résultats, Ouali et Talmant (1990) ont démontré que les muscles glycolytiques ont un rapport calpaïne\*/calpastatine\* (deux protéines de la protéolyse) et une intensité de maturation *post-mortem* plus élevés que dans les muscles à contractions lentes oxydatifs. En effet, comme pour le bœuf et le mouton qui sont des espèces à maturation lente, une proportion plus élevée de fibres glycolytiques pourrait ainsi améliorer la tendreté de certains muscles en accélérant la vitesse de maturation (Zamora *et al.*, 1996). En revanche, selon d'autres auteurs, l'augmentation du pourcentage de fibres de type I, et donc l'amélioration de la tendreté, pourrait être expliquée par la présence d'un taux de renouvellement des protéines

plus élevé dans les fibres oxydatives (Maltin *et al.*, 1997). La tendreté est influencée par la composition du tissu conjonctif, notamment chez le bovin, où le facteur majeur de la force de cisaillement est généralement le collagène. En effet, la teneur en collagène est fortement corrélée à la force de cisaillement de la viande crue (Nishimura, 2010). A contrario, d'autres auteurs ont démontré des corrélations très faibles, voire inexistantes, et d'autres études relatent des corrélations positives (Lepetit, 2008). Selon Sifre *et al.* (2005), la texture de la viande est aussi influencée par la structure du tissu conjonctif, et notamment par l'organisation et la taille des faisceaux de pérимыsium aussi appelé le « grain de la viande ». Une étude a montré des relations entre « grain de la viande » et texture. En effet, la proportion de faisceaux de petit diamètre (dits primaires) est positivement corrélée à la tendreté. Néanmoins ce paramètre ne permet pas de prédire la tendreté avec certitude (Purslow, 2005). D'autre part, l'augmentation de l'épaisseur des faisceaux secondaires du pérимыsium entraîne une résistance mécanique des muscles chez le bovin (Brooks and Savell, 2004) et le porc (Fang *et al.*, 1999). De plus, il existe faisceaux de taille supérieure (tertiaire, quaternaire...), mais dans les études sur la tendreté, ils sont rarement pris en compte.

#### 2.1.2.2.3 Jutosité et la Flaveur

La jutosité\* et la flaveur\* de la viande sont améliorées avec l'augmentation de la proportion de fibres I chez le bovin et l'agneau (Valin *et al.*, 1982 ; Maltin *et al.*, 1997). Selon Gandemer (1997), la teneur élevée des fibres I en phospholipides est liée à la flaveur de la viande. En effet, ce sont les déterminants majeurs de la flaveur de la viande cuite. Cependant, une forte teneur en acides gras polyinsaturés des phospholipides accroît les risques de rancissement des viandes. De plus, une proportion élevée de fibres I ainsi qu'une teneur en glycogène musculaire insuffisante et un pH ultime élevé chez le bovin, augmente le risque d'induire le défaut « *Sombre, Ferme et Sec* » ou « *Dark, Firm and Dry* » (DFD en anglais). En revanche chez le porc, la capacité de rétention en eau et la jutosité de la viande est altérée quand le pourcentage de fibres rapides oxydo-glycolytiques est élevé (Henckel *et al.*, 1997 ; Maltin *et al.*, 1997). Lors de la genèse des qualités sensorielles de la viande, un rôle clé est souvent joué par les lipides intramusculaires. En effet, chez les différentes espèces animales, ils influencent positivement la jutosité, la flaveur et la tendreté dans une moindre mesure (Hocquette *et al.*, 2010). De plus, il est admis que des viandes sèches présentant peu de goût contiennent de très faibles teneurs en lipides intramusculaires. Néanmoins, pour des variations importantes de lipides intramusculaires, une corrélation élevée a parfois été observée entre lipides intramusculaires et

notes de qualité sensorielle attribuées par un jury d’experts (par exemple, chez le porc, Rincker *et al.*, 2008). Cette relation peut être modulée par d’autres facteurs de variation ; par exemple, le type génétique intra- et inter-espèces et le pH ultime de la viande chez le porc, ou encore la teneur et le type de liaisons intramoléculaires du collagène chez le bovin (Hocquette *et al.*, 2010). Chambaz *et al.* (2003) ont montré que pour des viandes bovines provenant de quatre races différentes (Angus, Simmental, Charolais et Limousine) mais avec des teneurs en lipides intramusculaires similaires (en moyenne 3,25%), la flaveur perçue était la même alors que la jutosité la plus élevée était pour la race Limousine et la plus faible pour la race Angus. En ce qui concerne, l’influence des lipides intramusculaires sur l’appréciation de la viande et des produits par les consommateurs, les conclusions peuvent être contradictoires. Des études ont montré que les consommateurs préfèrent les viandes de porc les moins persillées avant consommation, alors que les viandes les plus persillées sont jugées plus juteuses, tendres et goûteuses au moment de la consommation (Fernandez *et al.*, 1999 ; Brewer *et al.*, 2001 ; Rincker *et al.*, 2008). Les lipides sont un facteur clé dans le développement d’arômes au cours de la cuisson des viandes. Cependant, le consommateur est souvent réfractaire à des viandes présentant beaucoup de gras intramusculaire visible. En effet, des travaux montrent qu’il existe un accroissement simultané du niveau d’acceptabilité globale des viandes par le consommateur et du taux de lipides intramusculaires avec des teneurs comprises entre 2,5 et 3,5% (Fernandez *et al.*, 1999 ; Brewer *et al.*, 2001). Néanmoins, d’autres études ont mis en évidence que les viandes de porc les moins persillées (1 à 1,5% de lipides intramusculaires) sont choisies par une part importante des consommateurs (Rincker *et al.*, 2008 ; Font-i-Furnols *et al.*, 2012). De plus, Killinger *et al.* (2004) ont également mis en avant chez des groupes de consommateurs une relation entre leur préférence pour de la viande bovine moyennement ou peu persillée et des attentes d’ordre gustatif ou nutritionnel associées. Enfin, en fonction des habitudes et des cultures alimentaires des consommateurs, mais aussi selon le produit considéré, les relations entre lipides intramusculaires et qualités des viandes sont à nuancer. En effet, la teneur en lipides intramusculaires est corrélée à la tendreté, la jutosité et l’acceptabilité du jambon sec (Ventanas *et al.*, 2007). À l’inverse, l’augmentation de 2 à 4% des lipides intramusculaires du muscle *Semimembranosus* (SM, annexe 10) entraîne une diminution de l’acceptabilité par le consommateur du jambon cuit (Fernandez *et al.*, 2000).

## 2.1.2.3 Qualités nutritionnelles

La viande constitue une source importante de protéines, d'acides aminés essentiels (annexe 11), d'acides gras, de minéraux et de vitamines (A, E, groupe B) qui déterminent sa qualité nutritionnelle. La composition biochimique de la viande est en moyenne de 75 % d'eau, de 19% de protéines, de 2,5 % de lipides (variant selon la pièce bouchère), de 2,3 % de diverses substances solubles non protéiques et de 1,2 % de glucides (tableau 5).

Tableau 5 : Composition chimique du muscle typique de mammifère adulte après la rigor mortis mais avant les changements de dégradation post-mortem (Lawrie and Ledward, 2006).

Components		Wet % weight
1. Water		75.0
2. Protein		19.0
(a) Myofibrillar		11.5
myosin <sup>1</sup> (H- and L-meromyosins and several light chain components associated with them)	5.5	}
actin <sup>1</sup>	2.5	
connectin (titin)	0.9	
N2 line protein (nebulin)	0.3	
tropomyosins	0.6	
troponins, C, I and T	0.6	
$\alpha$ , $\beta$ and $\gamma$ actinins	0.5	
myomesin, (M-line protein) and C-proteins	0.2	
desmin, filamin, F- and I-proteins, vinculin, talin, etc.	0.4	
(b) Sarcoplasmic		5.5
glyceraldehyde phosphate dehydrogenase	1.2	}
aldolase	0.6	
creatine kinase	0.5	
other glycolytic enzymes especially phosphorylase	2.2	
myoglobin	0.2	
haemoglobin and other unspecified extracellular proteins	0.6	
(c) Connective tissue and organelle		2.0
collagen	1.0	}
elastin	0.05	
mitochondrial, etc. (including cytochrome c and insoluble enzymes)	0.95	
3. Lipid		2.5
neutral lipid, phospholipids, fatty acids, fat-soluble substances		2.5
4. Carbohydrate		1.2
lactic acid	0.90	}
glucose-6-phosphate	0.15	
glycogen	0.10	
glucose, traces of other glycolytic intermediates	0.05	
5. Miscellaneous Soluble Non-Protein Substances		2.3
(a) Nitrogenous		1.65
creatinine	0.55	}
inosine monophosphate	0.30	
di- and tri-phosphopyridine nucleotides	0.10	
amino acids	0.35	
carnosine, anserine	0.35	
(b) Inorganic		0.65
total soluble phosphorus	0.20	}
potassium	0.35	
sodium	0.05	
magnesium	0.02	
calcium, zinc, trace metals	0.03	
Various fat- and water-soluble vitamins, quantitatively minute.		

<sup>1</sup> Actin and myosin are combined as actomyosin in post-rigor muscle

Selon les muscles ou les espèces, le profil en acides aminés est relativement identique (Culioli *et al.*, 2003). Cependant certains muscles riches en collagène (riche en glycine un acide aminé non essentiel) présentent une valeur nutritionnelle inférieure (Bailey and Light, 1989). Comparativement aux muscles blancs, les muscles rouges, riches en myoglobine, apportent des quantités supérieures de fer héminique, très assimilable par l'organisme. Les lipides participent à l'apport en acides gras bien qu'ils constituent une fraction quantitativement minime de la masse musculaire. Leur teneur et leur nature (profil) varient selon l'espèce, l'origine anatomique du muscle, ainsi que l'âge et la conduite alimentaire des animaux (Bonnet *et al.*, 2015). De plus, *post-mortem*, les lipides peuvent subir des altérations (peroxydation) plus ou moins fortes selon la composition en acides gras des viandes. Ces altérations peuvent engendrer une détérioration des qualités sensorielles (couleur, flaveur) et nutritionnelles du produit (Durand *et al.*, 2010).

#### 2.1.2.4 Qualités microbiologiques

Comme tout produit alimentaire, durant son élaboration, la viande bovine est en contact avec des microorganismes, le plus souvent introduites dans la filière de transformation par les animaux eux-mêmes. À tous les stades de la filière (éleveurs, abatteurs, découpeurs et transformateurs, distributeurs), la maîtrise de la qualité microbiologique est une priorité. Généralement deux types de microorganismes se distinguent sur les viandes :

- la flore d'altération, non pathogène, qui limite la durée de vie des produits ;
- la flore pathogène susceptible de provoquer des toxi-infections alimentaires.

La contamination des carcasses à l'abattoir est due aux bactéries présentes sur le cuir des animaux et dans leur tube digestif. Elle conditionne largement le statut microbiologique des produits. Au niveau de la découpe, de nombreux facteurs vont intervenir sur la qualité microbiologique des viandes, sans que leur importance relative ait été établie. Dès la fin de la chaîne d'abattage et jusqu'à la cuisson des viandes, le respect de la chaîne du froid est essentiel pour maîtriser les développements bactériens. Au stade de la consommation, la cuisson détruit la totalité des germes sauf pour les viandes hachées cuites bleues ou saignantes qui peuvent rester contaminées à cœur. Les mesures prises par les opérateurs sur l'ensemble de la filière et la réglementation sanitaire permettent d'assurer aux viandes commercialisées une qualité microbiologique satisfaisante (Cartier et Moevi, 2007).

### 2.1.3 Exsudat de viande

L'exsudat\* ou jus de viande est une solution aqueuse, constituée principalement de protéines sarcoplasmiques hydrosolubles mélangées à des nucléotides\*, des acides aminés, des peptides et de nombreuses enzymes solubles et qui exsudent de la viande fraîche pendant le stockage (Savage *et al.*, 1990). Différentes théories ont été proposées pour expliquer les mécanismes physico-chimiques impliqués dans l'exsudation de la viande ou la perte d'égouttement, les plus acceptées étant le rétrécissement des myofibrilles au cours du développement de la *rigor mortis* (Offer, 1991) et l'apparition de lésions tissulaires dues à la coupe (Honikel, 2004). Cependant, les raisons pour lesquelles les pertes au goutte-à-goutte varient d'une carcasse à l'autre, même dans des conditions environnementales contrôlées, ne sont pas entièrement comprises (Otto *et al.*, 2007). Selon Castejón *et al.* (2015), les exsudats de viandes sont sans valeur, faciles à obtenir et leur présence en petites quantités dans des emballages de viande commerciaux ne peut être associée à une dégradation ou à une altération significative de la viande à partir de laquelle ils sont produits. Ils doivent donc être considérés comme le jus naturel de viande crue qui, analysé de manière appropriée, pourrait fournir des informations homogènes sur l'ensemble de l'échantillon de viande. L'un des principaux aspects qui contribue à la qualité sensorielle du bœuf est son goût qui est directement lié à la composition chimique des muscles, en particulier de composés de faible poids moléculaire tels que les nucléotides, les acides aminés, les dipeptides et les sucres (Graham *et al.*, 2010). Ces derniers ont été liés aux processus de vieillissement de la viande (Graham *et al.*, 2010 ; Liu *et al.*, 2013). En effet, Castejón *et al.* (2015) ont montré que l'exsudat de viande de bœuf pouvait fournir des informations métabolomiques complètes et homogènes sur l'ensemble du morceau de viande grâce à la résonance magnétique nucléaire (RMN). Les spectres RMN d'exsudats liquides ont été comparés à ceux des morceaux de viande originaux obtenus par RMN à haute résolution en rotation à angle magique à haute résolution (HRMAS-NMR). L'étroite corrélation obtenue entre les deux spectres les ont amenés à proposer l'exsudat comme une excellente matrice analytique alternative en vue d'appliquer la métabolomique de la viande. Dans la viande de porc, des études ont mis en avant que la composition des exsudats de porc a été corrélée aux caractéristiques de qualité de la viande fraîche et décongelée (Kim *et al.*, 2013) et à la capacité de rétention d'eau et au vieillissement *post-mortem* (Di Luca *et al.*, 2011). Enfin, dans l'étude de Piñero *et al.* (2009), la quantification des protéines de phase aiguë (protéines de l'inflammation) dans des exsudats de viande ont permis de suivre la santé des

animaux *post-mortem* en production porcine. Cependant, malgré ce potentiel, les exsudats de viande ont rarement été utilisés pour l'analyse de la viande en industrie.

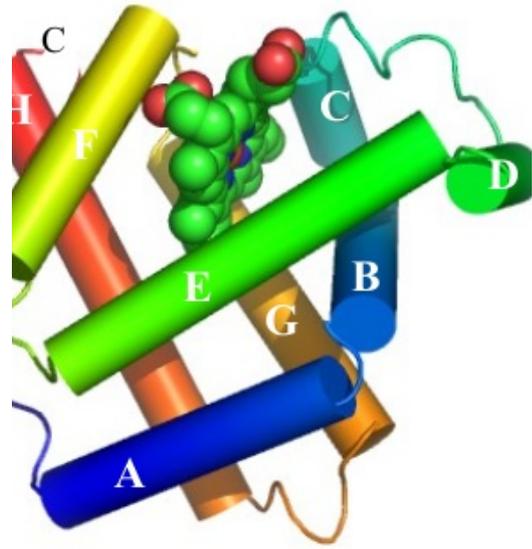
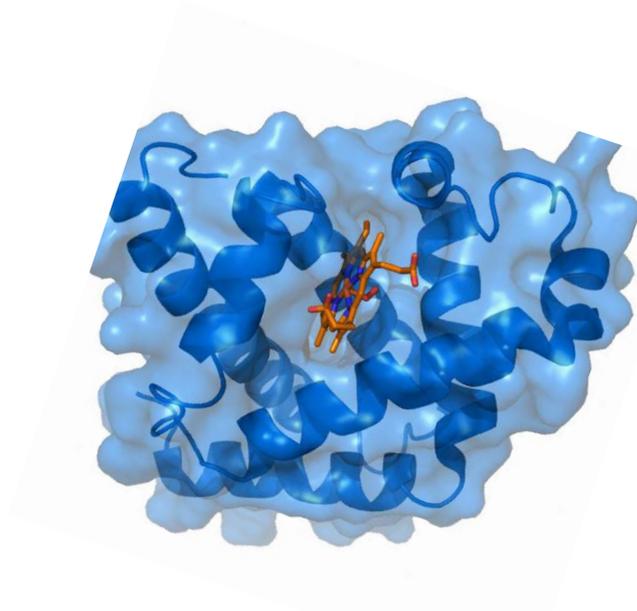
## 2.2 Virements de couleurs de la viande rouge

La couleur de la viande dépend en fin de compte de la quantité et de l'état des pigments dans la viande, à savoir la myoglobine, l'hémoglobine\* et les cytochromes\*. La myoglobine est le principal pigment associé à la viande, car la plus grande partie de l'hémoglobine est libérée lors du saignement après l'exsanguination. En tant que tel, le niveau de décoloration de la viande et la couleur formée sont également influencés par la quantité de myoglobine présente. Par exemple, dans la viande riche en myoglobine telle que la venaison\*, le bœuf et l'agneau, la viande décolorée est brune, tandis que dans la viande contenant de petites quantités de myoglobine, la viande décolorée est grise.

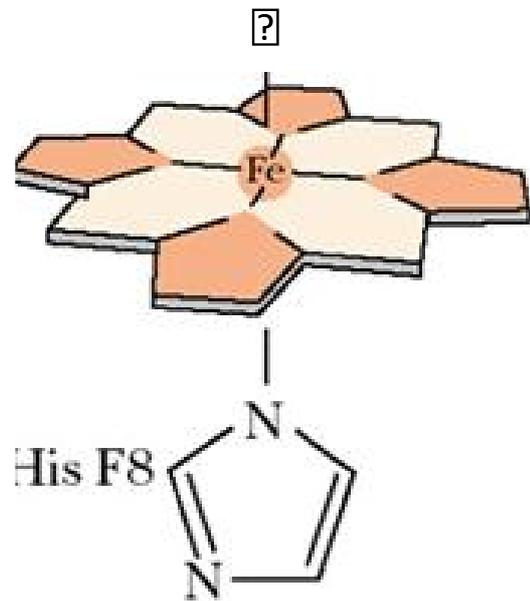
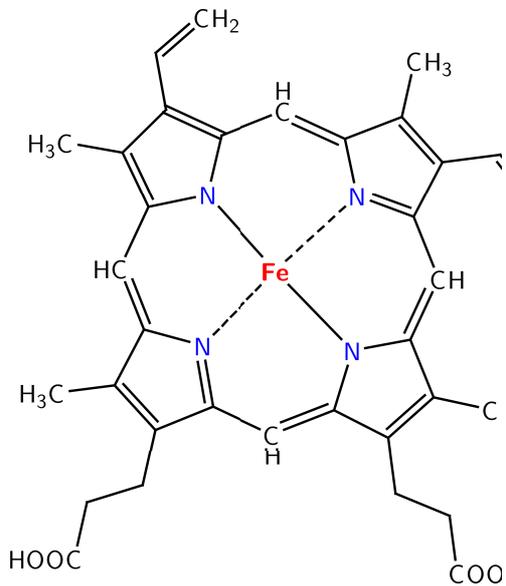
### 2.2.1 Chimie fondamentale de la myoglobine

#### 2.2.1.1 Molécule de myoglobine

La myoglobine (Mb) est une protéine hydrosoluble intracellulaire présente dans le muscle squelettique rouge et le cœur. Elle lie le dioxygène (O<sub>2</sub>) de manière réversible et augmente la consommation d'O<sub>2</sub>, surtout dans des conditions de faible disponibilité en O<sub>2</sub> (Bailey *et al.*, 1990) en facilitant la diffusion de dioxygène de l'espace extracellulaire vers la mitochondrie (Wittenberg and Wittenberg, 2003). La myoglobine consiste en une protéine polypeptidique unique, la globine, qui est composée de huit hélices alpha, et un groupement prosthétique\*, hème, situé dans le noyau hydrophobe de la protéine (figure 21). L'hème possède un atome de fer situé au centre avec six sites de coordination (figure 22). Quatre sites de coordination sont dans le plan des atomes d'azote (N) de quatre anneaux plats de porphyrine et sont liés à ceux-ci, tandis que les deux autres sites de coordination sont perpendiculaires à cette structure. L'un des sites de coordination perpendiculaires est connecté à un atome N de la molécule de protéine de la globine et l'autre site est ouvert et disponible pour la liaison de divers ligands (Cornforth and Jayasingh, 2004).



□ □ *xÉCq* □ □ □ *u-ÉbÉG* □ *qChj*\**Cq*(*q* □ *+* □ *cx-cS*\**hqj* □ *abb**al**b* □ *-\*ba**i* □ *Eni* □ (*a* □ □ □ *a-I**ch* □ *xCcÉEq* □ *qh-EC**cl-p7*\**BÉ* □ *Tq* □ *p-EI* □ □ *É**C*



□ *xÉCq* □ □ □ *u-ÉbÉG* □ (*Éx**C cÉEq* □ *qh-EC**cl-p7*\**BÉ* □ *Tq* □ *qb**h**l**ch**b* □ *qh-G* □ *y*-*cT* □ (*q* □ *éq**C* □ *BÉj*-*Cq* □ *\*q* □ (*q* □ *bcc**C* □ *\*hj*-*\*ch* □ *\*l**jÉ* □ *l* □ *cT* □ *q* □ *m* □ (*q* □ *l* □ *h* □ *c* □ *jÉ* □ *l* □ *Ec* □ *C* □ *E* □ *p* □ *Ch* □ *q* □ *x* □ *jÉ* □ *b* □ *p* □ *q* □ *p-EI* □ □ *bpqT* □ *\*I*-*C* □ *l* □ *j* □ *bR* □ *l* □ *bp* □ *j* □ *hx* □ *q* □ *b* □ *cT* □ *BÉ* □ *\*ch* □ □ □ *pcF* □ *T* □ *j* □ *h* □ *x* □ *j* □ (*l* □ *\*h* □ *p* □ *q* □ *T* □ *q* □ □

□  
□  
□

□

## 2.2.1.2 Différentes formes de myoglobine

La myoglobine (Mb) se trouve couramment sous trois formes : la désoxymyoglobine (DeoMb), l'oxymyoglobine (OxyMb), et la metmyoglobine (MetMb). La désoxymyoglobine apparaît lorsqu'une molécule d'eau est présente au sixième site de coordination et que le fer hémique est ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ). Il en résulte une couleur rouge violacé ou rose violacé, généralement associée au muscle immédiatement après la découpe ou au produit emballé sous vide. Une très faible pression en dioxygène ( $\text{O}_2$ ) (<1,4 mm Hg) est nécessaire pour maintenir la myoglobine dans un état désoxygéné (Brooks, 1935). Chaque molécule de Mb peut se lier à une molécule de dioxygène lorsque le fer est à l'état ferreux ( $\text{Mb-Fe}^{2+}$ ) formant ainsi l'oxymyoglobine de couleur rouge vif. Quand le fer est sous forme ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ), la myoglobine est appelée metmyoglobine ( $\text{Mb-Fe}^{3+}$ ) de couleur marron et elle ne peut se lier à l' $\text{O}_2$  (figure 23).

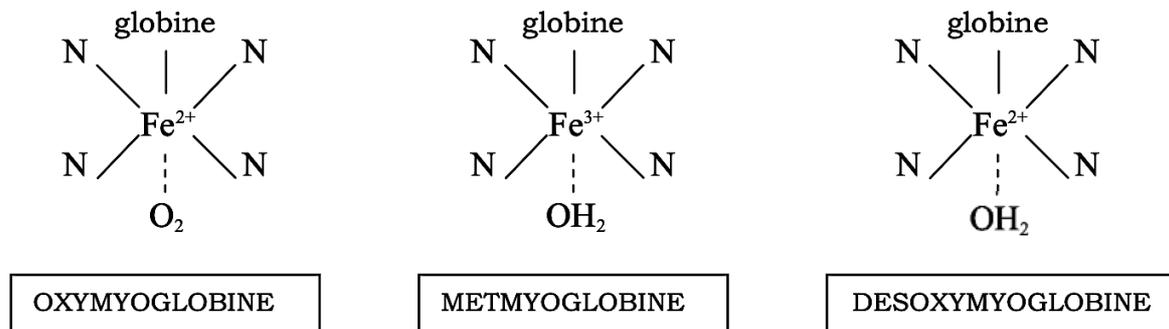


Figure 23 : Formes redox de la myoglobine en fonction de l'état redox du fer et de son sixième ligand (adapté de Kijowski, 2001).

Le type de molécule attachée à la sixième liaison et l'état d'oxydation de l'atome de fer (ferreux ou ferrique) déterminent ainsi la couleur de la viande. Les proportions relatives des différentes formes de Mb déterminent la couleur de la viande fraîche. Outre le changement de couleur dû à l'oxygénation et à l'oxydation (cf. Chapitre I - 2.2.2), des modifications de la fraction hème de Mb de viande peuvent provoquer diverses altérations de couleur, comme indiqué dans le tableau 6. Des modifications de la structure de l'hème peuvent provoquer une décoloration verdâtre de la viande crue. Il existe deux dérivés de Mb susceptibles d'être responsables de la décoloration en vert, la choleglobine et la sulfmyoglobine (Faustman and Cassens, 1990a). La choleglobine est formée par une réaction entre la DeoMb, l'OxyMb ou la MetMb avec du peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) qui peut être produit par des bactéries ou par l'interaction de l'acide ascorbique avec la molécule  $\text{O}_2$  de l'OxyMb ou par des réactions musculaires endogènes (Faustman and Cassens, 1990b). La sulfmyoglobine est formée d'hydrogène sulfuré ( $\text{H}_2\text{S}$ ) et

d'O<sub>2</sub> réagissant avec la Mb réduit (Lawrie and Ledward, 2006). Un pigment pertinent dans la viande fraîche est la carboxymyoglobine, qui est formée par l'inclusion de monoxyde de carbone (CO) dans les emballages de viande à un niveau <0,4 % pour former une couleur rouge cerise éclatante, plus stable que l'oxymyoglobine. L'affinité du CO pour la liaison avec la désoxymyoglobine est plus forte que celle de l'O<sub>2</sub>, mais l'OxyMb et la carboxymyoglobine sont susceptibles d'être oxydées de la même manière via des réactions d'oxydations lipidiques (Joseph *et al.*, 2009).

Tableau 6 : Dérivés de la myoglobine et coloration de la viande en fonction de l'état du fer et du sixième ligand au niveau de l'hème (Lawrie and Ledward, 2006).

Pigment	Colour	State of iron		Remarks
Myoglobin	Purple	Fe <sup>2+</sup>	H <sub>2</sub> O	Native protein/reduced form
Oxymyoglobin	Bright Red	Fe <sup>2+</sup>	O <sub>2</sub>	Oxygenated form
Metmyoglobin	Brown	Fe <sup>3+</sup>	H <sub>2</sub> O	Oxidised form
Carboxymyoglobin	Bright Red	Fe <sup>2+</sup>	CO	Treated with CO
Nitrosomyoglobin	Bright Red (pink)	(Fe-NO) <sup>2+</sup>		Treated with NO or nitrite
Nitrosometmyoglobin	Green	Fe <sup>3+</sup>	NO	Excess nitrite
Metmyoglobin nitrite	Reddish brown	Fe <sup>3+</sup>	NO	Metmyoglobin with excess nitrite
Globin myohaemichromogen	Dark brown	Fe <sup>3+</sup>	H <sub>2</sub> O	Cooked meat
Nitric oxide myohaemochromogen	Bright red (pink)	Fe <sup>2+</sup>	NO	Cooked cured
Choleglobin	Green	Fe <sup>2+</sup> or Fe <sup>3+</sup>	H <sub>2</sub> O	Interaction with H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Sulfmyoglobin	Green	Fe <sup>3+</sup>	HS	Interaction with H <sub>2</sub> S
Oxysulfmyoglobin	Red	Fe <sup>3+</sup>	O-HS	
Nitriheamin	Green	Fe <sup>3+</sup>	NO	Excess nitrite

## 2.2.2 Dynamique d'interconversions des formes redox de la myoglobine

### 2.2.2.1 Oxygénation

L'oxygénation (réaction 1 de la figure 24) se produit lorsque la désoxymyoglobine est exposée au dioxygène et se caractérise par l'apparition d'une couleur rouge cerise brillante. La valence du fer ne change pas pendant l'oxygénation, bien que le sixième site de coordination soit maintenant occupé par de l'O<sub>2</sub>. En outre, l'histidine distale (histidine de l'hélice alpha E) interagit avec l'oxygène lié, modifiant la structure et la stabilité de la myoglobine. À mesure que le temps d'exposition au dioxygène ou que la pression partielle en dioxygène augmente, l'oxymyoglobine pénètre plus profondément sous la surface de la viande formant une couche plus épaisse (Mancini and Hunt, 2005). La profondeur de pénétration de l'oxygène et l'épaisseur de la couche d'oxymyoglobine dépendent de la température de la viande, de la pression partielle

en dioxygène, du pH et de la compétition pour le dioxygène par d'autres processus respiratoires. En effet, la compétition entre la myoglobine et les mitochondries pour l'oxygène détermine la pénétration de l'oxygène sous la surface de la viande, ce qui influe considérablement sur l'intensité de la couleur de la surface (American Meat Science Association, 2012).

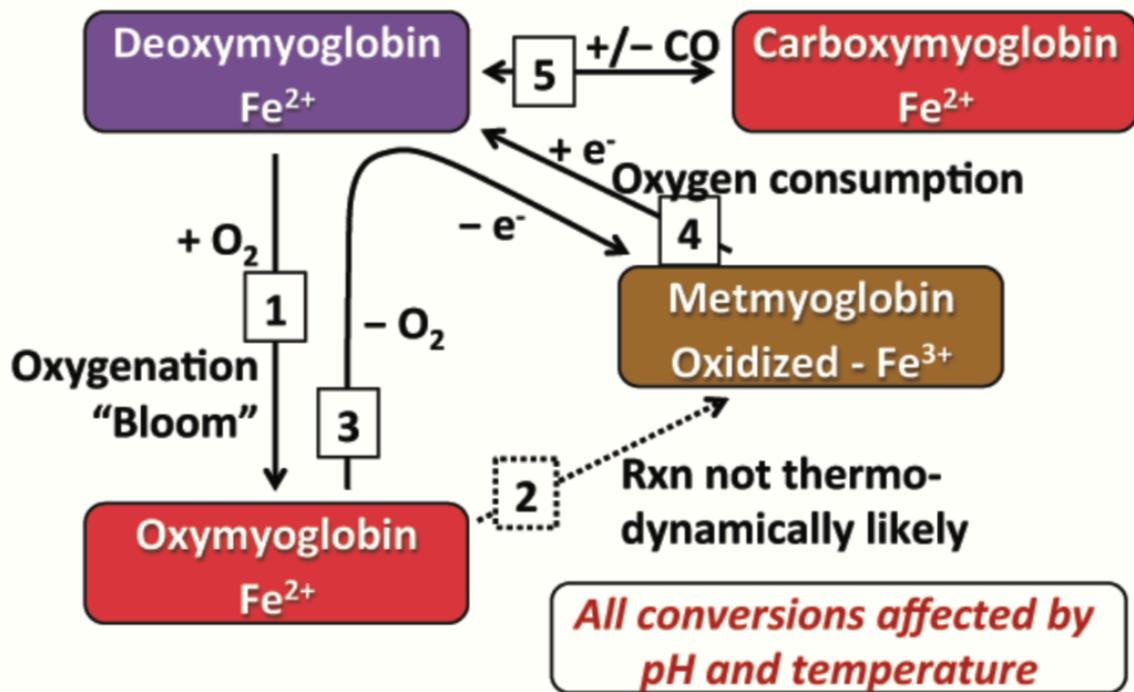


Figure 24 : Schéma des interconversions des formes rédox de la myoglobine dans la viande fraîche (American Meat Science Association, 2012).

### 2.2.2.2 Oxydation

L'oxydation (réaction 2 de la figure 24) des deux dérivés ferreux de la myoglobine en fer ferrique entraîne une décoloration de la viande (Livingston and Brown, 1981 ; Wallace *et al.*, 1982). Bien que la décoloration soit souvent désignée par la quantité de surface couverte par la MetMb, les formes de myoglobine sous la surface jouent également un rôle dans l'apparence du produit. Thermodynamiquement, l'OxyMb est résistante à l'oxydation en MetMb ainsi, la réaction 2 est peu probable. Le brunissement rapide qui se produit souvent dans la viande semble contredire cette chimie, mais la MetMb a pour origine la réaction de désoxygénation de l'OxyMb en DeoMb, qui peut être rapidement oxydée en MetMb. Dans des conditions aérobies, les ions métalliques (notamment le fer) stimulent la formation de radicaux oxygénés à partir d'oxygène diatomique conduisant à la formation de MetMb. (American Meat Science Association, 2012).

### 2.2.2.3 Désoxygénation et oxydation

La désoxygénation (réaction 3 de la figure 24) de l'OxyMb en DeoMb est favorisée sous des pressions partielles à faible teneur en dioxygène qui se produisent lorsque de l'oxygène dissous dans le tissu musculaire est consommé par diverses réactions, notamment la respiration mitochondriale. Un nouveau « blooming » peut survenir immédiatement si l'oxygène se lie de nouveau avec la DeoMb. Cependant, la DeoMb est sensible à l'oxydation par les radicaux oxygénés et les espèces réactives du dioxygène (principalement le peroxyde d'hydrogène), formant ainsi la MetMb (la branche supérieure droite de la réaction 3). Cette réaction se produit plus rapidement à des pressions partielles de dioxygène inférieure à 7 mmHg, car à ces très faibles pressions partielles en dioxygène, il n'y a pas assez de dioxygène pour se lier à toute la DeoMb disponible. Ainsi, il y a suffisamment de DeoMb disponible pour réagir avec le peroxyde d'hydrogène. À des pressions partielles en dioxygène supérieures à 7 mmHg, il y a plus de dioxygène à lier à la DeoMb diminuant ainsi les réactions avec le peroxyde d'hydrogène. De plus, des taux élevés d'OxyMb inhibent la formation de MetMb. L'oxydation de la DeoMb ferreuse en MetMb ferrique provoque une coloration brune. La formation de MetMb a tendance à s'amorcer sous la surface entre l'OxyMb superficielle et la DeoMb interne, où la pression partielle en dioxygène n'est pas assez élevée pour oxygéner toute la DeoMb disponible. Ainsi, un peu de DeoMb est disponible pour réagir avec les radicaux oxygène, formant ainsi la MetMb. Le peroxyde d'hydrogène et les radicaux oxygénés sont présents en permanence dans des conditions aérobies car ils sont des sous-produits du métabolisme mitochondrial. La fine couche interne de MetMb s'épaissit à mesure que la concentration en MetMb augmente. Progressivement, la couche d'OxyMb de surface devient plus fine à mesure que la bande de MetMb interne épaissit, empiète et remplace la couche d'OxyMb au point que visuellement, la couleur de la surface passe du rouge vif au rouge terne puis au brun (figure 25 ; American Meat Science Association, 2012).



un état chimique pertinent de la myoglobine en raison de l'intérêt croissant que suscitent actuellement les emballages contenant de faibles niveaux de monoxyde de carbone (Luno *et al.*, 2000 ; Sørheim *et al.*, 2001 ; Food and Drug Administration, 2002, 2004 ; Hunt *et al.*, 2004). Les dérivés de la myoglobine pouvant former de la carboxymyoglobine sont peu connus. De toute évidence, le monoxyde de carbone peut se lier à la sixième position vacante de la désoxymyoglobine et former une couleur rouge très brillante et relativement stable. Cependant, le monoxyde de carbone peut-il remplacer l'oxygène coordonné en sixième position ? De même, alors que la metmyoglobine est physiologiquement inerte, le monoxyde de carbone peut-il favoriser la réduction et former une couleur rouge vif à partir de viande oxydée ? Plusieurs concepts fondamentaux de la chimie de la carboxymyoglobine restent sans réponse, quelle que soit leur importance pour la durée de vie des couleurs de la viande. Il semble que la désoxymyoglobine soit plus facilement convertie en carboxymyoglobine que l'oxymyoglobine ou la metmyoglobine. Néanmoins, le monoxyde de carbone se dissociera lentement de la myoglobine après exposition de la carboxymyoglobine à une atmosphère exempte de monoxyde de carbone (Mancini and Hunt, 2005).

### 2.2.3 Couleur visuelle de la viande rouge versus chimie réelle du pigment

Dans l'industrie de la viande, la relation entre la composition chimique de la viande et sa couleur peut être source de confusion, car les observations visuelles du changement de couleur diffèrent quelque peu des voies chimiques décrites dans la partie précédente (cf Chapitre I - 2.2.2). Les industriels et les scientifiques spécialisés dans la viande effectuant des recherches sur la viande et les produits à base de viande voient généralement la MetMb brune se former directement à partir de l'OxyMb rouge vif. Il est donc parfois difficile de mettre en pratique les principes de la figure 24, en particulier pour résoudre les problèmes de virements de couleur dans la viande. En effet, la figure 24 montre que la DeoMb violette est un intermédiaire dans la conversion de l'OxyMb en MetMb, mais cela est rarement observé dans la pratique. Sur la figure 26, la réaction 2a montre que l'OxyMb rouge vif se transforme directement en MetMb brune, sans développement visuel de DésoxyMb pourpre (American Meat Science Association, 2012).

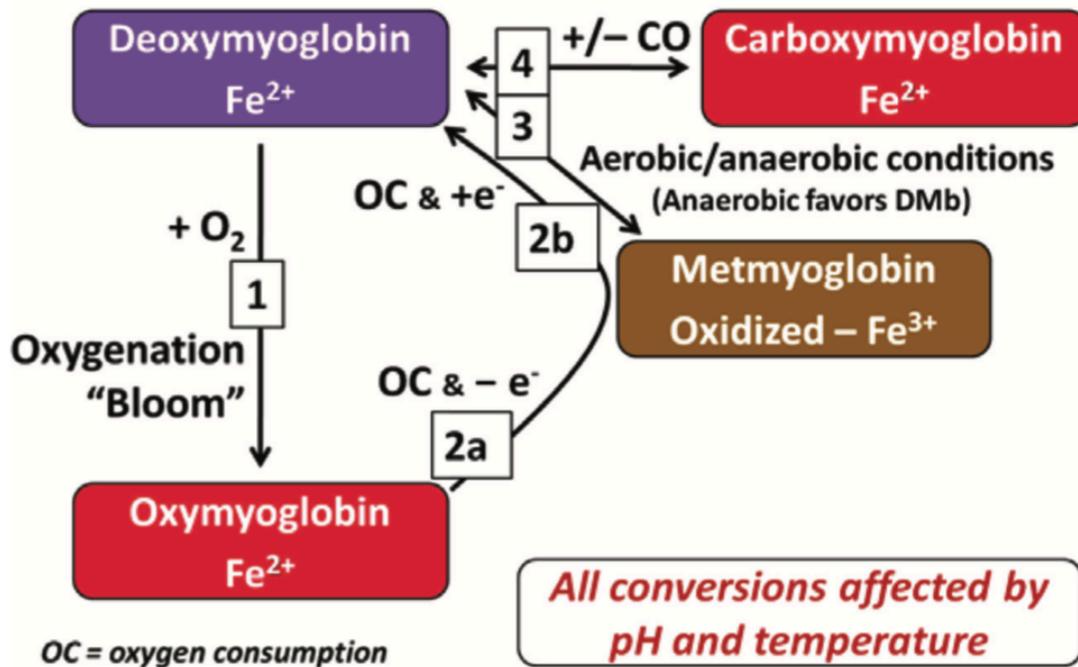


Figure 26 : Schéma des interconversions visuelles et pratiques des formes rédox de la myoglobine dans la viande fraîche (American Meat Science Association, 2012).

Suite à cette différence d'interconversions visuelles et chimiques quatre questions restent en suspens :

1. Comment concilier cette apparente contradiction entre les voies chimiques et visuelles ?

Les surfaces de la viande fraîchement coupée sont violettes (DeoMb) en raison de l'absence d'oxygène. Après plusieurs minutes à l'air, la surface de la viande est rouge vif (OxyMb, réaction 1 de la figure 26). Une coupe transversale de la viande indiquerait que la couche superficielle rouge a une épaisseur inférieure à 1 mm et que le tissu musculaire plus profond est violet. Après plusieurs heures, la couche superficielle rouge a généralement une épaisseur de 2 à 3 mm (plus épaisse dans les muscles à faible consommation d'oxygène et plus fine dans les muscles à forte consommation d'oxygène). Après 1 à 3 jours à 2 à 4 °C, une fine bande brune de MetMb brune apparaît, juste en dessous de la couche d'OxyMb (figure 32). Comme expliqué précédemment, la bande brune se développe en raison de la réaction de la DeoMb avec des radicaux oxygénés formant de la MetMb. Comme la MetMb se forme généralement plus rapidement (réaction 3 de la figure 24) que la réaction inverse 2b (conversion de la MetMb en DeoMb), la concentration en MetMb augmente avec le temps. Après plusieurs jours de stockage, l'épaisseur de la couche d'OxyMb de surface diminue à mesure que la couche de MetMb se déplace progressivement vers la surface, ce qui rend la couche d'OxyMb plus terne

et plus sombre. Finalement, l'activité réductrice de la MetMb au sein de la couche d'OxyMb est épuisée et la couche de MetMb atteint la surface avec une décoloration totale.

2. Comment sait-on que la DeoMb s'est formée en tant qu'intermédiaire dans la réaction de virement ?

La formation de metmyoglobine est beaucoup plus lente dans 70 à 80 % de dioxygène par rapport à l'air (21 % de dioxygène). Ainsi, l'OxyMb ne peut pas réagir avec les radicaux oxygénés pour former de la MetMb. De plus, il existe un équilibre dynamique de dissociation dans lequel l'OxyMb est continuellement convertie en DeoMb + oxygène et inversement. Dans la bande brune de MetMb où les niveaux de dioxygène sont bas, une partie de la DeoMb a été associée à des radicaux oxygénés au lieu du dioxygène, provoquant une oxydation assez rapide de la DeoMb en MetMb.

3. Si de la DeoMb est formée, pourquoi la couleur de la surface change-t-elle directement du rouge au brun, sans intermédiaire violet ?

La formation de la DeoMb pourpre est obscurcie par la couche d'OxyMb rouge apparaissant pendant les 1 à 3 premiers jours de stockage, puis par l'épaisseur croissante de la couche de MetMb. De plus, à la surface de la couche d'OxyMb, les petites quantités de DeoMb formées par la dissociation au niveau de la frontière entre OxyMb et DeoMb sont rapidement reconverties en OxyMb, en raison de l'excès de dioxygène près de la surface.

4. Comment la MetMb passe-t-elle à la DeoMb après un stockage suffisant sous vide (anaérobie) ?

La fine bande brune de MetMb se développe à cause du faible niveau de dioxygène à la surface de la viande, comme expliqué précédemment. La DeoMb pourpre ne devient apparente qu'après la disparition des niveaux rouges d'OxyMb et bruns de MetMb sus-jacents. La quantité d'OxyMb devient nulle, principalement en raison de la consommation musculaire de dioxygène par les mitochondries. La quantité de MetMb s'annule en raison d'une réduction enzymatique ou non enzymatique assez lente de la MetMb en DeoMb. Les *optima* de température pour la préservation de l'OxyMb ou la formation de la DeoMb conduisent à différentes recommandations pour la température de stockage. Par exemple, l'OxyMb est la plus stable à basse température (-1 à 2 °C). Cependant, la DeoMb se développera plus rapidement dans la zone d'interface OxyMb-MetMb des viandes emballées sous vide si elles sont maintenues à des températures plus chaudes (3 à 4 °C ou plus) pendant plusieurs heures afin de stimuler la consommation mitochondriale de dioxygène et les réactions de réduction de la MetMb (réactions 2a et 2b de la figure 26). La viande emballée de manière aérobie dans des atmosphères modifiées virera également au brun, mais à un taux variable en fonction du muscle,

de l'âge de l'animal au moment de l'abattage, des températures particulièrement chaudes et d'autres conditions d'exposition en magasin (cf. Chapitre I - 4.). La croissance bactérienne peut également affecter les réactions 2b et 3 de la figure 26. Les réactions 3 et 4 se déroulent comme décrit dans la section précédente.

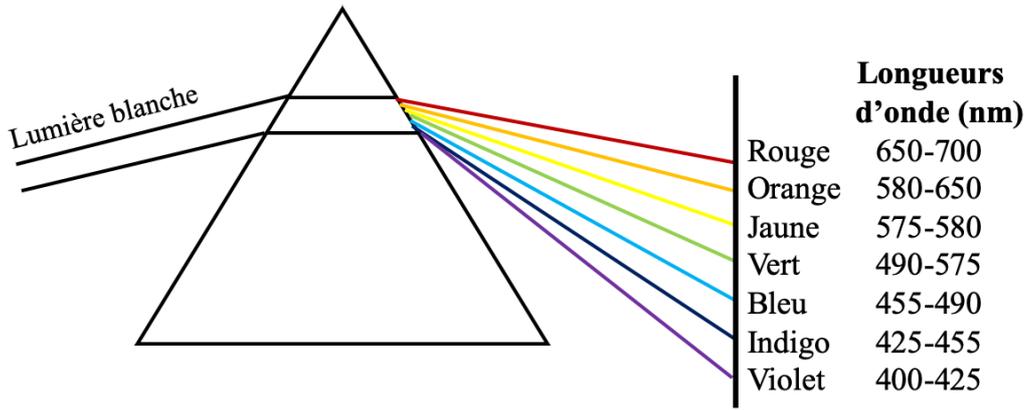
En pratique, séparer la conversion visuelle de l'OxyMb en DeoMb comme indiqué à la figure 24 avec une formation intermédiaire de MetMb permet à l'industrie de gérer plus facilement les problèmes de couleur. En effet, les deux réactions critiques et pratiques c'est-à-dire la formation de MetMb (2a) qui semble toujours se produire et la réduction de MetMb (2b) qui est souvent problématique, nécessitent une attention particulière lors des différents procédés industriels de transformation.

### **3. Mesure des virements de couleurs de la viande rouge**

#### **3.1 Physique de la lumière et de la couleur**

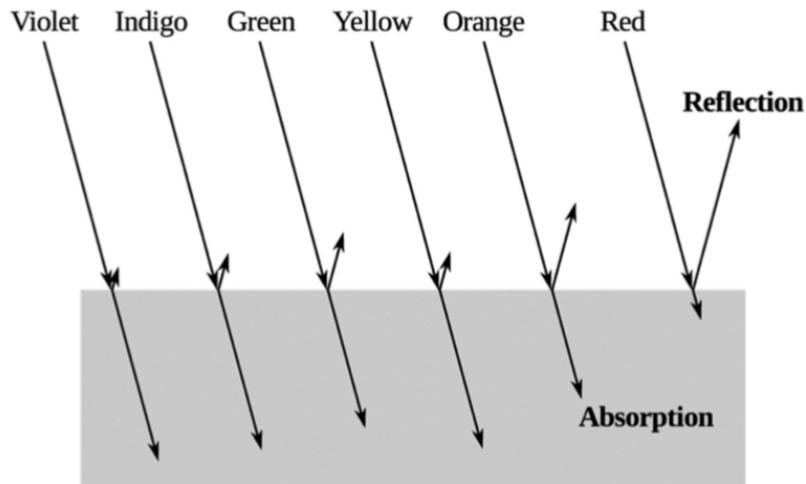
Percevoir un objet et en identifier la couleur implique un ensemble complexe de phénomènes. Cet ensemble doit comprendre un objet éclairé, son environnement et le détecteur qui perçoit l'objet et traduit les stimuli en une perception de la couleur. Pour percevoir la couleur, un détecteur capable de cette perception est nécessaire. Ce détecteur peut être l'œil humain ou une instrumentation telle qu'un colorimètre ou un spectrophotomètre.

Pour la réponse sensorielle humaine et la détection de la couleur, les yeux et le cerveau travaillent en synergie pour détecter et traiter les stimuli permettant de discerner la couleur (Kramer and Twigg, 1970). Cependant, tous les yeux n'ont pas la même capacité à détecter les sensations lumineuses et à les transformer en perception de couleurs. Notons que l'œil, ou tout autre dispositif mécanique ou informatique, ne «voit» pas la couleur, il capture simplement les longueurs d'onde de la lumière (figure 27) réfléchiée par un objet et, dans le cas de l'œil, transmet cette entrée sensorielle au cerveau pour interprétation. Lorsque la lumière frappe un objet, elle sera absorbée, réfléchiée (figure 28) ou dispersée. La couleur d'un objet correspond à l'interaction entre la lumière, la vision (le détecteur) et l'objet observé. La lumière est d'une grande importance pour la perception des couleurs. Sans lumière, le détecteur ne captera aucune information.



□\*ÉCq□ □□□7bcT Ecl\*~hEjCÉhECYT q(q □j-ÉT\* CqS-jhb pqq̄h□qlbcT Ecljh-Ij□ qb□ql□  
-chxÉqÉC(wch(qjI Icb\*7qI□□

□



□\*ÉCq□ □□□7éqb-jhb qCq-j-\*q(q I(\* éé7Cqh-ql□chxÉqÉC(wch(q (wÉhq=Ghb pq(q □\*jh(q (q □  
Sà Éé□TqC\*bjh□ qj-ub \*qhbq□I Icb\*~h□ □□

□

l RD(D)EURD)NS CR)DRD DR pHLR (R ( D)D □MRfS IER)b □(hpRDMGRLR ( D□□DNRN)NS OER□  
6)feRDR (R)NS OERm)().0D(9.R)NS OER□ T □pmS C(m (Mm)(RD R(S 4S Rç NC (LEP)EIMR□  
(hpRDMR)EURD)NS CR)DRD)RDD)EURDMLUNCe)Rp)VR( MGLREuf.D CMEnNS R( □2nf)R□  
D)EURMNS OERuf.( R( )R UFS pfDCC. □DpUEmRMGLR (R)nmEuf.DLF)R( □NEDM)U2fCb□  
M)R (D)EURMNS OERpf)E N)RU2RE2R)R(hpRMbLUNCe)RR(NmD)EURMNS OERMfCR( □  
RDREuf.D(m (Dpf)E pRES R((R).R UFS pnmD. □UFERU(RMRUf)NR)ED) .R(D)EURMNS OER□  
UFS S ).R(pf)E V)DmCREN)VMRRD(N)UNCe)R(6)feRDR ( INmU)U2m)Me )((R)N)D)EURMR□  
NS OER)nc (RDCL)M)NS OERD) 10mNS R( (S pfE(m (Rpf)E pREURVfENRDU)NR)ED)RNR□  
M)C4(R)C(Hp)IECNa (R)C(Hp)6m)NR)HF)RMR)VMRRD(f)DREVIR.T.VCF.□□ Nb)D.( □  
U)EnS S R( )((D)Dpf)E UFS pnmREN)DU2m (CN)D MRV)MRpf)E N)uf)NR)E)S RECm) R(□  
GURUR)DUG)C. □□ □1 RDMGLRURDR (R)fidREV)R)EDD.( )R m)(RUF.MCC.□pf)Vm( □

□

□

affecter la perception des couleurs. La sensibilité des yeux de chaque individu est légèrement différente. C'est peut-être la plus difficile à contrôler de toutes les conditions qui affectent la perception des couleurs. Les différences de taille dans les coupes de viande peuvent également affecter la perception de la couleur en raison de la quantité de lumière. Pour les coupes plus grandes, plus de lumière est réfléctée et la couleur est souvent perçue comme étant plus lumineuse et plus vive. Les différences de fond affecteront également la perception des couleurs. Il faut prendre soin de normaliser le fond afin de pouvoir effectuer des comparaisons de couleurs. Ainsi, pour discerner la couleur de la viande, la source de lumière doit contenir les longueurs d'ondes capables de réfléchir à la surface de la viande, sans quoi la couleur ne sera pas perceptible par l'œil ou par le détecteur d'un instrument. Pour l'évaluation sensorielle et instrumentale de la viande, la source de lumière doit être normalisée. Outre les aspects physiques liés à la détection de la lumière, à la génération et à la perception de la couleur, un certain nombre de conditions physiques ont une incidence sur la couleur de la viande. Les conditions pouvant influencer la couleur sont la source de lumière, les différences d'observateur, les différences de taille de coupe ou d'objet, le lissé de la surface (par exemple, l'utilisation d'un couteau tranchant ou émoussé pour couper la viande) et les différences d'arrière-plan. De plus, la couleur de fond est importante dans la photographie de la viande, car les fonds clairs peuvent donner une fausse impression de couleur terne ou pâle alors que les fonds sombres tendent à mieux capturer la couleur vive de la viande. En outre, l'angle sous lequel la coupe est visualisée et l'angle incident de la lumière provenant de la source d'éclairage affecteront tous deux la perception des couleurs. Cela est particulièrement important en cas de brillance, ce qui peut entraver la possibilité de visualiser l'échantillon (American Meat Science Association, 2012).

### 3.2 Représentation de la couleur

Une fois que la lumière frappe la surface de la viande et est renvoyée vers le détecteur (œil ou instrument), le processeur (cerveau ou microprocesseur) interprète la couleur. Cependant, la représentation des couleurs peut être assez difficile. Pour faciliter cette représentation des couleurs, des outils ont été développés pour aider à parler le langage des couleurs.

Le système CIELab a été mis au point car les distances colorimétriques entre les couleurs individuelles ne correspondent pas aux différences de couleur perçues. Par exemple, la différence entre le vert et le jaune verdâtre est relativement grande, tandis que la distance qui distingue le bleu du rouge est assez petite. La commission internationale de l'éclairage a résolu

ce problème en 1976 avec le développement de l'espace colorimétrique tridimensionnel Lab (ou espace colorimétrique CIELab). En effet, en raison de la réponse optique de l'œil humain au bleu, au vert et au rouge, les calculs ont converti ces réponses en valeurs  $L^*$ ,  $a^*$  et  $b^*$ . Dans ce système, les différences de couleur perçues correspondent à des distances mesurées par colorimétrie. Pour l'espace colorimétrique, les valeurs  $a^*$  sont représentées sur l'axe X, les valeurs  $b^*$  sur l'axe Y et les valeurs  $L^*$  sur l'axe Z (figure 29). Le gris neutre est au centre de l'espace colorimétrique. Le long de l'axe  $a^*$ , un  $a^*$  positif représente le rouge et un négatif  $a^*$  représente le vert (échelle de +60 pour le rouge à -60 pour le vert). Sur l'axe des Y, un  $b^*$  positif représente le jaune et un négatif  $b^*$  représente le bleu (échelle de +60 pour le jaune à -60 pour le bleu). La troisième dimension  $L^*$  est représentée numériquement, 100 étant blanc et 0 noir. En utilisant la valeur  $L^*$ , il est possible de déterminer la luminosité ou l'obscurité de l'échantillon.

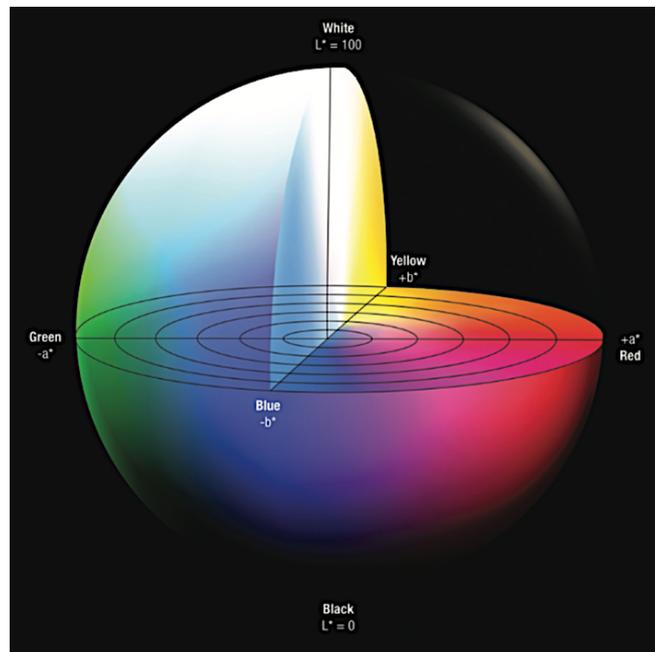


Figure 29 : Représentation de la couleur solide dans l'espace colorimétrique CIE  $L^* a^* b^*$  (American Meat Science Association, 2012).

### 3.3 Méthodes de mesure de la couleur

La mesure de la couleur à l'aide d'instruments normalisés pour la source de lumière et la détection des différences de couleur permettent une évaluation plus précise de la couleur de la viande. Les colorimètres et les spectrophotomètres sont les instruments les plus utilisés pour la mesure de la couleur.

### 3.3.1 Mesure de la couleur par spectrophotométrie

Diverses méthodes spectrophotométriques ont été décrites pour définir les proportions relatives des formes redox de la Mb et de la concentration totale en Mb dans les extraits de viande (Broumand *et al.*, 1958 ; Krzywicki 1982).

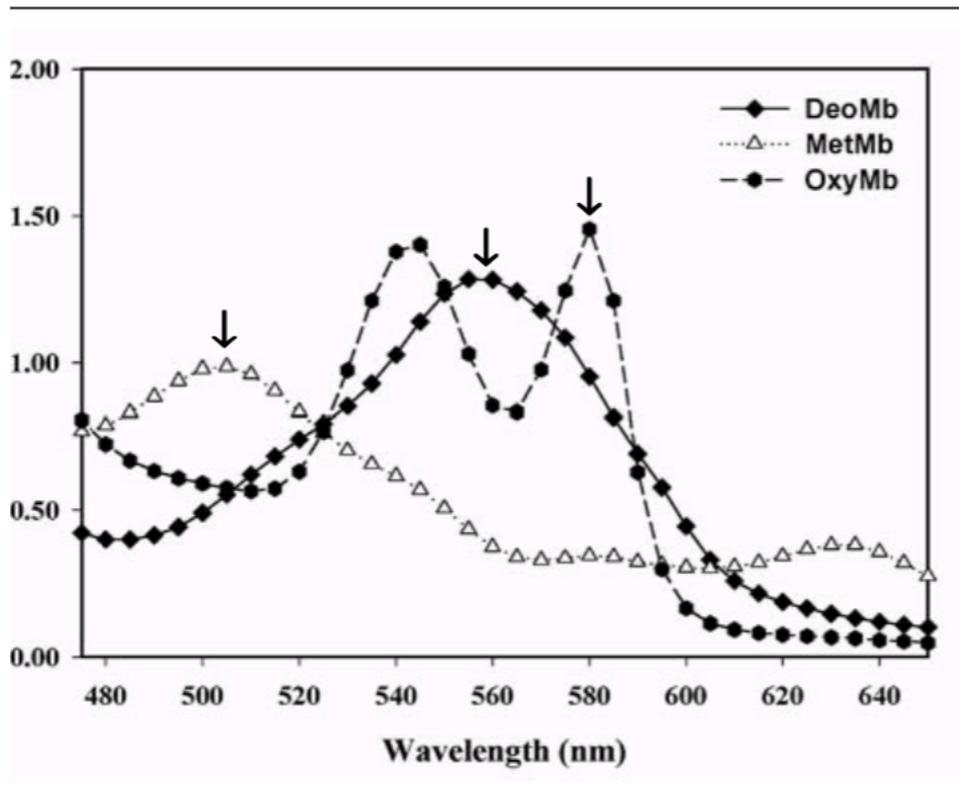
Dans l'étude de Tang *et al.* (2004), l'objectif du travail expérimental était de modifier les équations de Krzywicki (1982) en utilisant des longueurs d'onde appropriées pour l'OxyMb, la DeoMb et la MetMb, afin d'améliorer l'utilité et la précision de ces équations. Dans le système Mb à 3 composants, il convient de choisir les longueurs d'onde qui représentent le maximum d'absorption pour chacune des 3 espèces redox (Benesch *et al.*, 1973). Tang *et al.* (2004) ont alors représenté les spectres d'absorption des différents états redox de la Mb (figure 30) et ont modifié les équations de Krzywicki (équations 1, 2, et 3) :

$$[\text{DeoMb}] = \frac{C_{\text{DeoMb}}}{C_{\text{Mb}}} = -0,543 \times R_1 + 1,594 \times R_2 + 0,552 \times R_3 - 1,329 \quad \text{Eq. (1)}$$

$$[\text{OxyMb}] = \frac{C_{\text{OxyMb}}}{C_{\text{Mb}}} = 0,722 \times R_1 - 1,432 \times R_2 - 1,659 \times R_3 + 2,599 \quad \text{Eq. (2)}$$

$$[\text{MetMb}] = \frac{C_{\text{MetMb}}}{C_{\text{Mb}}} = -0,159 \times R_1 - 0,085 \times R_2 + 1,262 \times R_3 - 0,520 \quad \text{Eq. (3)}$$

Avec  $R_1 = \frac{A_{582}}{A_{525}}$ ,  $R_2 = \frac{A_{557}}{A_{525}}$  et  $R_3 = \frac{A_{503}}{A_{525}}$  et  $A_{\text{XXX}}$ , l'absorbance mesurée à la longueur d'onde XXX exprimée en nm.



□\*ÉQ□ □uEφ-CqI(□jSI cCE-éh(q ILC-É-éhI(q T 7-p: cx-cS\*ng□o q-o S(□ □  
 (7Icl: T: cx-cS\*ng□□qco S(□-(□cl: T: cx-cS\*ng□t 1: o S(□ch-qjh-(q I□chbqh-G-éhI(q □  
 T: cx-cS\*ng□BE\*j- qh-qlg) qlé. bpql\*h( \*BEφ-□qEc\*h-\*IcSqi-\*BEqhlT □qE\*b□  
 (□jSI cCE-éh(q□j□o q-o S,hlT □qE\*b(□jSI cCE-éh(q□j □□qco S,hlT □q-□qE\*b□  
 (□jSI cCE-éh(q□v 1: o S,□ hlT □éjhx□q-j □ □□

□□□□□□ nCAénéntr □sgAmAÉdrÉC □G □nCl□Ai RÉSAnC□

□R(R(RL2.CF)R□MRS RD)ER RD□ImDLR D)E□Nm□NLR MG n0RDpECRD pñE). □nppñRCNp2f(f□  
 .) S LHF)R□i mUC CmM(v).( □□ □e c)N□V m□q-j- □□□ □f.( □S f.( LHF)R□NRDCS n0RD□  
 mLF)CDR□6fES n(□pR0 □MHCVIDM)ar (Uhs Lmpf)VmR( □4(R□UFS pnHLRD□). □UfNES 9(R□  
 Uf.VRE(CDR □MRfS IER)b □D□9S RMfS RD)ERDMRf)NR)EDR(□pñE)RENv□h(□. □ME)E6mUR□  
 R(NE(m□p2hDU□U2S □)R□MRni I□l RDV□NR)ED' a □R(□□m□I□pR)VR( □4(RS RD)ELRDDE□  
 ). R&.R.Mf..LRMG n0RDpR0 □e c)N□V m□q-j- □□□ □)□q-j- □□□ □0EzUR□). □En(CRS R( □  
 MG n0RDf.( □p)□mm□N□RE□m□Uf)NR)E□MRni V□mMRR□DppES m( □NR□f.M□Ni0En□DR R(□NE□  
 l □am□N□RMG n0RDmpRES □MfS RD)EREN□Uf)NR)E□MRni V□mMRR□(□□□□). □N□OC□ND□p□LL□m□  
 MRU□h(f□Emp2□RE□ND&.R DUf)VRE□RDpñE□m□ni R□i I□R(□MB□CS RE□NR□p)EUR( n0R□MRDE□6mUR□  
 MLFNELRMRni V□mMRR' COAfl□□□ □□ RD.f)VR□NRD(RL2.fnf□CRDpHS R(R( □MRS RD)EREN□  
 Uf)NR)E□MRni V□mMRR)□Uf)EDMRni(Em□6fES n(□. □m□VR□p□DD□C□LMRR(f)E□MG6 fES n(□. □m)□

producteurs. Mesurer avec une grande précision les valeurs  $L^*$ ,  $a^*$  et  $b^*$  à partir d'images numériques RVB (León *et al.*, 2006) offre le potentiel de la mesure en ligne pour une évaluation rapide de la couleur de la viande en tant qu'outil de contrôle de la qualité. De même, l'utilisation de spectroscopie proche infrarouge (NIRS = Near-Infrared Spectroscopy) pour mesurer la couleur et d'autres attributs de qualité et composition (Mitsumoto *et al.*, 1991 ; Hildrum *et al.*, 1994 ; Forrest *et al.*, 2000 ; Geesink *et al.*, 2003) offre une excellente occasion d'évaluer de façon non invasive la viande. Les systèmes de numérisation et d'analyse d'images vidéo (VISA = Video Image Scanning and Analysis) (Stanford *et al.*, 1998 ; Hopkins *et al.*, 2004) peuvent également fournir des possibilités d'évaluation du rendement, de la couleur et d'autres attributs de qualité importants permettant un classement et une évaluation rapides de la qualité globale de la viande.

## 4. Facteurs influençant les virements de couleurs de la viande rouge fraîche

La couleur de la viande à tout moment après l'abattage de l'animal est une combinaison de la composition du muscle d'origine, du processus par lequel ce muscle se transforme en viande et des conditions dans lesquelles cette viande est stockée. La couleur de la viande résulte en grande partie de la quantité de myoglobine et de l'état redox de celle-ci mais aussi de l'oxydation inévitable du fer qui survient au fil du temps. La couleur étant une caractéristique de qualité importante et un facteur déterminant de la durée de conservation, de nombreuses technologies ont été développées pour ralentir le processus d'oxydation. La partie suivante est issue d'une revue bibliographique réalisée par Behkit *et al.* (2019a).

### 4.1 Facteurs pré-abattage

La variation de la couleur de la viande est dépendante de plusieurs facteurs liés à l'animal (l'espèce, la race, le sexe, l'âge, le régime alimentaire et l'activité) et le type de muscle (figure 31). Ces facteurs affectent à la fois la quantité de Mb (le pigment natif, également appelé désoxy-myoglobine) initialement présent mais aussi le passage de la DeoMb à l'OxyMb ou à la MetMb. L'augmentation de la MetMb au cours du temps est la première cause de détérioration de la couleur du muscle.

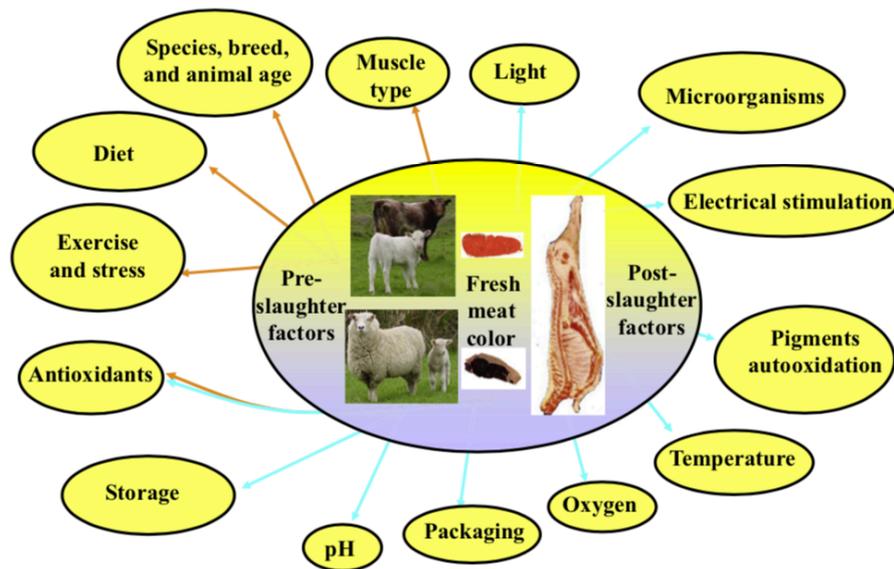


Figure 31 : Facteurs influençant la couleur de la viande rouge fraîche.

#### 4.1.1 Types de muscle

Les caractéristiques biochimiques et physiologiques, ainsi que l'apparence visuelle du muscle, reflètent les propriétés des types de fibres dans un muscle (Karlsson *et al.*, 1999). De plus, différentes fibres musculaires ont différentes quantités de MetMb réductase (Echevarne *et al.*, 1990 ; Reddy and Carpenter, 1991). Les proportions de types de fibres dans un muscle varient avec l'action du muscle. Les muscles des animaux utilisés pour la locomotion ont une couleur plus foncée car ils contiennent généralement de plus fortes concentrations de Mb que les muscles de soutien (par exemple 12 mg/g de tissu humide\* dans l'extenseur du *Carpe radialis* par rapport à 6 mg/g de tissu humide dans le muscle *Longissimus dorsi* (LD, annexe 12) (Cross *et al.*, 1986)). Renner (1984) a signalé que le catabolisme\* du NAD diffère selon le type de muscle. Madhavi et Carpenter (1993) ont constaté que le LD était plus stable en couleur que le *Psoas major* (PM, annexe 12) car le muscle LD présentait une activité réductrice de MetMb plus élevée, une teneur élevée en NAD et un taux de consommation d'oxygène (OCR = Oxygen Consumption Rate, en anglais) faible par rapport au muscle PM.

#### 4.1.2 Teneur en myoglobine dans les muscles

La teneur en Mb de la viande varie selon les espèces, la race, les animaux, l'âge, le régime alimentaire et le type de muscle. La teneur en Mb la plus élevée dans les viandes commerciales

se trouve dans la viande de cheval et le gibier, mais les valeurs exactes varient dans la littérature selon les études. Yasui (1956-1957) a signalé que les teneurs moyennes en Mb dans les viandes fraîches de porc, de cheval, de mouton et de bœuf étaient de 1,9 ; 4,5 ; 2,1 et 3,3 mg/g de poids frais pour le *deltoideus\**, 0,78 ; 4,4 ; 1,1 et 4,0 pour le *Longissimus dorsi*, et 0,9 ; 3,32 ; 0,4 et 2,6 pour le *Semitendinosus*, respectivement. Il a constaté une très forte variation du contenu en Mb chez les animaux de la même espèce. McKenna *et al.* (2005) ont trouvé que la teneur en Mb de 19 muscles de bœuf variait de 3,6 à 5,62 mg/g de poids frais. Une large gamme de contenus en Mb a été rapportée pour différentes coupes de porc probablement dues à la race et au régime alimentaire. Par exemple, Topel *et al.* (1966) ont rapporté une plage allant de 2,9 à 6,4 mg/g dans divers muscles de porc, alors que Kim *et al.* (2010) ont trouvé une plage de 1,2 à 2,1 mg/g. Parmi les viandes de gibier, la viande de zèbre contiendrait la plus forte teneur en Mb (7,2 mg/g) (Onyango *et al.*, 1998). Les muscles contenant de fortes concentrations en Mb apparaissent plus sombres que ceux avec moins de Mb. Les différences d'OCR et de taux d'auto-oxydation de Mb avec les types de muscles peuvent expliquer les variations de stabilité de la couleur entre différents muscles (Renerre and Labas, 1987).

#### 4.1.3 Auto-oxydation des pigments

La compréhension générale de l'accumulation de la MetMb est que la quantité nette de MetMb est le résultat de ces formations par l'auto-oxydation de l'OxyMb et de la DeoMb et de la diminution de l'activité réductase de la MetMb (Bekhit and Faustman, 2005 ; Bekhit *et al.*, 2013). L'auto-oxydation de la Mb a une demi-vie de quelques heures dans des conditions de pH, de force ionique et de température *in vivo* (Livingston *et al.*, 1986). La liaison avec l'O<sub>2</sub> déclenche un ajustement conformationnel à la globine de sorte que l'orientation de l'imidazole proximal, qui est en contact avec l'hème, change pour améliorer le chevauchement de l'orbitale *p* avec le fer (Giddings, 1977). De plus, les pigments de l'hème peuvent être plus actifs comme catalyseurs lorsque le fer est à l'état ferrique (Greene and Price, 1975). À un pH physiologique (7,2), le taux d'association/dissociation de l'hémoglobine (Hb) est trop lent pour produire une auto-oxydation détectable, mais à pH normal (5,8) dans le muscle, le taux d'auto-oxydation est significatif (Adams, 1976). Gotoh and Shikama (1974) ont estimé que la demi-vie de l'auto-oxydation de l'OxyMb bovine à pH 5 était de 2,8 heures à 25 °C et 5 jours à 0 °C. De plus, l'OxyMb a une structure qui la rend plus stable à l'oxydation que la désoxy-myoglobine (Giddings, 1974). Renerre *et al.* (1992) ont indiqué que l'auto-oxydation de l'OxyMb purifiée provenant des muscles LD et PM sur une large gamme de pH (5–9), de température (20–50 °C)

et de force ionique (0–500 mM) dépendait du temps *post-mortem* et du type de muscle. Les taux d’auto-oxydation des muscles n’étaient pas différents quand l’OxyMb était extraite 2 heures *post-mortem* mais à 192 heures *post-mortem* l’auto-oxydation de l’OxyMb de PM était plus élevée que celle de LD. Les différences inhérentes à l’accumulation de MetMb (taux d’auto-oxydation) seraient le principal facteur des différences de stabilité de la couleur entre les différents muscles (O’Keeffe and Hood, 1982). Par ailleurs, Ledward *et al.* (1977) et Ledward (1985) ont signalé que le taux d’auto-oxydation entre plusieurs muscles était similaire et que le système réducteur de la MetMb était le facteur le plus important pour la régulation de la couleur. L’oxydation accrue de la Mb *post-mortem* en l’absence d’antioxydant et une activité réductrice faible sont les principales causes de décoloration (Bekhit *et al.*, 2007, 2013).

## 4.2 Facteurs post-abattage

### 4.2.1 Transformation du muscle en viande

La couleur de la viande est également affectée par la diminution de la température et du pH *post-mortem* et par le pH ultime de la viande. Durant cette période *post-mortem*, l’équilibre entre les facteurs prooxydants et antioxydants favorise l’oxydation (Morrissey *et al.*, 1998 ; Bekhit *et al.*, 2007).

#### 4.2.1.1 Température de *rigor mortis*

Ledward (1985) a montré que la couleur et la stabilité de la couleur étaient affectées par la température à laquelle le muscle entre en *rigor mortis*. Cela concerne la transformation de la viande, en particulier lors des étapes qui utilisent des stimulations électriques et du désossage à chaud. Bien que les muscles qui sont entrés dans la *rigor mortis* à des températures plus élevées, en raison des stimulations électriques, aient été moins stables, il existe des preuves d’une amélioration significative des paramètres de couleur (chroma et L\*) si la *rigor mortis* s’est produite à des températures extrêmes de 30 à 35 °C (Ledward, 1985 ; Farouk and Swan, 1998 ; Young *et al.*, 1999 ; Geesink *et al.*, 2000). Cependant, l’effet est perdu avec le conditionnement sous vide et le vieillissement (Farouk and Swan, 1998 ; Geesink *et al.*, 2000).

#### 4.2.1.2 Chute de pH

La conversion du muscle en viande implique une formation d'acide lactique par glycolyse anaérobie pour maintenir les niveaux d'ATP dans le muscle (O'Halloran *et al.*, 1997). Le taux de glycolyse et la baisse de pH qui en résultent sont influencés par l'espèce, le stress avant abattage (Warriss, 2000a) et la température *post-mortem* (Tornberg *et al.*, 2000). Des taux anormaux de chute du pH peuvent réduire la qualité de la viande produite et jouer un rôle dans la détermination de la stabilité de la couleur de la viande en modifiant la couleur perçue indépendamment de la formation de MetMb (Ledward, 1985). Une chute rapide du pH, alors que la température de la carcasse est élevée, peut entraîner un pH final faible ( $> 5,5$ ) et une apparence de viande plus claire en raison de la diminution de la capacité de rétention d'eau et de l'augmentation de la quantité d'eau non liée. Cela se voit dans la viande de porc pâle, molle et exsudative (PSE). Une chute lente du pH, alors que la température de la carcasse est élevée, donne un pH ultime plus élevé ( $> 5,8$ ) et une couleur de viande plus foncée dans les viandes de bœuf, d'agneau et le porc sec, sombre et ferme (DFD).

Le pH et la capacité de rétention d'eau inhabituels de la viande PSE et DFD produisent des couleurs anormales dans la viande fraîche (Faustman and Cassens, 1990a ; Ledward, 1992). Ils induisent également des différences stabilité de couleur lors de la vente au détail de porc avec PSE, le moins stable, et DFD, le plus stable. La faible stabilité de la viande PSE est probablement due à une augmentation accrue de l'auto-oxydation et à une diminution de la réduction de MetMb avec un pH bas (Owen and Lawrie, 1975).

Le vitesse de refroidissement et de chute du pH du muscle au cours de la glycolyse *post-mortem* peut également influencer sur la couleur de la viande fraîche indépendamment de la formation de MetMb (Ledward, 1985). Le taux de consommation d'oxygène (OCR) dans la viande refroidie rapidement sera probablement plus élevé que dans la viande refroidie lentement et pourrait être responsable de la formation de teneurs plus élevées en MetMb pendant le stockage (Atkinson and Follett, 1973). Une OCR plus élevée se manifeste dans la viande à pH élevé et contribue à l'apparition d'une couleur foncée (Ledward, 1985).

#### 4.2.1.3 pH ultime

Le pH ultime (pHu) est un indicateur général important de la qualité de la viande et un indicateur spécifique de la couleur de la viande. Une corrélation significative entre la couleur de la viande et le pHu a été rapportée (Purchas *et al.*, 1999).

Il a été constaté que le pHu était en corrélation avec les composants de couleur a\* et b\* mais pas avec L\* dans le cas du bœuf (Warner, 1989). Le pHu pour la viande normale varie entre 5,4 et 5,8 (Faustman and Cassens, 1990a, b). À des valeurs de pH inférieures et supérieures, une couleur anormale peut apparaître. La viande à pH bas est généralement considérée comme celle qui se décolore le plus rapidement (Ledward, 1985; Zhu and Brewer, 1998). Par exemple, il a été rapporté que le bœuf avec un pH de 5,6 était moins stable en couleur que le bœuf de pH supérieur à 5,8 (Ledward *et al.*, 1986).

Renner (1999) a suggéré que la faible stabilité à pH bas était due à une augmentation du taux d'auto-oxydation de la Mb, alors que la réduction enzymatique était fortement réduite. En plus de l'accélération du taux d'auto-oxydation de la Mb à un pH bas (Gotoh and Shikama, 1974), la réduction non enzymatique de la MetMb a été diminuée d'autant plus que le pH était inférieur à pH 6,0 (Zhu and Brewer, 2003).

Les mécanismes possibles pour un faible pH accélérant l'oxydation de la Mb ou de l'OxyMb en MetMb et provoquant une décoloration de la viande sont les suivants :

- dénaturation de la fraction protéique de la globine qui protège les groupes hèmes. Cela provoque la dissociation de l'O<sub>2</sub> de l'hème, ainsi que l'oxydation de l'atome de fer (Cross *et al.*, 1986) ;
- la faible stabilité de l'OxyMb à pH bas. Par exemple, la demi-vie de l'OxyMb de boeuf à 0 °C est 71 fois plus élevée à pH 9,0 que de l'OxyMb à pH 5,0. À 25 °C, la demi-vie de l'OxyMb est 60 fois plus élevée à pH 9,0 qu'à pH 5,0 (Gotoh and Shikama, 1974). L'accélération de la protonation de la liaison de l'O<sub>2</sub> et la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) qui sont de puissants prooxydants (Livingston and Brown, 1981) ;
- l'oxydation catalysée par le fer est sensible au pH et est la plus active dans des conditions acides (Lee and Hendricks, 1997).

Un pH élevé augmente la capacité de rétention d'eau et l'OCR (Ledward, 1985), ce qui provoque une couleur foncée due au gonflement des fibres, engendrant un espacement plus étroit des fibrilles. Cela entraîne alors une moindre diffusion de la lumière et, par conséquent, une viande plus translucide. Dans de telles conditions, la lumière pénètre plus profondément dans la viande et, par conséquent, le Mb absorbe plus fortement la lumière, ce qui provoque la couleur plus sombre de la viande. L'augmentation de la capacité de rétention d'eau et une structure plus fermée de la myofibrille résistent à une diffusion profonde du dioxygène qui, outre l'OCR élevée, fait de la désoxymyoglobine le pigment dominant. Par conséquent, cette viande a une couleur pourpre foncé (Warner, 1989). Le taux de formation de l'OxyMb à pH 8

peut être trois à quatre fois plus élevé qu'à pH 5-7 (Schwimmer, 1981). Le fait d'abaisser le pH de 7,4 à 5,7 pendant le processus de conversion du muscle en viande tend à dénaturer certaines des enzymes réductrices actives et à provoquer une diminution de l'OCR (Schwimmer, 1981). À partir de cette explication, Asghar *et al.* (1990) ont constaté que la présence de mitochondries et de microsomes dans des extraits sarcoplasmiques augmentait l'OxyMb et diminuait la quantité de MetMb à pH élevé, mais qu'à pH bas, leur présence avait peu d'effet.

#### 4.2.2 Conditions de stockage

Une fois que le muscle est transformé en viande, la carcasse est transformée en morceaux de viande individuels et est souvent stockée au froid. Lors de la première exposition de la viande à l'air, la couleur change du violet pourpre de la désoxymyoglobine à la couleur rouge cerise brillante de l'oxymyoglobine, un processus appelé « blooming ». Passé ce délai, la couleur se dégrade principalement à la suite de processus oxydants.

##### 4.2.2.1 Oxygène

La luminosité et la saturation d'une couleur rouge développée dépendent de la profondeur de la zone dans laquelle l'O<sub>2</sub> peut pénétrer dans le tissu et oxygéner la Mb (figure 25). La pénétration de l'oxygène augmente linéairement avec le temps après la coupe de la viande et est influencée par l'espèce animale et le type de muscle (MacDougall and Taylor, 1975). La profondeur de pénétration de l'O<sub>2</sub> dans le tissu carné est déterminée par (1) le taux de diffusion de l'O<sub>2</sub> dans le tissu, (2) l'OCR du tissu et (3) la pression de l'O<sub>2</sub> à la surface (O'Keeffe and Hood, 1982). À faible teneur en O<sub>2</sub>, des couleurs vives se développent dans la viande. Cet effet peut être observé dans une coupe transversale fraîchement coupée d'un steak de bœuf vieilli. Le pigment à la surface, où l'O<sub>2</sub> est facilement disponible, est l'OxyMb (rouge vif) résultant de l'effet d'action en masse de l'O<sub>2</sub>, qui s'est diffusé dans cette région. Au fur et à mesure que la quantité d'O<sub>2</sub> disponible diminue, les Mb disponibles sont converties en MetMb. Comme l'O<sub>2</sub> est épuisé dans cette région, il n'y a plus d'O<sub>2</sub> disponible pour migrer vers la région suivante, le centre de la tranche, de sorte que cette région (le centre) est de couleur violette, celle de la Mb. La formation de MetMb est optimale lorsque la pression partielle d'O<sub>2</sub> est de 6 mm Hg (à 0 °C) ou de 7,5 mm Hg (à 7 °C) (Ledward, 1970). L'OCR diminue avec le temps *post-mortem* en raison de l'épuisement des substrats et des coenzymes et de la dégradation des enzymes impliquées dans la respiration mitochondriale (DeVore and Solberg, 1974). L'OCR du muscle LD est réduite à

30 % de sa valeur initiale après 2 jours *post-mortem* et à 15 % après 10 jours *post-mortem* (O'Keeffe and Hood, 1982). Cela peut conduire à une plus forte pénétration de l'O<sub>2</sub> (Feldhusen *et al.*, 1995) et à un « blooming » plus rapide lors d'une exposition à l'air. Ainsi, de nombreux chercheurs pensent que l'OCR est le principal facteur contrôlant la stabilité de la couleur (Echevarne *et al.*, 1990 ; Lanari and Cassens, 1991). L'inhibition de la respiration mitochondriale par l'ajout de roténone\* ou l'abaissement du pH des homogénats de muscles de bœuf *prerigor* a produit une couleur rouge vif (Cornforth and Egbert, 1985), confortant ainsi cette hypothèse. La couleur foncée associée à la viande de *prerigor* est due aux mitochondries actives qui consomment l'O<sub>2</sub> et maintiennent la Mb sous sa forme désoxygénée (couleur violette).

#### 4.2.2.2 Atmosphère de stockage

La modification de l'atmosphère entourant la viande peut considérablement influencer sur la durée de conservation (couleur de la viande) de la viande fraîche. Le conditionnement sous atmosphère modifiée (MAP), associé à un contrôle optimal de la température et à une hygiène de transformation, est le moyen le plus efficace de prolonger la durée de conservation de la viande fraîche réfrigérée et de maintenir la qualité et la sécurité du produit (Jeyamkondan *et al.*, 2000; Mancini *et al.*, 2009). Le MAP utilise couramment différentes quantités de dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>), de dioxygène (O<sub>2</sub>) et de diazote (N<sub>2</sub>). L'emballage sous vide peut être considéré comme un cas particulier de MAP, car la création de conditions anoxiques\* modifie l'atmosphère de l'emballage. La couleur de la viande fraîche se détériore avec le temps de stockage et l'emballage sous vide améliore la couleur de la viande crue lorsqu'elle est exposée à l'air. Cependant, toute amélioration de la couleur est de courte durée et le taux de changement de couleur de la viande précédemment emballée sous vide est supérieur à celui de la viande non emballée sous vide. Lorsque de l'O<sub>2</sub> est inclus dans le mélange de gaz MAP, la Mb est maintenue sous forme oxygénée. Il a été rapporté que des emballages contenant de fortes concentrations en O<sub>2</sub> (80 % d'O<sub>2</sub> et 20 % de CO<sub>2</sub>) peuvent améliorer la durée de conservation du bœuf de 2 semaines tout en maintenant une couleur rouge acceptable à 1,5 °C (Gill and Jones, 1994). L'utilisation du CO<sub>2</sub> présente l'avantage que son effet inhibiteur augmente avec la diminution de la température de la viande (Jay, 1992). Il a été démontré qu'une combinaison de MAP à CO<sub>2</sub> élevé (100 %) et à basse température (~ 1,5 °C) peut améliorer la durée de conservation des produits à base de viande (Gill and Jones, 1992). Cependant, à ce pourcentage élevé de CO<sub>2</sub>, la couleur est violette et les consommateurs peuvent ne pas l'accepter s'ils n'ont pas été informés. Le CO<sub>2</sub> est bactériostatique\*, mais le mécanisme exact de l'inhibition

microbienne n'est pas connu (Jeyamkondan *et al.*, 2000). L'azote est généralement utilisé comme gaz inerte de remplissage.

#### 4.2.2.3 Température de stockage

L'influence de la température sur la dégradation de la couleur de la viande est bien connue. Une augmentation de 0 à 5 °C double le taux de décoloration (Taylor, 1981) et le degré de décoloration après 96 heures de stockage à 10 °C provoque une décoloration deux à cinq fois supérieure à celle du stockage à 0 °C selon le muscle (Hood, 1975). Le coefficient de température\* (Q10) pour l'oxydation de l'OxyMb est 1,25 à 2,5 fois celui des réactions chimiques ou enzymatiques (Faustman and Cassens, 1990a). Les températures élevées favorisent une plus grande récupération de l'O<sub>2</sub> par les enzymes respiratoires résiduelles, ce qui conduit à une faible tension d'O<sub>2</sub> et facilite l'auto-oxydation de la Mb. L'oxydation des lipides augmente également avec les températures élevées, ce qui contribue à l'oxydation non enzymatique de la Mb (Renner, 1999).

L'impact de la température de stockage dépend de l'emballage et du type de muscle. Par exemple, lorsque la viande de bœuf est stockée dans l'air, le taux de décoloration accru dû à une température de stockage élevée est proportionnellement identique pour tous les muscles (PM, GM et SM) ou supérieur pour les muscles (SM) avec une stabilité de couleur accrue (Ledward, 1985 ; O'Keeffe and Hood, 1980-1981a, b). Lorsque la viande est stockée dans une atmosphère exempte d'O<sub>2</sub>, l'augmentation de la température de stockage entraîne un taux de décoloration plus élevé dans un muscle (PM) avec une stabilité de couleur intrinsèquement moindre (O'Keeffe and Hood, 1980-1981a, b).

L'augmentation de la température accélère les oxydations de Mb et d'OxyMb, ce qui entraîne une formation accrue de MetMb dans la viande par le biais des mécanismes suivants :

- augmentation des processus oxydatifs en augmentant la vitesse de réactions prooxydantes et en accélérant l'oxydation des lipides (Faustman and Cassens, 1990a) ;
- diminution de la solubilité de l'oxygène, ce qui favorise la dissociation de l'O<sub>2</sub> de l'OxyMb. La désoxymyoglobine la moins stable a une plus grande tendance à l'oxydation (Giddings, 1977; O'Keeffe and Hood, 1982) ;
- OCR accru (Urbin and Wilson, 1958; cité par O'Keeffe and Hood, 1982), ce qui entraîne une diminution correspondante de la profondeur de pénétration de l'oxygène ;
- augmentation de la croissance microbienne.

#### 4.2.2.4 Lumière

La photo-oxydation fait normalement référence à la modification ou à la destruction des résidus aminés, en particulier l'histidylimidazole, les cycles phénylalanyle et tyrosyle, le système hétérocyclique tryptophyle, et les méthionyl et cystéinyl sulfures (Foote, 1968 ; Giddings, 1977). La lumière incidente dans les vitrines d'exposition peut contribuer à la décoloration de la viande et constitue un problème majeur pour la viande congelée. Son impact dépend de la longueur d'onde et de l'intensité de la lumière, de la température, de la pression d'O<sub>2</sub>, du pH de la viande, du temps de stockage et de la présence d'ions métalliques de transition (Satterlee and Hansmeyer, 1974 ; Hunt *et al.*, 1975 ; Owen *et al.*, 1976). La photocatalyse est due, soit indirectement par le biais de composés associés à la riboflavine\*, soit directement par la photosensibilisation de l'hème ou des modifications de l'acide aminé dans la Mb (Lynch *et al.*, 1976 ; Giddings, 1977). Une période de conservation à l'obscurité de 30 jours de la viande complétée par de la vitamine E retarde l'accumulation de MetMb dans la viande en raison d'une réduction du taux d'auto-oxydation de l'OxyMb (Lanari *et al.*, 1994). Il existe maintenant des preuves permettant de vérifier que la viande conservée dans l'obscurité présente une meilleure stabilité de la couleur (Taylor, 1981). MacDougall et Powell (1997) ont étudié les effets de la température d'exposition et des propriétés d'éclairage sur la stabilité de la couleur de la viande fraîche et vieillie. Ils ont conclu que la température de la viande dans la vitrine était le facteur le plus important. Si la température est basse, le niveau d'éclairage est alors le facteur déterminant de la durée de vie du produit. Le type de lumière peut affecter la couleur de la viande, mais le niveau d'éclairage est le plus important. Il existe des différences intrinsèques entre les muscles (LD et PM) et au sein des muscles (extérieur et intérieur du SM), qui peuvent affecter la stabilité de la couleur car ils réagissent différemment à la lumière. Le taux élevé de décoloration des morceaux de viande affichés sous éclairage est dû à la chaleur dégagée par les ampoules (Greer et Jeremiah, 1980, 1981) et aux rayons UV (Anderson *et al.*, 1989). L'énergie provenant de la lumière peut induire la formation de ROS (Reactive Oxygen Species), responsables de l'auto-oxydation du pigment (Schwimmer, 1981). Berthelsen et Skibsted (1987) ont déclaré que la lumière était le facteur le plus important de la décoloration de la viande congelée. Il est à noter que l'O<sub>2</sub> singulet\* est impliqué dans l'oxydation de l'Hb par la lumière (Possani *et al.*, 1970). Puisque la Mb et l'Hb partagent beaucoup de caractéristiques, il est dès lors possible d'imaginer que la Mb peut également être affecté par la lumière.

#### 4.2.2.5 Auto-oxydation réciproque hème-lipides

La relation entre l'oxydation des lipides et les pigments musculaires a été corroborée par de nombreuses études (Faustman *et al.*, 1989, 1992). Les pigments de l'hème dans les tissus carnés catalysent l'oxydation des lipides des tissus musculaires et produisent une odeur et une saveur rances. Les radicaux libres produits dans les lipides oxydants peuvent oxyder et décomposer les pigments de l'hème (Bekhit *et al.*, 2013). Ces deux réactions semblent être interdépendantes en ce sens que l'inhibition de l'une d'elles entraîne l'inhibition de l'autre (Greene and Price, 1975). Un laps de temps a été observé entre l'initiation de l'oxydation du pigment et celle de l'oxydation des lipides, ce qui suggère que la conversion de la Mb en MetMb est nécessaire pour accélérer la catalyse de l'oxydation des lipides (Koizumi *et al.*, 1973). Le développement d'une couche de MetMb sous la surface de la viande dépend de la pression partielle d'O<sub>2</sub> ; une pression élevée d'O<sub>2</sub> stabiliserait la couleur, car la formation de MetMb nécessite une pression d'O<sub>2</sub> faible. Selon Wang (1962), l'oxydation de l'OxyMb est plus lente que le processus correspondant pour l'hème libre d'un facteur d'environ 100. Par conséquent, le maintien de la Mb sous sa forme oxygénée réduit considérablement les taux d'auto-oxydation. Cependant, une pression élevée en O<sub>2</sub> augmente le taux d'oxydation des lipides et peut neutraliser les effets bénéfiques sur la couleur obtenue par ce traitement. Les formes ferriques de l'Hb et de la Mb seraient des catalyseurs très actifs de l'oxydation des lipides (Kaschnitz and Hatefi, 1975). De même, il a été signalé que l'activité de l'OxyMb en tant que catalyseur est similaire à celle de MetMb, en particulier pour des rapports de concentration plus faibles des pigments de l'hème sur des lipides insaturés (Koizumi and Nonaka, 1975). Greene et Price (1975) ont conclu que les pigments de l'hème peuvent être des catalyseurs plus actifs de l'oxydation des lipides lorsque le fer est ferrique et que le fer non héminique peut être un catalyseur plus actif à l'état ferreux. Le fer non héminique agit en tant que prooxydant dans la viande cuite, alors que la MetMb ne présente que peu ou pas d'activité prooxydante (Love and Pearson, 1975). Ainsi, le fer (libre et lié aux protéines) et l'hème (oxydé ou réduit) ont la capacité d'oxyder les acides gras insaturés dans la viande (Gandemer, 1998).

### 4.3 Microorganismes

#### 4.3.1 Diversité bactérienne de la viande

Les muscles étant stériles chez un animal sain, les microorganismes présents sur la viande proviennent du microbiote\* de l'animal ou de l'environnement. Ils colonisent la surface de la

viande durant la manipulation, la transformation, le transport, ou la distribution des carcasses (Lawrie and Ledward, 2006). Les différentes communautés bactériennes se développant sur la viande dépendent de la température de stockage, de la méthode d'emballage, et de l'ajout ou non de conservateur (Doulgeraki *et al.*, 2012). À des températures de réfrigération (0 à 5 °C) et à un pH de la viande normal (5,5 à 5,8), les bactéries à Gram négatif (Gram -) ont un bon taux de croissance et colonisent rapidement la surface de la viande (García-López *et al.*, 1998). La grande résistance des bactéries à Gram positif (Gram +) leur permet de mieux supporter les facteurs associés à la conservation de la viande (activité en eau, pH et température faible). Cela leur permet une plus longue persistance sur la viande (Holzapfel, 1998). Certains genres bactériens sont couramment retrouvés à la surface de la viande (tableau 7). Les bactéries Gram - les plus souvent présentes sont des gammaprotéobactéries et les Gram + les plus courantes sont des *Bacilli*. Il est aussi courant de retrouver des *Acinetobacter* et des entérobactéries (Nychas *et al.*, 2008 ; Yang *et al.*, 2018).

Tableau 7 : Différents genres bactériens les plus couramment retrouvés à la surface de la viande et de leur origine (1 : García-López et al., 1998 ; 2 : Nychas et al., 2008 ; 3 : Yang et al., 2018 ; 4 : Zagorec and Champomier-Vergès, 2017 ; 5 : Lawrie and Ledward, 2006 ; 6 : Holzapfel, 1998 ; 7 : Kandi et al., 2016 ; 8 : Lee et al., 2017).

Gram	Classe	Famille	Genre	Présence	Source de contamination	Références	
Gram -	Gammaprotéobactéries	<i>Pseudomonaceae</i>	<i>Pseudomonas</i>	++++	Sol, eau douce et salée	1 ; 2 ; 3 ; 4	
		<i>Moraxellaceae</i>	<i>Acinetobacter</i>	++++	Sol et eau douce ou salée	1 ; 2 ; 3 ; 4	
			<i>Moraxella</i>	+++	Microbiote de l'animal	1 ; 2	
			<i>Psychrobacter</i>	++	Eau de mer	1 ; 3	
		<i>Shewanellaceae</i>	<i>Shewanella</i>	+++	Eau de mer	1 ; 2	
		<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Serratia</i>	+++	Microbiote de l'animal, eau, sol, et air	1 ; 3 ; 4	
			<i>Salmonella</i>	+++	Urine ou fecès	1 ; 5	
			<i>Shigella</i>	+++	Urine ou fecès	1 ; 5	
			<i>Yersinia</i>	+++	Urine ou fecès	1 ; 2 ; 3	
		<i>Vibrionaceae</i>	<i>Vibrio</i>	+	Eau de mer	1 ; 5 ; 2	
	<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas</i>	+	Eau douce ou salée	1 ; 5 ; 2 ; 4		
	<i>Alteromonadaceae</i>	<i>Alteromonas</i>	+	Eau de mer	1 ; 2		
	Bétaprotéobactéries	<i>Alcaligenaceae</i>	<i>Alcaligenes</i>	+	Microbiote de l'animal, eau, et sol	1 ; 2 ; 4	
Flavobactéries	<i>Flavobacteriaceae</i>	<i>Flavobactérium</i>	+	Sol ou eau douce	1 ; 5 ; 2 ; 4		
Gram +	Bacilli	<i>Listeriaceae</i>	<i>Brochothrix</i>	++++	Eau, et sol	6 ; 5 ; 2 ; 3 ; 4	
			<i>Listeria</i>	+	Sol et eau	6 ; 5 ; 2 ; 3	
		LAB	<i>Carnobacteriaceae</i>	<i>Carnobacterium</i>	++++	Microbiote de l'animal, eau, et sol	6 ; 2 ; 4
		LAB	<i>Lactobacillales</i>	<i>Lactobacillus</i>	++++	Microbiote de l'animal	6 ; 5 ; 2 ; 3 ; 4
		LAB	<i>Enterococcaceae</i>	<i>Enterococcus</i>	+++	Microbiote de l'animal	6 ; 5 ; 2 ; 4
				<i>Vagococcus</i>	+	Microbiote de l'animal	6 ; 3
		LAB	<i>Leuconostocaceae</i>	<i>Weissella</i>	++++	Microbiote de l'animal	6 ; 2 ; 4
				<i>Leuconostoc</i>	+++	Sol	6 ; 5 ; 2 ; 3 ; 4
		LAB	<i>Streptococcaceae</i>	<i>Lactococcus</i>	+	Microbiote de l'animal	6 ; 2 ; 3 ; 4
		<i>Planococcaceae</i>	<i>Kurthia</i>	+++	Sol	6 ; 2	
		<i>Staphylococcaceae</i>	<i>Staphylococcus</i>	++	Microbiote de l'animal et sol	6 ; 5 ; 2 ; 3	
		<i>Clostridiaceae</i>	<i>Clostridium</i>	+	Microbiote de l'animal et sol	6 ; 5 ; 2 ; 4	
		<i>Bacillaceae</i>	<i>Bacillus</i>	+	Sol et eau	6 ; 5 ; 2	
		Actinobactéries	<i>Micrococcaceae</i>	<i>Micrococcus</i>	+++	Microbiote de l'animal, eau, et sol	6 ; 5 ; 2
	<i>Kocuria</i>			+	Microbiote de l'animal et urine	7 ; 2 ; 3	
<i>Arthrobacter</i>	+			Sol, eau et air	8 ; 2 ; 3		

En 2018, Yang *et al.* ont réalisé le séquençage haut débit des communautés bactériennes présent dans des steaks de bœuf conditionnés sous deux atmosphères modifiées couramment utilisées pour la viande rouge (une avec 80 % d'O<sub>2</sub> et 20 % de CO<sub>2</sub> et l'autre avec 70 % d'N<sub>2</sub>, et 30 % de CO<sub>2</sub>). L'utilisation de techniques de biologie moléculaire et non de microbiologie leur a permis d'identifier un plus grand nombre de genres différents et de déterminer l'évolution des populations sur 20 jours. Ils ont remarqué une majorité de bactéries Gram – au début du

stockage et une majorité de Gram + après incubation à 2 °C sur plusieurs jours. En présence d'oxygène, les *Pseudomonas* et *Brochothrix thermosphacta* sont grandement majoritaires. A contrario, sous une atmosphère composée d'azote, les bactéries se développant à la surface de la viande sont surtout des bactéries lactiques (LAB) et parmi elle, *Lactococcus*. Il y a plusieurs populations successives au cours du stockage ; certains genres dominants comme les *Acinetobacter* se voient être remplacés par d'autres comme les *Pseudomonas* ou les *Brochothrix*. La diversité bactérienne est considérablement réduite entre le moment du conditionnement et la fin du stockage au froid avec une sélection des organismes psychrophiles\* (Zagorec and Champomier-Vergès, 2017 ; Yang *et al.*, 2018). La quantité de microorganismes présents sur un morceau de viande une fois découpé est évaluée de  $1,0 \times 10^2$  à  $1,0 \times 10^5$  unités formant des colonies par centimètre carré (UFC/cm<sup>2</sup>) (García-López *et al.*, 1998). Parmi celles-ci, seules 10 % arrivent à initier une croissance entre -1,5 °C et 4 °C (Borch *et al.*, 1996). Les premiers signes de détérioration de la viande apparaissent généralement à une quantité de microorganismes de  $1,0 \times 10^7$  UFC/cm<sup>2</sup> (García-López *et al.*, 1998).

### 4.3.2 Bactéries et changements de couleurs

#### 4.3.2.1 De rouge à marron/vert

La quantité de bactéries peut avoir un rôle dans le changement de couleur de la viande. Une forte charge bactérienne dès le début de la conservation peut induire une accélération du développement de MetMb. En effet, la présence de nombreuses bactéries aérobies diminue la pression partielle en O<sub>2</sub> au niveau de la surface de la viande ce qui permet une oxydation plus rapide de l'OxyMb en MetMb (Robach and Costilow, 1961). En 1998, Chan *et al.*, ont montré que *Pseudomonas fluorescens* était capable, in vitro, d'augmenter la production de MetMb par sa consommation en oxygène (figure 32). Les bactéries anaérobies n'interviennent en principe pas dans la décoloration (Arihara *et al.*, 1993). D'autres bactéries peuvent modifier les formes de la myoglobine de la viande et donc influencer la couleur. Le sulfure d'hydrogène (H<sub>2</sub>S) produit par des LAB peut former de la sulfomyoglobine (SulfoMb), un pigment verdâtre, à partir d'OxyMb (figure 32). De même, les LAB peuvent produire du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) transformant l'OxyMb en cholémyoglobine (CholeMb) de couleur verte (Borch *et al.*, 1996 ; Zagorec and Champomier-Vergès, 2017).

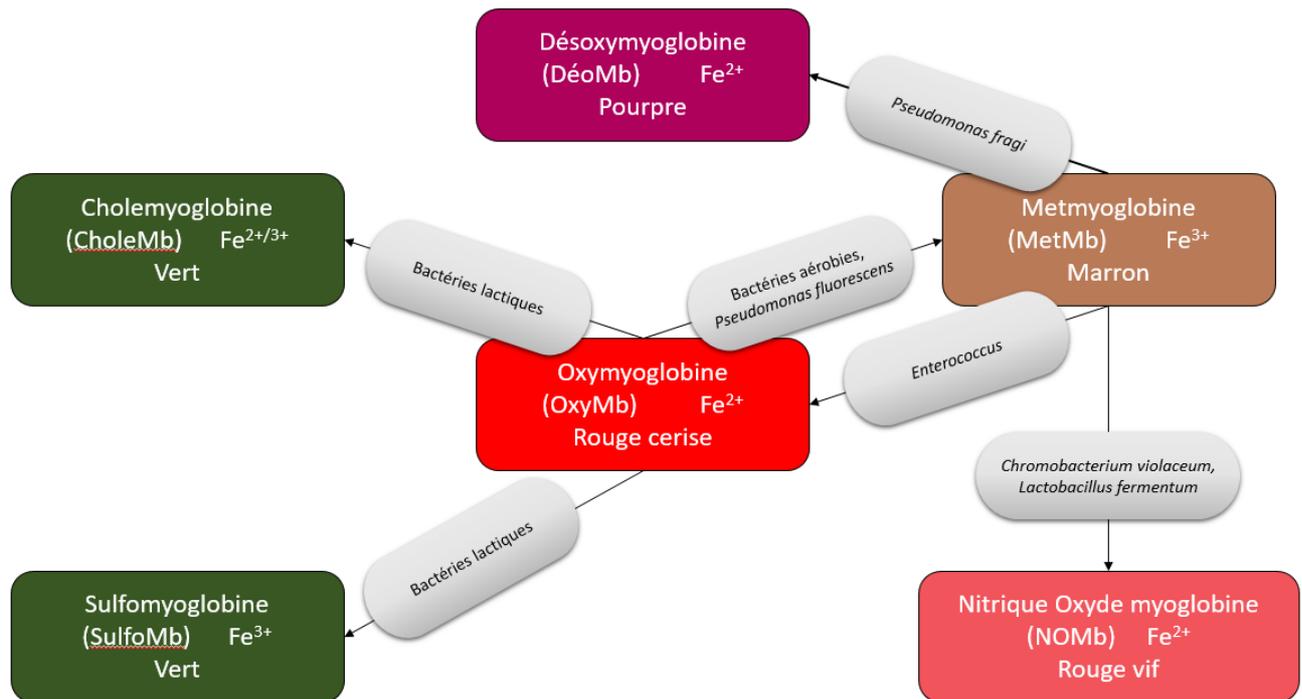


Figure 32 : Transformation visible des formes redox de la myoglobine à la surface de la viande en présence de certains microorganismes (adapté de Arihara et al., 1993 ; Borch et al., 1996 ; Chan et al., 1998 ; Motoyama et al., 2010 ; Zagorec and Champomier-Vergès, 2017).

#### 4.3.2.2 De marron à rouge

En 2010, Motoyama *et al.* ont montré l'existence de certains *Enterococcus* capables de réduire la MetMb en OxyMb in vitro permettant un retour à la couleur rouge (figure 32). Ils ont montré que dans un bouillon de culture enrichi en myoglobine etensemencé avec *Pseudomonas fragi* à  $1,0 \times 10^7$  UFC/mL, la MetMb faisait rapidement place à la DéoMb (figure 32). En effet, *Pseudomonas fragi* est capable de produire des biofilms empêchant le passage de l'air et donc l'oxygénation de la myoglobine. Arihara *et al.* (1993) ont trouvé deux souches environnementales identifiées comme *Kurthia sp.* et *Chromobacterium violaceum* pouvant changer la MetMb d'un milieu de culture riche contenant de la myoglobine en un dérivé rouge vif. *Kurthia sp.* réduit la MetMb sans produire de composé particulier. *C. violaceum* génère du monoxyde d'azote permettant ainsi la formation de Nitrique Oxyde Myoglobine (NOMb) à partir de MetMb (figure 32). Certains lactobacilles dont *Lactobacillus fermentum* peuvent également produire du monoxyde d'azote à partir de nitrite, maintenant le rouge de la viande avec de la NOMb (Arihara *et al.*, 1993).

## 5. Modélisation et prédiction des virements de couleurs de la viande rouge fraîche

Les virements de couleurs sont des phénomènes complexes dont les mécanismes ne sont pas encore tous bien connus. De plus, un certain nombre de facteurs peuvent influencer positivement ou négativement la couleur de la viande. Quelques études ont alors été menées afin de pouvoir modéliser et prédire le devenir de la viande. Une étude de Tofteskov *et al.* (2017) a mis en avant la nécessité d'une meilleure compréhension des processus physiques et chimiques, en particulier la diffusion de l'oxygène et sa réaction avec la myoglobine dans les viande sous atmosphère modifiée (MAP). Les processus ont été modélisés à l'aide d'équations de réaction-diffusion. Les réactions comme la liaison de l'oxygène à la myoglobine, l'oxydation de la myoglobine et d'autres processus consommant de l'oxygène ont été pris en compte. Les paramètres du modèle ont été extrapolés à l'aide de données de la littérature aux températures et aux valeurs de pH pertinentes. Une concordance a été obtenue avec les données de concentration de pigment, mais uniquement en augmentant sensiblement la valeur du taux de consommation d'oxygène. L'application du modèle à de la viande stockée à 5 °C montre que la couche de MetMb se forme sous la surface sur une période de 24 heures. La couche de MetMb se forme plus profondément à l'intérieur de la viande, proportionnellement au logarithme de la pression partielle d'oxygène, améliorant ainsi l'aspect de la couleur de la viande. Quevedo *et al.* (2013) ont montré qu'il était possible de modéliser les changements d'intensité de la couleur rouge de la viande. Pour cela, des valeurs de  $a^*$  moyennées sur la surface de la viande ont été utilisées. Pour le modèle, des valeurs de cinétique de vitesse et de facteur de forme (ordre empirique) ont été calculées à partir de données ajustées au modèle de loi de puissance ( $y = ax^k$ ). Les résultats montrent que l'intensité de la couleur rouge augmente pendant une courte période (de 0 à 0,2 jour), puis diminue jusqu'à 2,2 jours de stockage, ce qui indique que la décoloration des échantillons commence après 0,2 jour de stockage à 5 °C ( $\pm 1$  °C) et 85 % d'humidité relative (figure 37).

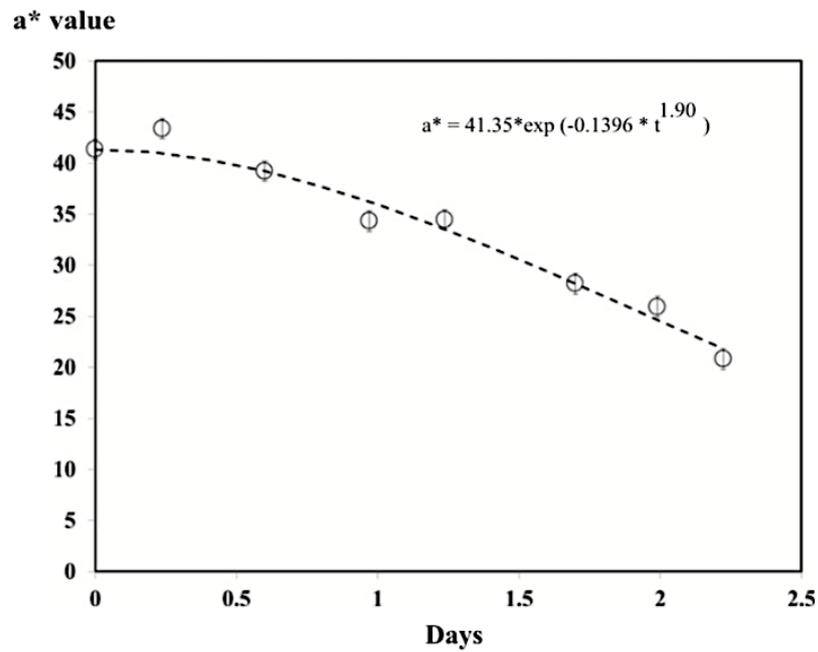


Figure 33 : Changement de l'intensité de la couleur rouge, en utilisant la moyenne des valeurs a\* sur la surface de l'image (Quevedo *et al.*, 2013).

D'autres travaux portent sur la modélisation et la prédiction de la couleur de filets de viande de dinde (Santé *et al.*, 1996) ou encore sur la prédiction des caractéristiques de la carcasse et de la qualité de la viande de bœuf (Soulata *et al.*, 2018). Cependant, peu d'études ont été réalisées sur la modélisation et la prédiction de la couleur de la viande rouge fraîche de bœuf.

## **Chapitre II – Matériels et méthodes**

# 1. Préparation des échantillons de jus et de viandes

## 1.1 Origine de la viande

La viande provient d'un fournisseur de l'ADIV qui est l'établissement Puigrenier Abattoir Bovin situé à Montluçon (03) en Auvergne-Rhône-Alpes. La viande commandée est récupérée sur demande après abattage et respecte toujours le même protocole : une première étape d'abattage de l'animal en jour 0, une seconde étape de refroidissement de la carcasse en jour 1 et enfin l'étape de découpe et conditionnement en jour 2. Afin de limiter l'impact des facteurs pré-abattages, nous avons décidé d'utiliser pour toutes les expérimentations le muscle entrecôte d'un jeune bovin charolais français qui a été préalablement semi-paré, conditionné sous vide et étiqueté (annexe 13). Après réception, la viande est stockée au réfrigérateur à  $(4 \pm 2)$  °C. Le muscle entrecôte a été sélectionné car il est accessible lors de la découpe de la carcasse en quartier avant et quartier arrière (pièce bouchère 3-4 de la figure 11). Des mesures de couleurs ou physicochimiques peuvent donc facilement être réalisées.

## 1.2 Préparation des jus de viande

Le protocole de préparation des jus de viande est issu de l'étude de Kim *et al.* (2015) et a été schématisé en figure 34. Après réception, les muscles ont été déconditionnés et découpés soit en muscles d'environ 4 kg (dépend du poids du muscle reçu), soit découpés en morceaux de 3 cm d'épaisseur avec un poids d'environ 80 g. Les muscles ou morceaux nouvellement obtenus ont été conditionnés dans des sacs de conservation en Polyamide/Polyéthylène (PA/PE) imperméables aux gaz (3 soudures, 200x300 mm, Sovapack, France). Les sacs ont été fermés hermétiquement soit sous demi-vide (500 mbar) soit sous vide avec une machine à double cloche (Multivac, France) pour conditionnement en sacs (annexe 14). Ensuite, les échantillons ont été congelés à  $(-20 \pm 2)$  °C pendant 24 heures puis décongelés à  $(4 \pm 2)$  °C pendant 72 à 96 heures en fonction de la taille des échantillons. Les jus obtenus après congélation et décongélation des échantillons ont été récupérés de façon stérile sous un poste de sécurité microbiologique (PSM). Les jus récupérés ont subi ou non différentes étapes préparatoires en fonction des objectifs de l'étude :

- centrifugation à 4 °C à 10 000 g pendant 5 min ;
- filtration à travers un filtre de diamètre de pores de 0,22 µm ;
- dilution en fonction du volume et du taux souhaités ;
- utilisation d'eau milliQ ou d'eau physiologique pour la dilution.

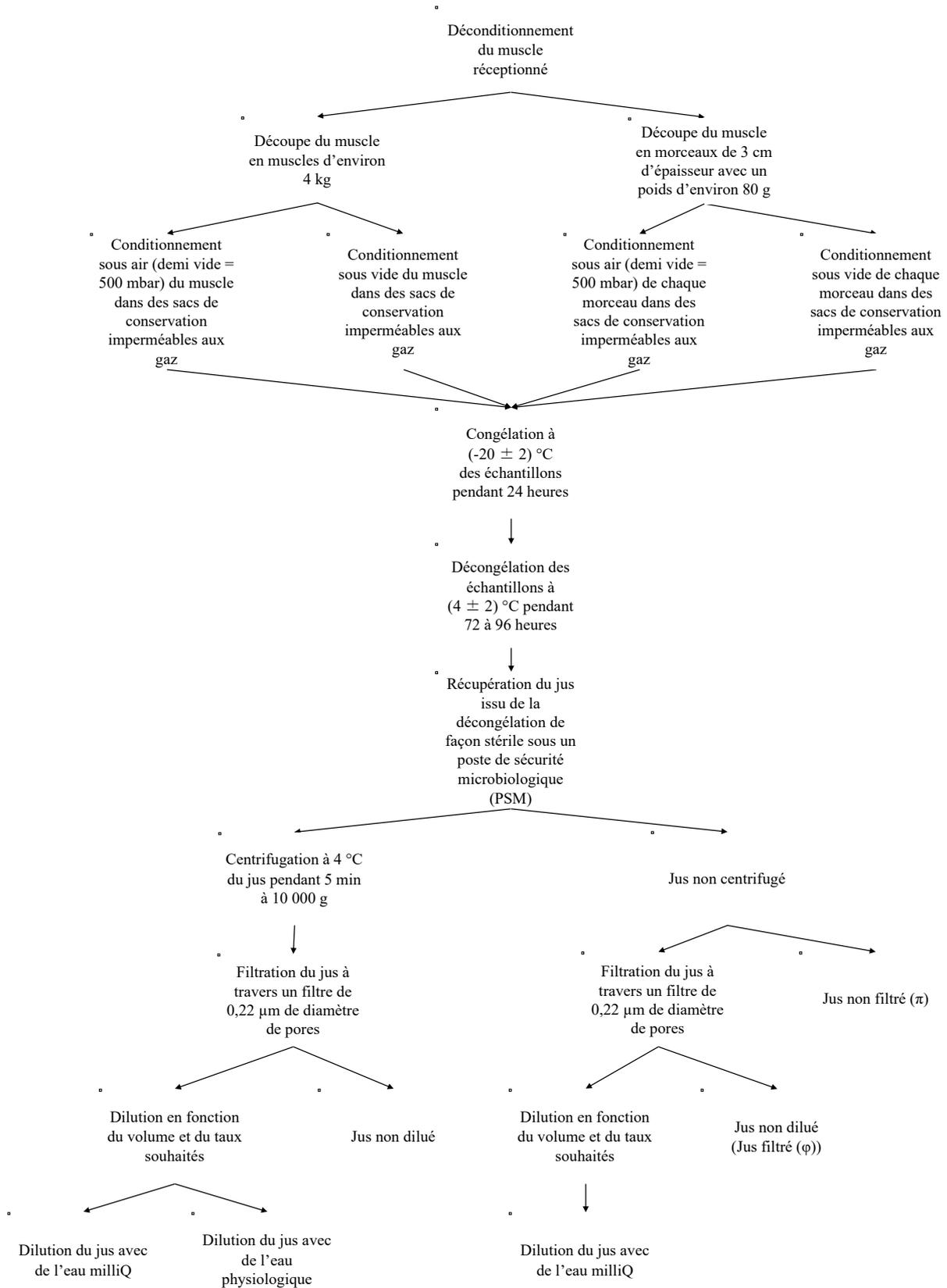


Figure 34 : Schéma du protocole de préparation des différents jus de viande.

### 1.3 Décontamination de la viande

Pour certaines expériences, la viande est décontaminée selon le protocole suivant : immersion pendant 3 minutes dans un litre d'acide peracétique (mon-drogiste.com, France) à 0,5 % suivi de 2 rinçages successifs dans 1 litre d'eau distillée stérile pendant 1 minute. Cet ensemble d'opérations est renouvelé une fois. Des planches à découper et des couteaux nécessaires à la découpe sont préalablement autoclavés à 120 °C pendant 20 min puis placées sous PSM. La viande est ensuite parée sous PSM : une épaisseur de 2 cm est éliminée pour éviter tout résidu d'acide peracétique susceptible de gêner le virement de couleur et/ou la croissance des micro-organismes inoculés.

### 1.4 Préparation des viandes en barquettes

Après réception des muscles conditionnés sous vide, ces derniers peuvent être utilisés tel quels ou alors décontaminés. Ensuite, ils sont découpés en tranches d'environ 2 à 3 cm d'épaisseur pour un poids de 350 à 400 g. Les tranches sont ensuite déposées dans des barquettes scellables en PS/EVOH/PE (Form'plast, France). Enfin, les tranches sont mises sous atmosphère modifiée grâce à une operculeuse semi-automatique T200 (Multivac, France). Pour operculer les barquettes, du film OPP/T504 (Soussanna, France) a été utilisé. L'operculeuse est représentée en annexe 15.

## 2. Développement et instrumentation des prototypes

### 2.1 Instrumentation de l'enceinte climatique

Afin de reproduire les conditions d'une étuve de stockage industrielle pour la viande, une enceinte climatique (Binder KMF 240, VWR, France) a été utilisée. Le cahier des charges des conditions de stockage était une température comprise entre 2 et 20 °C et une humidité relative comprise entre 95 et 99 %. Afin d'éclairer la viande et de suivre les virements de couleurs à l'intérieur de l'enceinte climatique, deux réglettes avec des tubes fluorescents (T5, couleur blanc froid, 27,7 cm, 6 W, Bastera, France) espacées de 30 cm ont été installées. L'éclairage délivre environ 360 lux sur les échantillons (Luxmètre dual-display traceable, VWR Collection, France). De plus, une balance plateforme (Kern SXS-6K-3M, Timber Production, France) a été utilisée in situ pour suivre le poids au cours du temps pour s'assurer que les échantillons ne séchaient pas durant l'expérience (figure 35).

□



□

□

□\*ÉG□ □□□hbq\*h-qb-\*Tj-<sup>\*</sup>BÉq\*<sup>h</sup>I-<sup>C</sup>ÉTqh-7qj<sup>†</sup> qb□□ (q IC7x-q-qIj<sup>†</sup> qb=ÉS<sup>q</sup>l<sup>é</sup>-Éc<sup>q</sup>l<sup>b</sup>q<sup>h</sup>-I<sup>q</sup> -□  
 □□ ÉhqSj- jhb qE-j-qécCT q□□

□

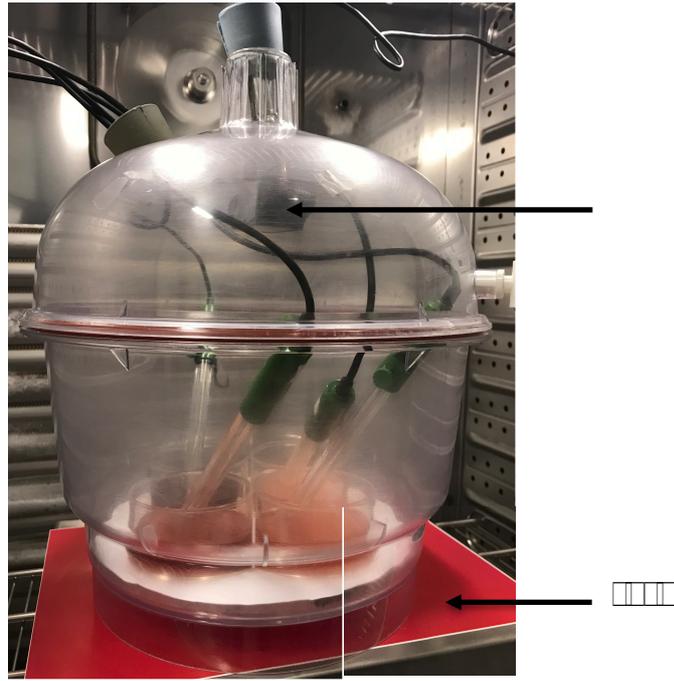
□□□□□Y p p ARA ) YIR( B ( URIdp) UR(I) YIR( FVRP RM( UR(C, ) IR) Y□  
 RpIRA□ □

□

1 RDUF.MQC.D□MR(PS pLm)ER R( M2)S M(CD)2m(LRDL(m □C( RmINRDMrd □R(PS pDpntE□  
 NRURC( RUNS n(F)R□. □pH(f(hpRmL(LUF.D(B)C(pf)E □LV(REF)R NRDLU2m( CNF.D □MR)D□R□  
 DULR( □.R Uhs Lm□ f0QR2□□ p□ 1 f0QR2□r EmUR□mL(LCD(mNRMRmf. □VR(ChNR□  
 ç□ US R VCF. □m) MRD)DMRLU2m( CNF.D □.R S CRH)OR m(LpNRD)D NRpH(f(hpRn6C□  
 MRUFKORE NRp fD)NRDMEV(□C.D □MRnUhs LmM)D)m) b □VrH(□C.D □MRnNS QRMRd□  
 NRURC( RUNS n(F)R□60)ER□ □□

□

□



□\*ÉG□ □□ C-c-: Eq\*hl-CÉTqh-7EcÉCqI7bpj h\*-chl(q )ÉI(q □\*jh(q j' qb□□ ÉhqbjT 7G□  
q-□□ Éhq T \*GcÉxq□

□

□□□□Y p p ARA, ) YIR( É ) ( URIdp) UR(I) YIR( FVRP RM( UR(C, ) IR) Y□  
RpIDP VCY OYL NR□

□

□6□MRf.D REVENRDL2m( CNf.D MR) D(f( RNm)ER(M)DCVC). □pH( f(hpRfRpLHS R( nNn□  
L(LMMVRfppL□60)ER□ □b . □HLpR( R□VRER6RES LMe□If)U 2f. □MRU)NERpRES R(m( NR□  
LL2m0 RD0n&R)b mll(L)(CCL□ R)b Df.MRDMIS RD)ERDM)pe ' R(M)pv nCDCF)R(M)R Um.R □  
MRpHL9VIS R( f.( l(Lnaf)( LR□R(RMRC9ERmpRES CMRELnCREMRpHL9VIS R( D(f)D NR□  
-f)EDm)S fhR. □MRREC0)R DD(LCRD□RMpfdC(6mL(LS CMnd)).R U2nS IER6FCMR;□□□R(□  
D)D LUNCh0RpRES mR.( pf)E S CS RENRDUf.MCC.D MRofUA10RMRSV6MRR□S n0mDC R(f)□  
Rm Im(fCE□

□

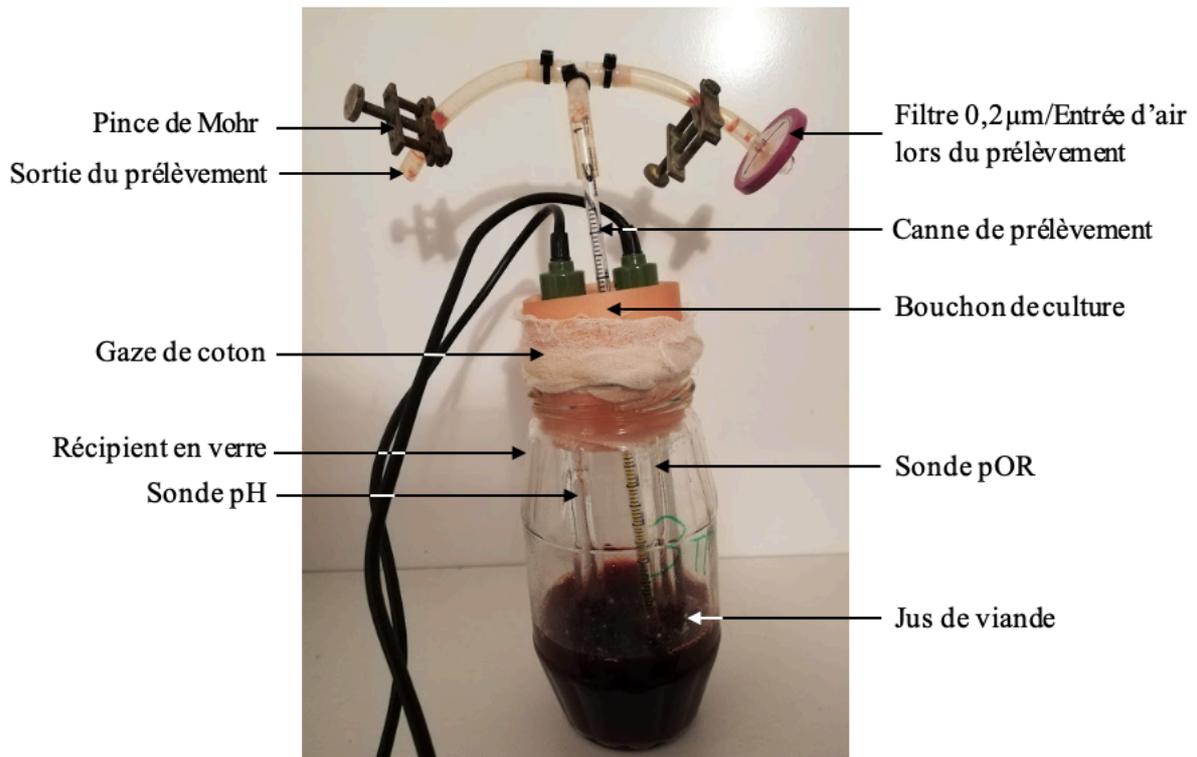
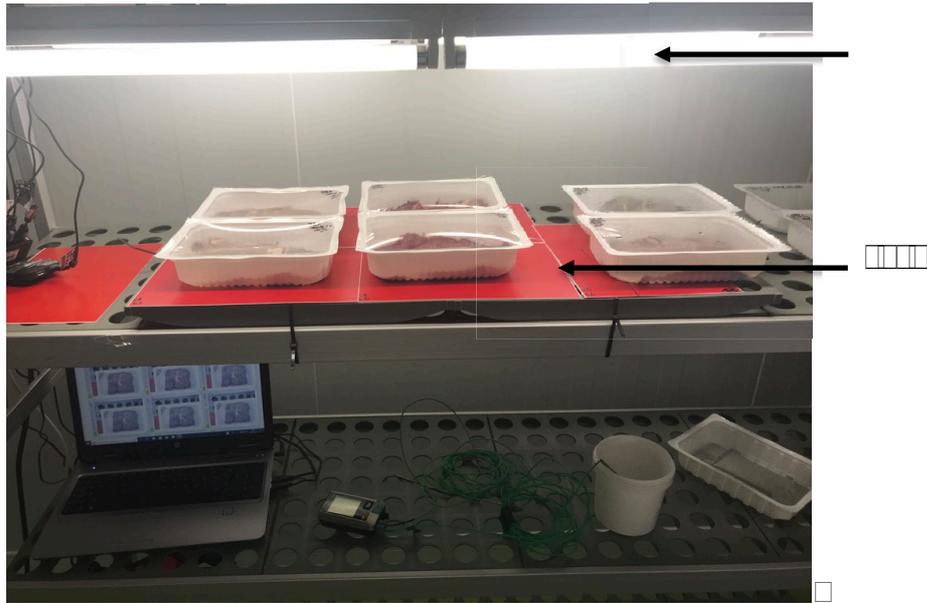


Figure 37: Prototype développé en interne pour réaliser le suivi physico-chimique et microbiologique du jus de viande.

## 2.4 Dispositif pour l'étude de la prédiction du virement de couleur dans la viande rouge

Un dispositif a été mis en place à l'ADIV afin de pouvoir suivre les virements de couleurs de la viande rouge. Dans une étuve (Dagard, France) alimentée par un groupe froid (Arcos, France), des réglettes avec des tubes fluorescents (T8, couleur blanc froid, 60 cm, 18 W, Sylvania, France) ont été fixés de part et d'autres du dispositif avec une distance de 45 cm entre chaque réglette. De plus, ils ont été placés à 30 cm au-dessus des barquettes de viande tout comme les caméras (Logitech C270 720p, Logitech, France). Une mire rouge a aussi été utilisée afin de corriger les possibles dérivations de la caméra dues aux variations de la lumière et/ou de température dans l'étuve. L'éclairage au niveau de cette installation délivre environ 1700 lux sur les échantillons de viande. Le dispositif est représenté en figure 38.



□

□\*ÉG□ □□□\*Ecl\*é\*hl-CÉTqh-7EcÉCjT qIÉG(q Éjb cÉ-qÉCq Éj□ \*jh(q ,□ w□ d□  
\*hl-CÉTqh-7j□ 'qb□□ (q IC7x-q-qlj□ qb-ÉSqIé-ÉcGlbqh-Iq-□□ (q IT \*CICcÉxqI□

□

□□□□□eFRL, AARP RM□Ud) MR□(, MUR□Ud, 1. U, YU) GpVM□A, ) YIR□□  
P VVR) 1 (IRP V(, IXR□□

□□□□□gInl Ianbē4gT: egÉRe AsIagl □□

l Rpf(R (CNMfbhMfHM)(C.□f)□pf(R (CNRMfbf)□pe ' □RD□)R □EmMRÉ(2RES fMh.nS C)R□  
F)CCME)RNE(nfbhMn( f)□HM)(R)EM□.R □DID(mUR□ Rpf(R (CNRMfbDRS RDERR□VnD□  
c □□l fbhMn(C.□UEERDf.M□ç)□.R □PRRMRUR(H.□R□MfHM)(C.□ç)□.□OnC□MbnR(H.□ 1 R□  
pf(R (CNMfbhMfHM)(C.□pRES R□MRUhm(LECRNDp FpEC(LDfbhMfHM)(ECRDM)□eS CQR)□  
ICf p2hDU2S C)R□□nDf.m .M□R□ f.C.UA□ □□  
nf)E nS RDERM)pf(R (CNMfbhMfHM)(C.□M)□LNRU(HMRD)E.( □LURD□nCRD).R □LNRU(HMR□  
MREmCR)□.R □LNRU(HMRMREL6LRUR□□

□

□□□□□gl CÉAsIagl □enr Cgl enē4gT: egÉRe AsIagl □

l mD.MRMfbhMfHM)(C.□RD(US pfdLRMRM)□LNRU(HMRDMREmVnCMR□S S □MRMKS 9(R□  
Mf( n□.R □RD(□f.D(C)LRM)□R (ORMP□N(CR□□ □□ MR)ER(L□G) Ép)ER□2RS R(mD□â (nD□  
o .CD□R(Na) (RM)□R (ORMRREfbhML□2nF)R(CORR□HRCR□pnmEMRUzINRDLNRU(HF)RDn6C □MR□  
HU)pLRENRD□□.m)□LNRU(HF)RD□(R.DC.D □S RDELRD□n)□.CV□R)□MR□eEM□G(R)E□NR(f) (□RD□  
S f)NL(MnD)□.RELD□R□□ mDf.MRRD(ERpHJR.(LRD)ENh6C)ER□□ □□

□

□

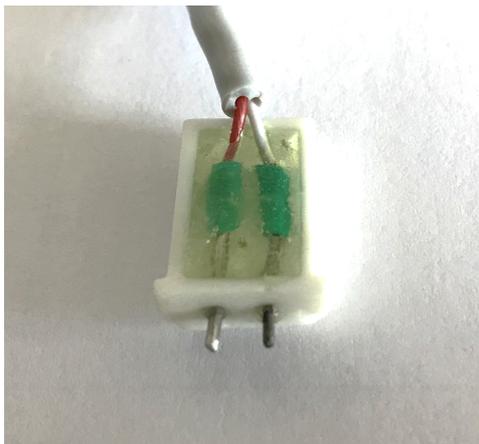


Figure 39 : Sonde d'oxydoréduction fabriquée avec deux électrodes de travail de 1 mm de diamètre, constituées d'une tige de platine (à gauche) et d'une tige de fer oxydé (à droite).

### 3. Suivi et mesures physico-chimiques des échantillons

#### 3.1 Suivi de la couleur des échantillons

Grâce aux caméras connectées à un ordinateur, des images des échantillons (jus et viandes) ont été prises automatiquement chaque 15 minutes par un logiciel d'acquisition développé en interne en utilisant LabVIEW 2018 et le module Vision Development de National Instruments Corporation (France). Ces images au format bmp ont été sauvegardées sur ordinateur avant d'être traitées.

#### 3.2 Mesure du pH et du pOR

Pour les jus de viande, des sondes pH (HI11310, HANNA Instruments, France) et des sondes pOR (HI36180, HANNA Instruments, France) ont été utilisées. Les mesures ont été effectuées et enregistrées automatiquement toutes les 15 minutes grâce à des tablettes (pH-/mV-mètre Edge HI2002-02, HANNA Instruments, France). Pour la viande, les sondes développées en interne ont été utilisées. Les données ont été mesurées et enregistrées grâce à notre logiciel développé en interne. Les sondes pour milieux liquides et milieux semi-solides ont été stérilisées avec de l'alcool à 70° avant d'être utilisées.

#### 3.3 Spectroscopie UV-visible

Un spectrophotomètre UV-Visible (Cary 50 Scan UV-Visible, France) a été utilisé selon la méthode de Li *et al.* (2016) afin de mesurer les spectres d'absorption des différentes formes

redox de la myoglobine (DéosyMb, OxyMb et MetMb) dans du jus de viande. Une plage de balayage de longueur d'onde allant de 700 à 400 nm à une vitesse de 600 nm/min avec un pas de 1 nm a été appliquée.

### 3.4 Suivi des communautés microbiennes

#### 3.4.1 Par microbiologie

Afin de réaliser un suivi de la croissance bactérienne, l'absorbance à 600 nm de chaque prélèvement dilué au 5<sup>ème</sup> dans de l'eau physiologique est mesurée à l'aide d'un spectroscope UV-Visible (Biomate 3S, France). En parallèle, des dénombrements en gélose profonde dans du milieu riche non sélectif Tryptone Soja Agar (Merck, France) ont été effectués à partir des prélèvements. Ceux-ci ont été dilués en cascade au dixième jusqu'à 8 fois dans de l'eau physiologique stérile (triplica pour chaque dilution). 0,1 mL de chaque dilution a étéensemencé par boîte en duplica. Les boîtes ainsi obtenues ont été incubées 3 jours (norme AFNOR V08-051, décembre 1992) à 37 °C puis dénombrées.

#### 3.4.2 Par biologie moléculaire

L'évolution de la quantité de bactéries du jus a été étudiée à l'aide de réactions quantitatives de polymérase en chaîne en temps réel (qPCR).

##### 3.4.2.1 Extraction d'ADN

L'extraction d'acide désoxyribonucléique (ADN) a été effectuée à partir de 500 µL de jus, à l'aide du kit GenElute Bacterial Genome DNA (Sigma-Aldrich, France). Afin de vérifier l'absence de biais dans l'extraction et le dépôt, trois extractions du même échantillon ont été effectuées puis chaque extraction a été amplifiée en triplica par qPCR. Cette expérimentation a été réalisée sur trois échantillons différents.

##### 3.4.2.2 Validation des amorces

Les couples d'amorces utilisées (tableau 8) ont été choisis selon la littérature et fournis par Eurogentec (France). Pour déterminer les températures d'hybridation des différents couples,

des réactions de polymérase en chaîne (PCR) ont été réalisées avec un Thermocycle T100 (BIO-RAD, France) sur de l'ADN cible. Le mix PCR utilisé était le 2X Goldstar Red Master Mix (Eurogentec, France). Les tubes de PCR contenaient chacun 22 µL de mix (contenant Taq\* polymérase, désoxyribonucléides, MgCl<sub>2</sub>, et tampon coloré), 1 µL de chaque amorces du couple, et 1 µL de l'ADN cible dilué au 5ème. Le programme de PCR a consisté en 2 minutes à 94 °C puis 1 minute à la température d'hybridation, suivis de 30 cycles alternant 1 minute à 72 °C, 40 secondes à 94 °C et température d'hybridation pendant 40 secondes. Enfin, après 5 minutes à 72 °C, l'amplification a été maintenue à 16 °C jusqu'à arrêt (figure 40).

Les amorces ciblant la flore totale, les gammaprotéobactéries, et les entérobactéries ont été testées avec de l'ADN d'*Escherichia coli*. De l'ADN de *Lactobacillus bulgaricus* a été utilisé pour celles spécifiques des bactéries lactiques. *Pseudomonas rhodesiae* a été utilisée pour les amorces ciblant les *Pseudomonas* de même qu'*Acinetobacter baylyi* l'a été pour celles des *Acinetobacter*. Les amorces spécifiques des actinobactéries ont été testées avec de l'ADN de *Bifidobacterium breve* et de l'ADN de *Brochothrix thermosphacta* a été utilisé avec les amorces ciblant les organismes du même nom. Les résultats des PCR sont été observés par migration sur gel d'agarose 1% à 75 V durant une demie heure dans une cuve d'électrophorèse RunOne (EmbiTec, France) et révélation sous UV.

La présence ou l'absence de croisement entre amorces a été aussi vérifiée : les amorces spécifiques des entérobactéries s'hybrident sur l'ADN de *Pseudomonas rhodesiae* et celles spécifiques des bactéries lactiques s'hybrident sur *Brochothrix thermosphacta*. Il a été nécessaire de prendre en compte ces interférences lors de la quantification par PCR quantitative (qPCR).

Tableau 8 : Récapitulatif des amorces utilisées et de leur cible. Entre parenthèses se trouve le microorganisme représentant du groupe recherché utilisé pour les tests et les étalons (Th : température d'hybridation, pb : paires de bases, ND : Non déterminée).

Nom	Cible	Th	Séquences	Taille amplicon*	Références
FTot	Bactéries totales	56 °C	5' GCA-GGC-CTA-ACA-CAT-GCA-AGT-C 3'	317 pb	Castillo <i>et al.</i> , 2006
RTot	( <i>Escherichia coli</i> )		5' CTG-CTG-CCT-CCC-GTA-GGA-GT 3'		
Gamma395f	Gammaprotéobactéries	54 °C	5' CMA-TGC-CGC-GTG-TGT-GAA 3'	497 pb	Pfeiffer <i>et al.</i> , 2014
Gamma871r	( <i>Escherichia coli</i> )		5' ACT-CCC-CAG-GCG-GTC-DAC-TTA 3'		
F-Lac	Bactéries lactiques	58 °C	5' GCA-GCA-GTA-GGG-AAT-CTT-CCA 3'	348 pb	Castillo <i>et al.</i> , 2006
R-Lac	( <i>Lactobacillus bulgaricus</i> )		5' GCA-TTY-CAC-CGC-TAC-ACA-TG 3'		
F-Ent	Entérobactéries	58 °C	5' ATG-GCT-GTC-GTC-AGC-TCG-T 3'	385 pb	Castillo <i>et al.</i> , 2006
R-Ent	( <i>Escherichia coli</i> )		5' CCT-ACT-TCT-TTT-GCA-ACC-CAC-TC 3'		
Psf	Pseudomonas	58 °C	5' GGT-CTG-AGA-GGA-TGA-TCA-GT 3'	988 pb	Chen <i>et al.</i> , 2017
Psr	( <i>Pseudomonas rhodesiae</i> )		5' TTA-GCT-CCA-CCT-CGC-GGC 3'		
Bcr3f	<i>Brochothrix</i>	56 °C	5' CTC-CTC-TTC-TGT-CCT-CAA-G 3'	121 pb	Pennachia <i>et al.</i> , 2009
Bcr3r	<i>thermosphacta</i> ( <i>Brochothrix thermosphacta</i> )		5' GTT-GTC-CGG-AAT-TAT-TGG-G 3'		
Ac696F	Acinetobacter	52 °C	5' TAY-CGY-AAA-GAY-TTG-AAA-GAA 3'	858 pb	La Scola <i>et al.</i> , 2006
Ac1598R	( <i>Acinetobacter baylyi</i> )		5' CGB-GCR-TGC-ATY-TTG-TCR-T 3'		
Acti1154F	Actinobactéries	56 °C	5' GAD-ACY-GCC-GGG-GTY-AAC-T 3'	203 pb	Thijs <i>et al.</i> , 2017
Acti1339R	( <i>Bifidobacterium breve</i> )		5' TCW-GCG-ATT-ACT-AGC-GAC 3'		

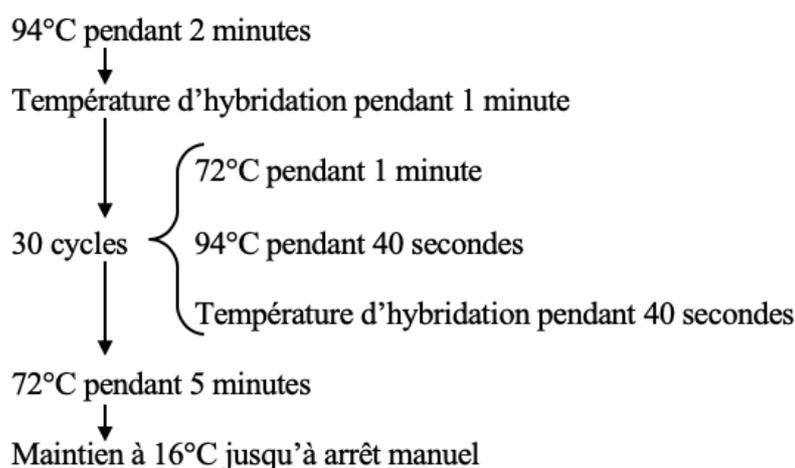


Figure 40 : Programme de PCR suivi pour la validation des amorces.

## 3.4.2.3 Identification et quantification des microorganismes par qPCR

Pour mesurer la quantité d'ADN bactérien présent par qPCR, un étalon a été nécessaire. Il se compose de l'ADN avec lequel a été testé un couple d'amorces. Cet ADN a été dosé avec une cellule Nanodrop (Jasco, France) couplée à un spectrophotomètre V-730 (Jasco, France). Il a ensuite été dilué en cascade au dixième 7 fois. L'ADN extrait des différents échantillons de jus non filtré ainsi que celui issu du temps Tinitial et du temps Tfinal des jus non filtrés ont été amplifiés par qPCR. Le mix qPCR utilisé a été le Takyon ROX SYBR MasterMix blue désoxythymidine triphosphate (dTTP) (Eurogentec, France). Dans chaque puits ont été déposés 10 µL de Mix (contenant Taq polymérase, MgCl<sub>2</sub>, désoxyribonucléides, SYBR® Green, et tampon coloré), 1 µL de chaque amorce du couple, 3 µL d'eau milli-Q stérile, et 5 µL d'ADN. La qPCR a été réalisée par le Real Time PCR System Eco TM (Labgène, France). Le programme utilisé se composait de 2 minutes à 50 °C et 10 minutes à 94 °C, suivi de 40 cycles. Les cycles se composaient de 40 secondes à 94 °C, 40 secondes à la température d'hybridation et 1 minute 30 à 72 °C. Enfin le programme se termine par deux phases de 15 secondes à 95 °C séparées par une phase de 15 secondes à 55 °C (figure 41). Les données des qPCR ont été analysées à l'aide du logiciel EcoStudy associé à l'appareil utilisé.

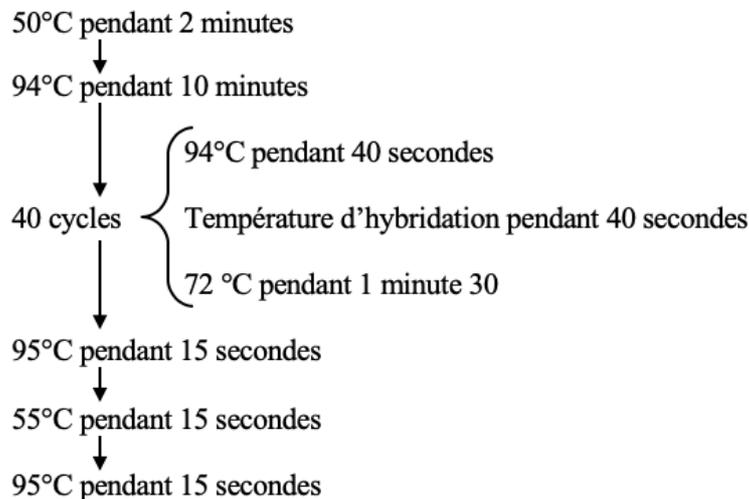


Figure 41 : Programme de qPCR suivi pour l'identification et la quantification des microorganismes.

#### 3.4.2.4 Estimation de la quantité d'ADN correspondant à une cellule bactérienne

Afin de corrélérer la quantité d'ADN au nombre de microorganismes, une culture de *Escherichia coli* a été effectuée dans un bouillon de Tryptone Soja (Merck, France) à 37 °C. Un dénombrement en Nombre le Plus Probable (NPP, norme AFNOR ISO 4831, octobre 2006) et une extraction d'ADN ont ensuite été réalisés en triplica et croisés.

## 4. Analyses de données

### 4.1 Traitement d'images

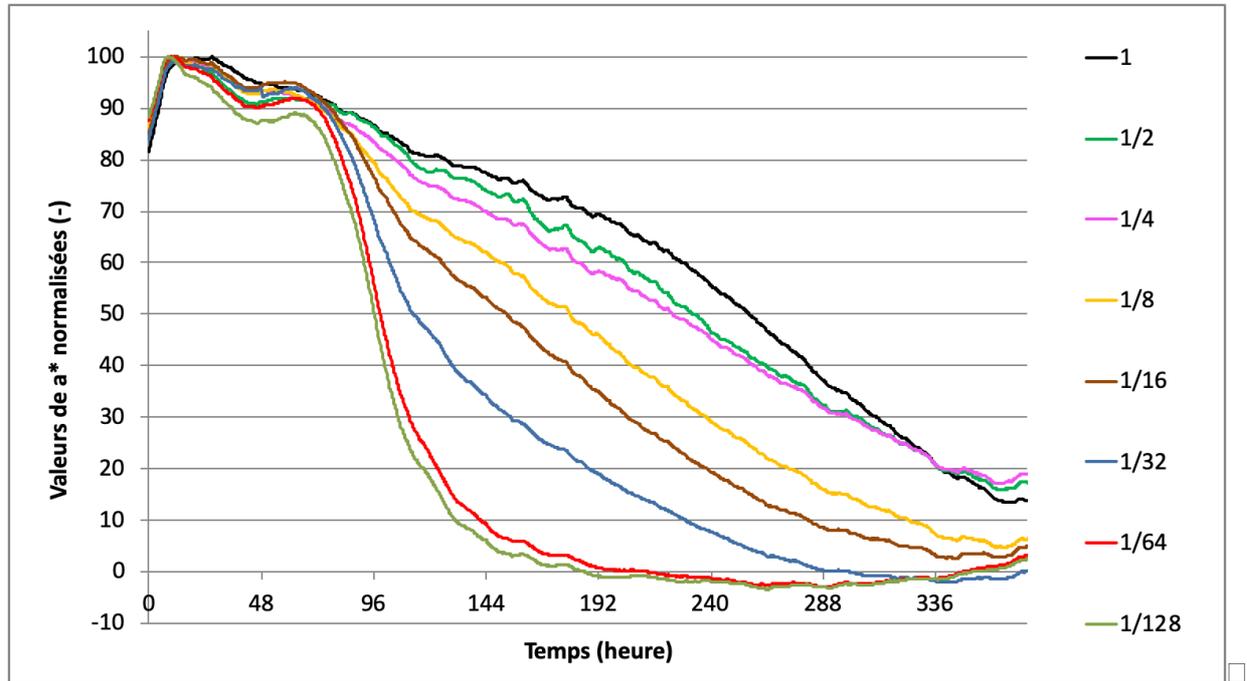
Afin de détecter les virements de couleurs, un processus de traitement d'images a été effectué pour chaque image sauvegardée. À l'aide du logiciel ImageJ (développé par National Institutes of Health, États-Unis), les valeurs de  $L^*$ ,  $a^*$  et  $b^*$  ont été calculées automatiquement sur la zone sélectionnée (utilisation de macros développées en interne). Tout d'abord, les valeurs de la mire ont été calculées afin de vérifier que la calibration de la caméra n'a pas dérivé au cours du temps. Si c'est le cas, la différence entre la valeur de mire initiale et la valeur de mire après dérivation a été soustraite ou additionnée à la valeur mesurée de l'échantillon.

### 4.2 Limite de détection des virements de couleurs de la viande

Les virements de couleur dans les échantillons de jus étant homogènes, le processus de traitements d'images précédemment expliqué a permis de détecter les virements de couleur directement à partir des courbes obtenues (cf. Chapitre II - 4.3). En revanche pour la viande, une limite de détection a dû être déterminée. En effet si les valeurs de  $a^*$  sont déterminées en prenant en compte toute la surface de la viande, le temps de virement n'est pas détectable sur la courbe (courbe de la surface divisée par 1 sur la figure 42). Pour cela, différentes tailles de surface d'échantillons de viande ont été utilisées comme zone pour la mesure des valeurs de  $a^*$ . Ces différentes surfaces ont été calculées en divisant le nombre total de pixels de la surface de l'échantillon de viande par 1, 2, 4, 16, 32, 64 et 128 (annexe 16). Les résultats représentés sur la figure 42 montrent qu'à partir de la découpe 1/64, les valeurs de  $a^*$  obtenues ne varient plus pour un même échantillon. En effet, la précision est telle que le virement est alors détectable sur la courbe de valeurs de  $a^*$ . De ce fait pour tous les échantillons de viande, une mesure des

V n R) E D M R □ m □ R ( I □ m L ( L R 6 R U ) L R D E N R D □ □ M R n D E 6 m L R ( f ( m R q □ N R M E C ( f □ N R V R S R ( □  
m L ( L f I D R E V L □ □

□



□

□ \*ÉÇ□ □ □ d j - q É Ç ( q j h c T j - \* 1 7 q I E c É Ç \* é 7 Q h - q I É Ç b q I ( q □ j h ( q T q I É Ç q I E c É Ç h □  
T % T q 7 b p j h - \* - c h □ I É Ç b q ( \* ' 1 7 q E j C □ □ □ j É b c É Ç ( É □ q T E I □ □

□

□ □ □ □ □ ep R Y P W D y M U ) p R P A ( U ) F V R P R M p U R C , ) I R ) Y □

□

a E z U R m ) b □ U ) E I R D M R V n R) E D M R m □ ). □ ( R S p D M R V R S R ( m p ) □ 4 ( R M ( R S C L □ 1 R ( R S p D M R V R S R ( □  
V R S R ( □ m L ( L U n U ) N L R □ S f h R . m . ( □ R ( R S p D M R V R S R ( □ f . D R ( □ R ( R S p D M R V R S R ( □  
S M p f C □ 6 0 ) E R □ □ □ □ 1 R ( R S p D f . D R ( U f H R D ) f . M ( m ) □ ( R S p D M R V R S R ( □ S R D E L D E N U f ) E I R □ □  
M 6 □ M ) ( R S p D M R N ( R U R □ N 0 □ R ( □ R ( R S p D M R S M p f C □ f ) □ ( R S p D m ) p f C ( □ M 6 □ R b C . □ □  
U E R D p f . M m ) □ ( R S p D M R V R S R ( □ S R D E L D E N U f ) E I R ( F ) m M N p R ( R M B n U f ) E I R ( D ) S n b S n R □  
\* □ □ m □ □ □

□

□

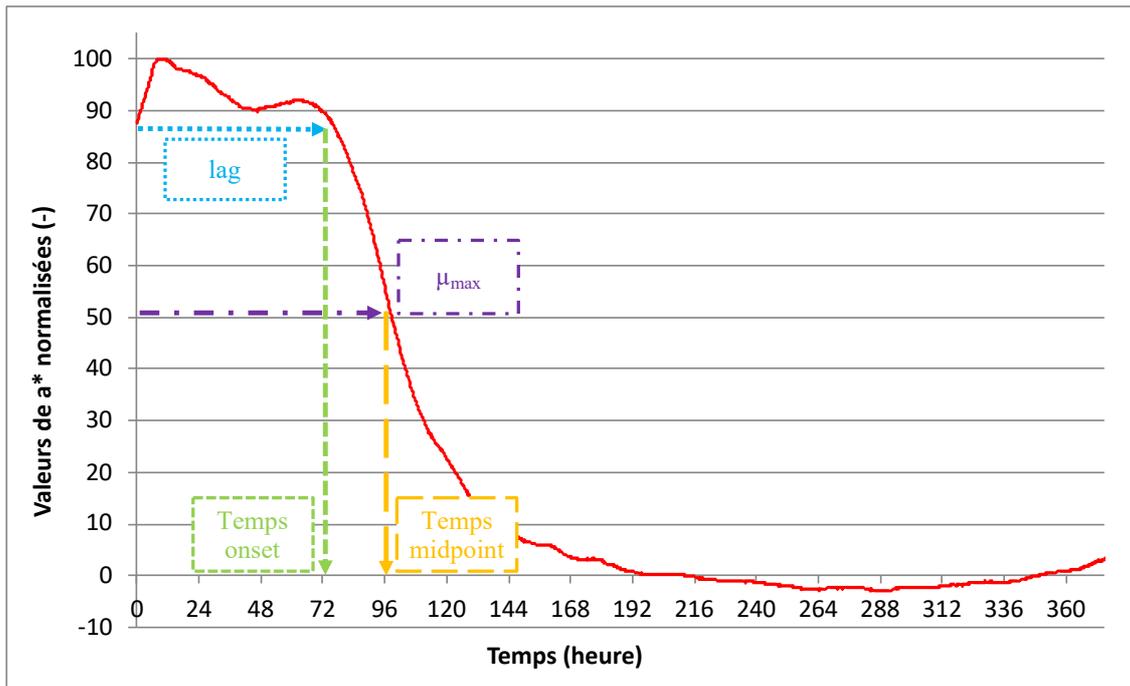


Figure 43 : Détermination du temps de virement onset et du temps de virement midpoint grâce au temps de latence (lag) et à la pente maximale ( $\mu_{max}$ ).

#### 4.4 Calcul des pourcentages des formes rédox de la myoglobine

À partir des spectres obtenus par spectroscopie UV-visible et des équations de détermination (équations 1, 2 et 3) proposées par Tang *et al.* (2004), les quantités relatives des différentes formes redox de la myoglobine présentes dans les jus ont été déterminées et corrélés aux variations de a\* et de pOR au cours du temps.

#### 4.5 Normalisation des données

Elle permet d'ajuster une série de valeurs suivant une fonction de transformation afin de les rendre comparables avec quelques points de références spécifiques. Elle s'avère nécessaire lorsque les résultats et leurs interprétations peuvent être affectés par l'incompatibilité des unités ou des échelles de mesure entre des variables. Cette méthode d'ajustement de données a été utilisée pour la comparaison des courbes de variation de l'indice de rouge (a\*) et du pOR. La fonction de transformation (équation 4) utilisée pour comparer l'indice de rouge et le pOR est :

$$f(V_i) = (V_i - V_{max}) / (V_{max} - V_{min}) \quad \text{Eq. (4)}$$

avec  $V_i$  = valeur à normaliser,  $V_{max}$  = valeur maximale,  $V_{min}$  = valeur minimale.

Cette fonction nous a permis de normaliser l'indice de rouge a\* et le pOR entre 0 et -1.

## 4.6 Plan d'expériences de Jones et Nachtsheim

Pour déterminer l'impact de différents facteurs sur les viurements de couleurs, un plan d'expériences a été mis en place. Depuis les travaux fondateurs de Sir Ronald Fischer sur les plans d'expériences (1925, 1935), de nombreuses approches ont été proposées : plans factoriels et plans factoriels fractionnaires de type  $2^{k-p}$  (Box and Hunter 1961a, 1961b), ou  $3^{k-p}$  (Box and Benhken, 1960) ou plans mixtes ainsi que les plans dits de surfaces de réponse tels que les plans composites centrés (Box and Wilson, 1951) ou les plans de Doehlert (1970). Dans le cadre de cette étude, nous souhaitons pouvoir évaluer de façon satisfaisante l'effet des facteurs simples ainsi que de leur carré et éventuellement de leurs interactions, sans qu'il y ait confusion d'effet (ou alias) comme dans la plupart des plans de la littérature. Seuls les plans de Jones et Nachtsheim (Jones and Nachtsheim, 2011) répondaient à cette exigence : leur construction implique l'indépendance entre les facteurs et les carrés des facteurs ainsi que de certaines interactions. Chaque facteur est exprimé sur 3 niveaux (-1 ; 0 ; +1). Dans le cadre de notre étude, une matrice à 4 facteurs a été sélectionnée. Les facteurs étudiés sont la pression partielle en dioxygène ( $pO_2 = 0 ; 20 ; 100 \%$  d' $O_2$ ), la température de stockage de la viande ( $Temp = 2 ; 6 ; 10 \text{ } ^\circ\text{C}$ ), le temps de maturation sous vide ( $Mat = 0 ; 7 ; 14$  jours) et l'angle de découpe du muscle en tranches ( $Angle = 0 ; 45 ; 90^\circ$ ). Une découpe à  $0^\circ$  correspond à une découpe perpendiculaire par rapport aux fibres du muscle alors que qu'une découpe à  $90^\circ$  correspond à une découpe parallèle aux fibres du muscle. Est représentée en tableau 9, la matrice en valeurs réduites et la matrice en valeurs expérimentales.

*Tableau 9 : Matrice de Jones et Nachtsheim pour quatre facteurs en valeurs réduites (à gauche) et en valeurs expérimentales (à droite) avec la pression partielle en dioxygène au sein du MAP ( $pO_2$ ), la température de stockage de la viande ( $Temp$ ), le temps de maturation sous vide du muscle ( $Mat$ ) et l'angle de découpe du muscle en tranches ( $Angle$ ).*

N° d'exp	Facteur 1	Facteur 2	Facteur 3	Facteur 4	N° d'exp	$pO_2$	Temp	Mat	Angle
1	0	+1	-1	-1	1	20	10	0	0
2	0	-1	+1	+1	2	20	2	14	90
3	-1	0	-1	+1	3	0	6	0	90
4	+1	0	+1	-1	4	100	6	14	0
5	-1	-1	0	-1	5	0	2	7	0
6	+1	+1	0	+1	6	100	10	7	90
7	-1	+1	+1	0	7	0	10	14	45
8	+1	-1	-1	0	8	100	2	0	45
9	0	0	0	0	9	20	6	7	45

## 4.7 Modélisation et tests statistiques

Un modèle de prédiction du virement de couleur de la viande en fonction du temps et des conditions expérimentales a été développé en utilisant les valeurs de  $a^*$  obtenues grâce au plan d'expériences. Le développement a nécessité trois étapes :

- une étape de recensement d'équations permettant de décrire une décroissance de type sigmoïde ou de décroissance présentant un plateau initial, une décroissance de type exponentielle, une décroissance ralentie et éventuellement un nouveau plateau ;
- une phase d'optimisation non linéaire au cours de laquelle les paramètres caractéristiques d'une équation de décroissance du paramètre  $a^*$  ont été identifiés ;
- une phase de régression linéaire multiple qui permet de relier les valeurs des paramètres caractéristiques aux conditions expérimentales.

### 4.7.1 Choix des équations de décroissance

L'établissement d'une nouvelle équation de croissance/décroissance n'a pas été réalisée car il existe actuellement de très nombreuses équations qui décrivent l'évolution d'une population au cours du temps. Le premier modèle de croissance proposé est celui développé par Malthus (1798) et qui correspond à la croissance exponentielle. Toutefois, pour tenir compte du ralentissement observé lors de l'évolution d'une population, Verhulst (1838) ou Gompertz (1825) ont ajouté un terme de freinage dans l'équation initiale de Malthus. Ces dernières années, des modèles spécifiques de décroissance de population microbienne lors d'un traitement thermique ont été développés pour prendre en compte des temps de latence au démarrage ou l'existence d'un plateau de population résiduelle en dessous duquel il est impossible de descendre (Buchanan *et al.* 1997 ; Mafart *et al.*, 2002 ; Albert and Mafart, 2005 ; Geeraerd *et al.*, 2005). Les modèles de Verhulst (ou logistique), de Gompertz, de Buchanan (ou modèle trilineaire), d'Albert et de Geeraerd sont disponibles dans l'extension `nlsMicrobio` (Baty and Delignette-Muller, 2014) du logiciel R (R Development Core Team, 2019).

### 4.7.2 Optimisation non linéaire

L'extension `nlstools` (Baty *et al.*, 2015) de R permet d'optimiser les paramètres caractéristiques des courbes de décroissance comme le temps de latence au démarrage, la vitesse maximale de décroissance (calculée au niveau du point d'inflexion) et la différence entre la valeur initiale et

la valeur finale du paramètre  $a^*$ . La technique d'optimisation non linéaire choisie a été la méthode de Gauss-Newton. Différents éléments ont permis d'évaluer la qualité de l'optimisation :

- somme des carrés des résidus : il faut qu'elle soit la plus faible possible ;
- coefficients de corrélation entre paramètres caractéristiques : de par leur calcul, certains paramètres sont liés entre eux. Le point d'intersection entre la pente au point d'inflexion (la vitesse maximale de décroissance) et l'axe des abscisses correspond au temps de latence. Ces deux paramètres sont donc fortement corrélés ;
- intervalles de confiance sur les paramètres caractéristiques. Il est possible d'obtenir plusieurs valeurs en utilisant soit une estimation asymptotique en approximant autour de la solution la courbe initiale par une quadratique ou en utilisant une technique de type jackknife ou de type bootstrap ;
- détermination des points influençant la valeur des paramètres caractéristiques afin de détecter éventuellement des points hors-limites.

#### 4.7.3 Régression linéaire

Une régression linéaire sur les paramètres caractéristiques a été faite afin de relier paramètres caractéristiques et conditions expérimentales. L'évaluation de la qualité de la régression a été faite en appliquant les préconisations de Fox (2002) :

- détermination des points éventuellement hors-limites par l'étude :
  - o des résidus studentisés : le résidu du point  $i$  est déterminé en faisant une régression linéaire sans le point  $i$ , puis en centrant et en normant les résidus. Tous les points situés en dehors de l'intervalle  $[-1,96 ; 1,96]$  sont susceptibles d'être hors limites ;
  - o du graphique quantile-quantile ou droite de Henry : tous les points devraient être situés sur une droite correspondant à la loi normale. Le tracé d'un intervalle de confiance permet de nouveau de détecter les points susceptibles d'être hors limites. Ce critère est souvent plus restrictif que le précédent.
- détermination des points influençant les coefficients de la régression :
  - o la distance de Cook qui est calculée à partir de la prévision de la valeur du point  $i$  par une régression linéaire où se point a été omis. Initialement une distance de Cook supérieure à 1 était considérée comme indiquant un point influent (Cook

and Weisberg, 1982), actuellement le critère retenu est une distance supérieure à  $4/n$  où  $n$  est le nombre de points expérimentaux (Bollen and Jackman, 1990) ;

- la distance de Welsch-Kuh (Belsley, 1980) ou DFFITS (Difference in Fits) permet non seulement d'évaluer l'influence d'un point sur les coefficients de la régression mais aussi sur la dispersion des prévisions.
- détermination de la colinéarité entre variables de la régression, c'est-à-dire quand plusieurs variables décrivent le même phénomène. Or, la colinéarité se traduit par une augmentation de la variance des coefficients de régression, ce qui entraîne une éventuelle non-significativité des variables. De plus, le signe des coefficients de la régression peut être mauvais. Enfin, la suppression d'une des variables se traduit généralement par une modification importante des coefficients de la régression. La colinéarité est évaluée à l'aide des facteurs d'inflation de la variance (FIV) ou en anglais Variance Inflation Factor (VIF). Le FIV caractérise l'augmentation de la variance de chaque variable s'il existe une colinéarité avec d'autres variables. Lorsqu'il n'y a pas de colinéarité entre deux variables, alors  $FIV = 1$  ; sinon  $FIV > 1$ . Il n'existe pas de règle précise pour déterminer à partir de quelle valeur de FIV la colinéarité devient pénalisante. Toutefois, différentes règles du type « doigt mouillé » proposent des valeurs comprises entre 3 et 5 ;
- vérification de la forme de la relation existant entre une variable de la régression et le paramètre caractéristique étudié en tenant compte de l'effet des autres variables grâce aux graphiques Variable + Résidu (ou Component + Residual Plot en anglais). Ces graphiques permettent de vérifier l'existence d'une relation de type linéaire ou quadratique ;
- estimation de la contribution relative de chaque variable à la régression en utilisant différentes métriques proposées dans la littérature (Darlington, 1968, Lindemann et al., 1980, Feldman, 2005). Cette contribution relative est souvent définie comme la contribution que chaque prédicteur apporte au coefficient de détermination  $R^2$  en considérant 1/ son effet direct (c'est-à-dire sa corrélation avec la variable expliquée) et 2/ son effet lorsqu'il est combiné avec les autres variables de l'équation de régression. Pour ce faire, l'extension car (Fox and Weisberg, 2011) a été utilisée ainsi que l'extensionrelaimpo (Grömping, 2006) pour la contribution relative des variables à la régression.

Lorsque la variable expliquée dépend de nombreuses variables explicatives, le nombre de modèles possibles croît très vite. En effet, s'il y a  $k$  variables explicatives, alors il y a  $2^{k-1}$  modèles. De plus si  $k$  est grand, il n'est pas envisageable de tester tous les modèles. Afin de sélectionner le modèle final, deux critères ont été utilisés : la qualité de la prévision et l'acrimonie. Dans ce travail, deux types d'algorithmes ont été testés :

- régression linéaire pas-à-pas descendante. A chaque étape, la variable associée à la plus grande valeur  $p$  (associée à la statistique partielle du test de Fisher qui compare les sommes des carrés des résidus des deux modèles) est éliminée du modèle. La procédure s'arrête lorsque les variables restant dans le modèle ont des valeurs  $p$  plus petites qu'un seuil fixé par défaut à 0,10 ;
- sélection globale : l'algorithme de Furnival et Wilson (1974) est utilisé pour comparer tous les modèles possibles en cherchant soit à maximiser  $R^2$  ou  $R^2_{\text{ajusté}}$ , soit à minimiser le critère BIC (Bayesian Information Criteria) défini par Schwarz en 1978 soit en ayant le  $C_p$  de Mallows (Mallows, 1973 ; Gilmour, 1996) proche du nombre de variables retenues pour la régression. Par souci d'économie, cet algorithme évite de considérer des modèles de certaines sous-branches de l'arborescence dont on peut savoir *a priori* qu'ils ne sont pas compétitifs. En général les logiciels exécutant cet algorithme affichent le ou les meilleurs modèles de chaque niveau.

Dans le premier cas, la fonction step de R a été utilisée et dans le second cas, les calculs ont été réalisés avec l'extension leaps.

#### 4.7.4 Sensibilité des modèles aux valeurs des coefficients

Les modèles développés lors de ce travail donnent la relation entre les conditions initiales (pression partielle en  $O_2$ , température, temps de maturation et angle de découpe) et l'évolution temporelle de  $a^*$  d'une part et la valeur du temps de virement d'autre part. Toutefois, la qualité des prévisions obtenues dépend bien entendu des valeurs expérimentales ainsi que du choix des équations de représentation des phénomènes étudiés. Il est donc intéressant de regarder l'effet d'une perturbation sur la valeur d'un coefficient des modèles développés sur la prévision de  $a^*$  ou du temps de virement. Un modèle de type « grosse perturbation – petite variation » correspond à un modèle dont les prévisions peuvent être qualifiées de robustes. *A contrario*, un modèle du type « petite perturbation – grosse variation » correspond à un modèle dont l'utilisation est plus délicate.

#### 4.7.5 Détermination des intervalles de confiance sur les prévisions

Le modèle développé pour la décroissance temporelle de  $a^*$  est un modèle non linéaire dont les paramètres varient linéairement avec les conditions expérimentales. Il n'est pas possible d'évaluer directement les intervalles de confiance des prévisions. La technique utilisée dans ce travail s'apparente à une méthode de Monte-Carlo. La régression linéaire sur chacun des paramètres (temps de latence et vitesse maximale de décroissance) donne la valeur du coefficient  $i$  ( $\mu_i$ ) des conditions expérimentales ainsi que l'écart-type ( $\sigma_i$ ). La régression linéaire considère en effet que chacun des coefficients de la régression linéaire suit une loi normale de moyenne  $\mu_i$  et d'écart-type  $\sigma_i$ . Pour calculer l'intervalle de confiance sur la prévision de  $a^*$  en tenant compte de l'incertitude sur les valeurs de chacun des coefficients du modèle, la méthode suivante a été utilisée :

- puisque chacun des coefficients de la régression linéaire suit une loi normale de moyenne  $\mu_i$  et d'écart-type  $\sigma_i$ , une valeur de chaque coefficient a été tirée au hasard ce qui permet de générer une courbe d'évolution de  $a^*$  ;
- ce processus a été réalisé 5 000 fois ;
- pour chaque temps de la décroissance de  $a^*$ , différents quantiles ont été calculés sur les 5 000 courbes générées à savoir : 0,005 – 0,025 – 0,05 – 0,25 – 0,50 – 0,75 – 0,95 – 0,975 et 0,995 ;
- les intervalles de confiance à 50 % (entre les quantiles 0,25 et 0,75), à 90 % (entre les quantiles 0,05 et 0,95), confiance à 95 % (entre les quantiles 0,025 et 0,975) et à 99 % (entre les quantiles 0,005 et 0,995) ont ainsi été déterminés ainsi que la médiane (quantile 0,50).

## **Chapitre III – Résultats et discussions**

# 1. Virements de couleur et potentiel d'oxydoréduction

Dans cette partie, l'objectif est de déterminer si le potentiel d'oxydoréduction (pOR) peut servir d'indicateur des virements de couleurs de la viande rouge. En effet, les virements de couleur de la viande sont associés aux différents états redox de la myoglobine présente dans la viande. Cependant, la viande étant un milieu complexe et les sondes redox pour milieux semi-solides n'existant pas, l'utilisation d'un milieu mimétique comme le jus de viande a été proposée comme première approche.

## 1.1 Résultats sur le jus de viande

### 1.1.1 Tests préliminaires

#### 1.1.1.1 Impact du volume et de la dilution sur la couleur du jus de viande

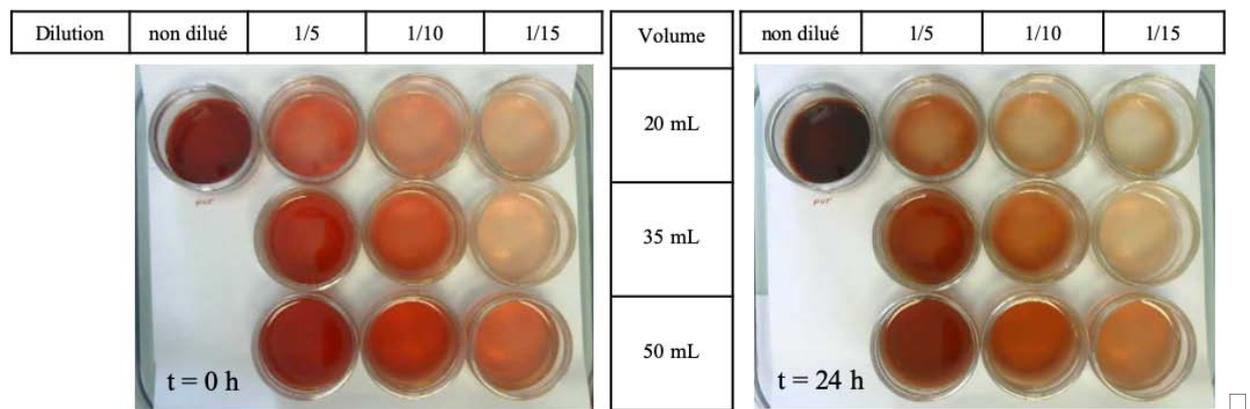
Le but de cette expérience est de montrer l'importance de la standardisation des échantillons lors de la mesure de la couleur. En effet, le volume et la dilution ont un impact sur la couleur initiale et finale (après virement) d'un jus de viande. Des échantillons avec différents volumes (20 mL, 35 mL et 50 mL) et différentes dilutions (1/5, 1/10 et 1/15) ont été réalisés dans le but d'obtenir le meilleur compromis possible (figure 44). Les échantillons de jus ont été obtenus suite à la congélation/décongélation d'un muscle entrecôte découpés en petits morceaux (3 cm d'épaisseur avec un poids d'environ 80 g) emballés sous air ; les jus ont été centrifugés (à 4 °C, à 10 000 g pendant 5 min), filtrés (à travers un filtre de porosité 0,22 µm) et dilués avec de l'eau milliQ. Chaque échantillon a été transféré dans un cristalliseur de même format et un suivi du virement de couleur a été effectué pendant 24 heures à 20 °C dans l'enceinte climatique, le choix de 20 °C étant motivé par l'accélération des cinétiques de réactions.

À  $t = 0$  heure, le jus de 35 mL dilué au 1/5 et les jus de 50 mL dilués au 1/5 et 1/10 ont montré une couleur rouge foncé. Le jus pur (ou non dilué) quant à lui a montré aussi la couleur la plus foncée. *A contrario*, les jus de 20 mL dilués au 1/10 et 1/15 et le jus de 35 mL dilué 1/15 ont présenté une couleur rouge clair. Au centre, les jus de 20 mL, 35 mL et 50 mL dilués au 1/5, 1/10 et 1/15 respectivement ont montré une couleur rouge intermédiaire. Après 24 heures, il a été constaté que tous les jus ont viré, passant d'une couleur rouge à marron. De plus, les observations effectuées sur l'intensité de la couleur des jus faites à  $t = 0$  heure peuvent être réitérées à  $t = 24$  heures. En résumé, plus le volume est grand et plus la dilution est petite plus la couleur du jus est foncée ; à l'inverse, plus le volume est petit et plus la dilution est grande

pNDmUf) NR)EM)D)RD(UNCRhf)E ). □S 4S RUFDmNDCEMR)DMRMGLR( DVfNS RDR(MR  
MGLR( RDMN( C.D □R Mf.R .( pNDmS 4S RUf)NR)E)OR m) □Mpm(f) □S mHF. □m) □CmNT. □  
R6R( □DNVDVfNS RDR( RDMN( C.D □R Df.( pNDMR( F)RDR( HRDRbpLGRURDNRDfDREV( C.D □  
M)VERS R (MRf)NR)E)Df.( pNDMGLRDS pNF)m( MRHLDn(DpR) f) □pDRbpNC(mNRD □ R□  
pNDh6CMIS RDERENpe ' MRmf. □GmNR). □VfNS RMR □ S 1 RD( LURD( Rpf)E)S S REORE □  
UFERURSR( NRDDf. MRERMfbMndURDUEDmNDCH □

mDNRUhmMRMrf( HRL)MRNRDS RNR)EDUfS pHfS CDF.( NR)DM) □VfNS RMR □ S 1 MSLD □  
m) □ □ □ □ R( □ □ □ □ RpRMm( □nc □MRS fMGRNR S fCD □p fDNRNRDpHpEL(LDM) □D □  
CC(GMS R (HU)pLH □mpNDpR(CRMN( C. □ □ □ □ mL(LRR)R □G)CRqUR(RmmNR). □VfNS R□  
MR □ S 1 R( )R M( C. □m) □ □ f.( L(L)( CCLDMndMRUCDmNDCHDMR( F)RDpf)E(f)( RDRD □  
RbpLGRURD □

□



□\*ÉG□ □ d \*Éj- \*j- \*ch(q □jb) cÉ-qÉC(wÉhT %A q) ÉI(wqh-CqV-qj) qb(\* é7Cqh-I □c-ÉTqI □□  
Tg □ □ gq- □ g q-( \* é7Cqh-ql( \* -É \*chl □ □ □ □ □ □ □ □ □ □ ÉGq- □pq ÉGI □  
, □ 4 □g q)ÉI(q □jh(q EÉChch( \* -É7qI-jÉI I \*EC7Iqh-7 □ □ \*C(q b)cTEjG \*IchjÉI )ÉI □  
(\*-É7 □

□

□ uS pnU(M)(hpRMBm) □( CDRpf)E)M)RENR)DMRVGMRENR □  
VERS R( MRUf)NR)EM)DMRVGmMR □

l R)DMRVGmMRp)E)Mf..R □.R □Uf)NR)E)Hp □Gf.U LR □MRURmC □NR VERS R( □MRUf)NR)E)RD □  
MCCOR □VfERCS pfDNR □fIDREVR □uNmMf.Ul(LMLCLMRM)NR)NR)D)h6 □MRmLQRE □  
NRDREV( C. □M)VERS R( □MRUf)NR)E) mDUR(RRbpLGRURM) □(hpRDMBm) f.( L(L(RDLD □  
NR) □S CND R(NR) p2hDN0( F)R □RDM) □Rmb f.( L(LU2fCDRURhEURDf.( NRpND)( CCLRD □  
MndNR S f.MRMDCM)DERDn0FmNS R( nCRD)RURp(LRNR) □Uf)Em(R □ □ 2nF)R)DMRVGmMR □  
C) □M) □S 4S RS )DURR( HLU5(RR( CRERS ImNUD)D)VVRVnt □Uf.0L N(C. □R(MLF.0L N(C. □  
mL(LUR( H)0L □C(EL p)CDMNL m) □ □ □ Mnd □ S 1 □MBm) □S CND f) □Mnd □ S 1 □MBm) □

□

□

physiologique préalablement stérilisée. Un suivi du virement des jus en dupliqua a été mis en place à 20 °C dans l'enceinte climatique. Des analyses microbiologiques (dénombrements en gélose profonde) ont été mises en place pour chaque expérience afin de s'assurer de l'efficacité de la filtration des jus. Tout d'abord, les résultats microbiologiques ont mis en évidence l'absence de colonies en début et en fin d'expérience sur les boîtes de Pétri qui ont étéensemencées avec de la suspension mère. Les jus utilisés sont donc bien stériles. Les résultats ont montré que les deux jus de viande dilués présentaient le même indice de  $a^*$  initial d'une valeur de 34 (figure 45, à gauche). Après la normalisation des données (la normalisation permet de comparer des évolutions de grandeurs physicochimiques en s'affranchissant des valeurs numériques que peut prendre la grandeur mesurée au cours du temps), il a été constaté que le jus de viande dilué avec de l'eau milliQ a viré plus rapidement que le jus de viande dilué avec de l'eau physiologique. Le jus dilué dans l'eau milliQ a viré complètement en jaune à partir de 24 heures alors que le jus dilué dans l'eau physiologique a changé totalement de couleur (jaune aussi) à partir de 48 heures (figure 45, à droite). De fait, pour des questions de temps de mesure, mais surtout pour ne pas rajouter d'espèces ioniques dans les jus, il a été décidé d'utiliser l'eau milliQ pour toutes les autres expériences.

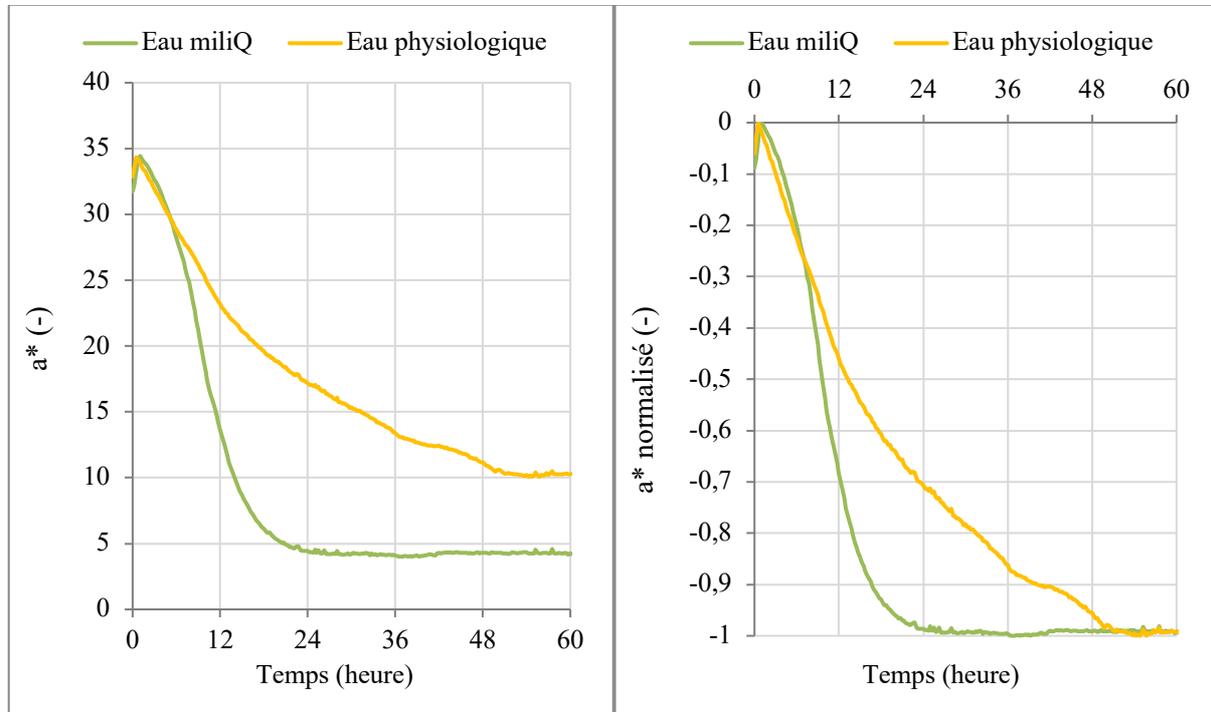


Figure 45 : Suivi du virement de couleur ( $a^*$ ) d'un jus d'entrecôte (50 mL de jus centrifugé, filtré et dilué au 1/5) à 20 °C selon le type d'eau (eau milliQ, en vert, ou eau physiologique, en jaune) utilisé pour diluer le jus de viande en fonction du temps (à gauche) et les valeurs de  $a^*$  normalisées en fonction du temps (à droite).

### 1.1.1.3 Impact de la taille du morceau de viande avant congélation/décongélation sur le virement de couleur du jus de viande

Le but de cette expérience était d'identifier si la taille du morceau de viande utilisé a un impact sur le virement de couleur du jus qui en est issu après l'étape de congélation/décongélation. Pour étudier cette influence, la moitié d'un muscle d'entrecôte a été utilisée (Entière) et l'autre moitié a été découpée en petits morceaux de 80 g (Morceaux). Les deux types d'échantillons ont été emballés sous vide avant l'étape de congélation/décongélation. Les jus obtenus ont été centrifugés, filtrés puis dilués au 1/5 dans 50 mL avec de l'eau miliQ, et placés à 20 °C dans l'enceinte climatique. De plus, le virement de couleur des jus en dupliqua a été suivi au cours du temps. Tout d'abord, les résultats microbiologiques ont mis en évidence l'absence de colonies en début et en fin d'expérience sur les boîtes de Pétri qui ont étéensemencées avec de la suspension mère. Les jus utilisés sont donc bien stériles. Ensuite, il a été constaté que les petits morceaux de viande donnent plus de jus que le morceau entier. Un facteur 3 à 4 a été mesuré. Ensuite, il a été observé que les virements de couleur des deux conditions (Entière ou Morceaux) sont très proches (figure 46). Les valeurs de  $a^*$  au début de l'expérience sont de 38 pour la condition Entière et de 36 pour la condition Morceaux pour finir à une valeur de  $a^*$  de 25 après 25 heures. Les deux courbes diminuent au cours du temps de façon parallèle (figure 46, à gauche). Après normalisation, les courbes obtenues de  $a^*$  normalisé sont quasiment identiques pour les deux conditions testées (figure 46, à droite). D'après ces résultats, la taille du morceau de viande utilisé (Entière ou Morceaux) n'a donc pas d'effet sur le virement couleur du jus dont il est issu. De plus, l'utilisation de petits morceaux permet de récupérer plus de jus de viande. Pour des questions de gain de temps, et donc de coût, la viande sera congelée/décongelée entière, à l'exception des expériences sur la microbiologie où la demande en jus pour les analyses est plus grande.

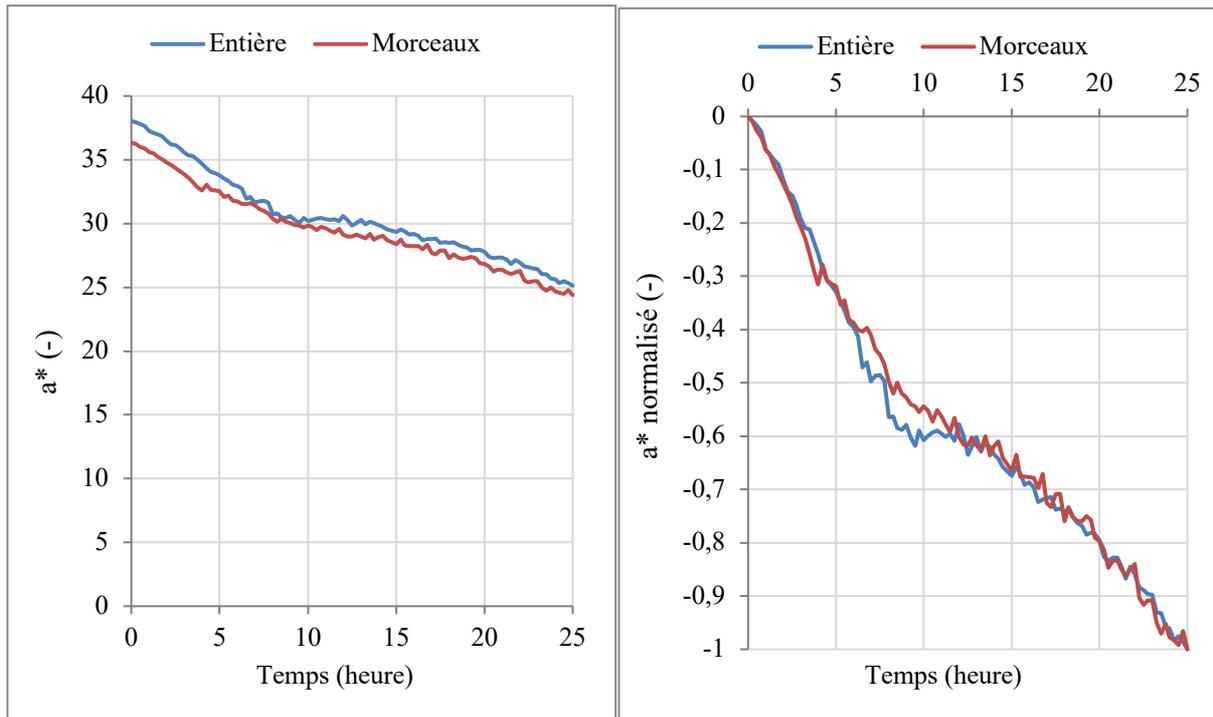


Figure 46 : Suivi du virement de couleur ( $a^*$ ) d'un jus d'entrecôte (50 mL de jus centrifugé, filtré et dilué au 1/5) à 20 °C selon la taille de la viande (Entière, en bleu, ou Morceaux, en rouge) congelée et décongelée en fonction du temps (à gauche) et les valeurs de  $a^*$  normalisées en fonction du temps (à droite).

#### 1.1.1.4 Impact des conditions d'emballage de la viande avant congélation/décongélation sur le virement de couleur du jus de viande

Dans cette expérience, l'objectif est de déterminer si les conditions d'emballage de la viande, sous air ou sous vide, avant congélation/décongélation, ont une influence sur le virement de couleur du jus dont il est issu. En effet, le rôle de l'oxygène sur l'oxydation de la myoglobine est bien connu dans la littérature (cf partie bibliographie), et cette exposition précoce à l'oxygène pourrait avoir un impact sur le virement de couleur. Deux demi-muscles d'entrecôte ont été emballés entiers sous deux conditions, un sous air (soit 21 % d'O<sub>2</sub>) et l'autre sous vide (soit 0 % d'O<sub>2</sub>) avant d'être congelés/décongelés. Les jus obtenus ont été dilués au 1/5 dans 50 mL d'eau milliQ, centrifugés, filtrés puis placés à 20 °C dans l'enceinte climatique. Un suivi du virement de couleur des jus en duplicata a été mis en place. Tout d'abord, les résultats microbiologiques ont mis en évidence l'absence de colonies en début et en fin d'expérience sur les boîtes de Pétri qui ont étéensemencées avec de la suspension mère. Les jus utilisés sont donc bien stériles. Ensuite, il a été constaté que la viande emballée sous air donne plus de volume de jus (facteur 2) que celle emballée sous vide. Les résultats obtenus (figure 47, à

gauche) montrent qu'à  $t = 0$  heure les valeurs de  $a^*$  de l'emballage sous air et sous vide sont de 45 et 38 respectivement. Durant l'expérience, les valeurs de  $a^*$  diminuent, puis à  $t = 25$  heures, les valeurs de  $a^*$  pour les deux conditions sont identiques et atteignent une valeur de  $a^*$  de 25. Cependant, la figure 47 (à gauche) montre que les courbes sont identiques après normalisation. Les différentes conditions testées d'emballage de la viande avant congélation/décongélation ont eu une influence sur la valeur de  $a^*$  de départ. En effet, la valeur de  $a^*$  est plus élevée pour l'emballage sous air (favorisant le blooming) que pour l'emballage sous vide. En revanche, la normalisation montre que les deux conditions d'emballage de la viande n'ont pas eu d'influence sur la cinétique du virement de couleur des jus de viande. Pour éviter cette légère différence de valeur de  $a^*$  au départ, la viande sera congelée/décongelée entière sous vide, à l'exception des expériences sur la microbiologie où la demande en jus pour les analyses est plus grande (utilisation de morceaux d'environ 80 g).

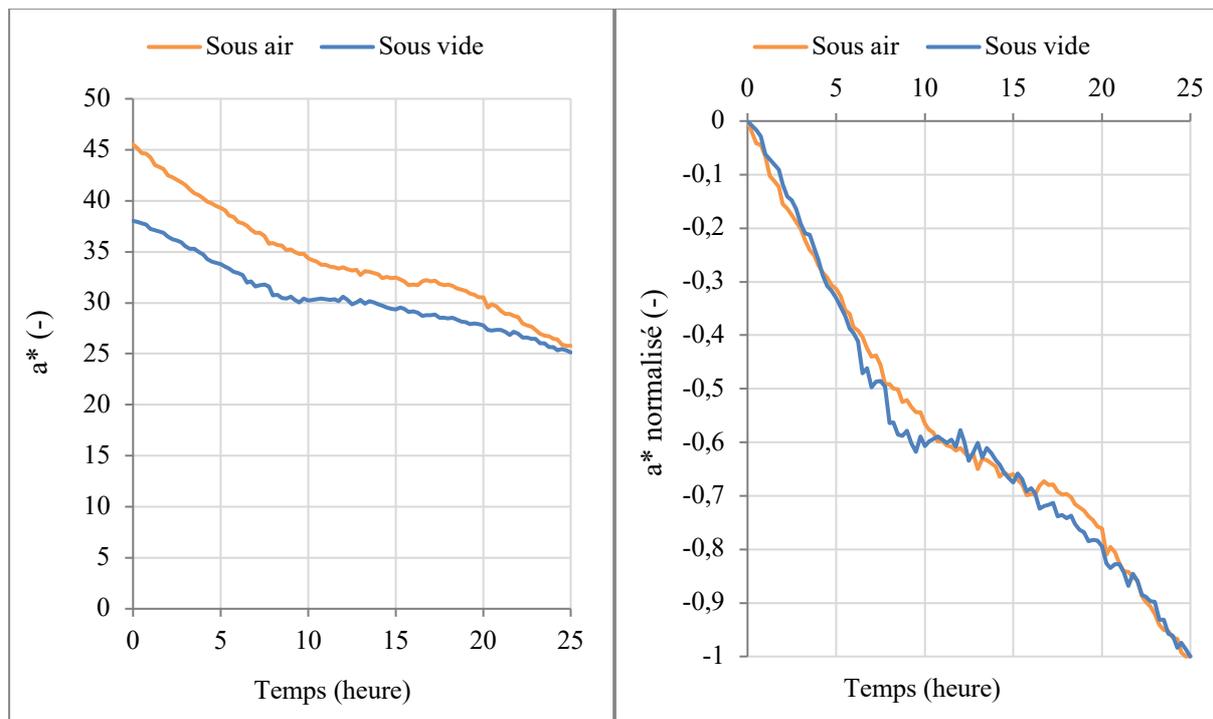


Figure 47 : Suivi du virement de couleur ( $a^*$ ) d'un jus d'entrecôte (50 mL de jus centrifugé, filtré et dilué au 1/5) à 20 °C selon le type d'emballage (sous air, en orange, ou sous vide, en bleu) de la viande congelée et décongelée en fonction du temps (à gauche) et les valeurs de  $a^*$  normalisées en fonction du temps (à droite).

#### 1.1.1.5 Impact de la centrifugation du jus de viande dilué sur le virement de couleur du jus de viande

Lorsque le jus a été récupéré après l'étape de congélation/décongélation, celui-ci peut contenir des résidus de tissus conjonctifs et de tissus adipeux. Afin de ne pas impacter le virement de couleur par la présence de matières grasses résiduelles, facilement oxydables, et afin que le jus passe plus facilement à travers le filtre lors de l'étape de filtration, le jus a été centrifugé et donc clarifié. Le but de cette expérience a été de vérifier le possible impact de la centrifugation sur le virement de couleur du jus de viande. Les échantillons de jus issus d'un muscle entrecôte entier emballé sous vide ont été centrifugés ou non centrifugés, puis filtrés (à travers un filtre de porosité 0,22  $\mu\text{m}$ ) et dilués au 1/5 dans 50 mL avec de l'eau milliQ. Un suivi du virement de couleur des jus en duplicata a été mis en place à 4 °C dans l'enceinte climatique. Cette température de 4 °C a été choisie comparée aux expériences précédentes à 20 °C afin d'avoir une première approximation du temps de virement d'un jus à 4 °C. Tout d'abord, les résultats microbiologiques ont mis en évidence l'absence de colonies en début et en fin d'expérience sur les boîtes de Pétri qui ont étéensemencées avec de la suspension mère. Les jus utilisés sont donc bien stériles. D'après la figure 48 (à gauche), le jus de viande centrifugé donne une valeur de  $a^*$  ( $a^* = 31$ ) un peu moins élevée que le jus de viande non centrifugé ( $a^* = 35$ ). Au cours du temps, les valeurs de  $a^*$  diminuent de la même manière. Après normalisation, il a été constaté que les courbes des valeurs de  $a^*$  des jus centrifugés et non centrifugés sont identiques (figure 48, à droite). Donc l'étape de centrifugation a eu une influence sur la valeur de  $a^*$  de départ. En effet, la valeur de  $a^*$  est moins élevée pour un jus qui a subi une centrifugation. En revanche, la normalisation montre que l'étape de centrifugation n'a pas eu d'influence sur la cinétique du virement de couleur des jus de viande. Suite à cette expérience, les prochains jus seront filtrés afin de les standardiser et de faciliter leur utilisation.

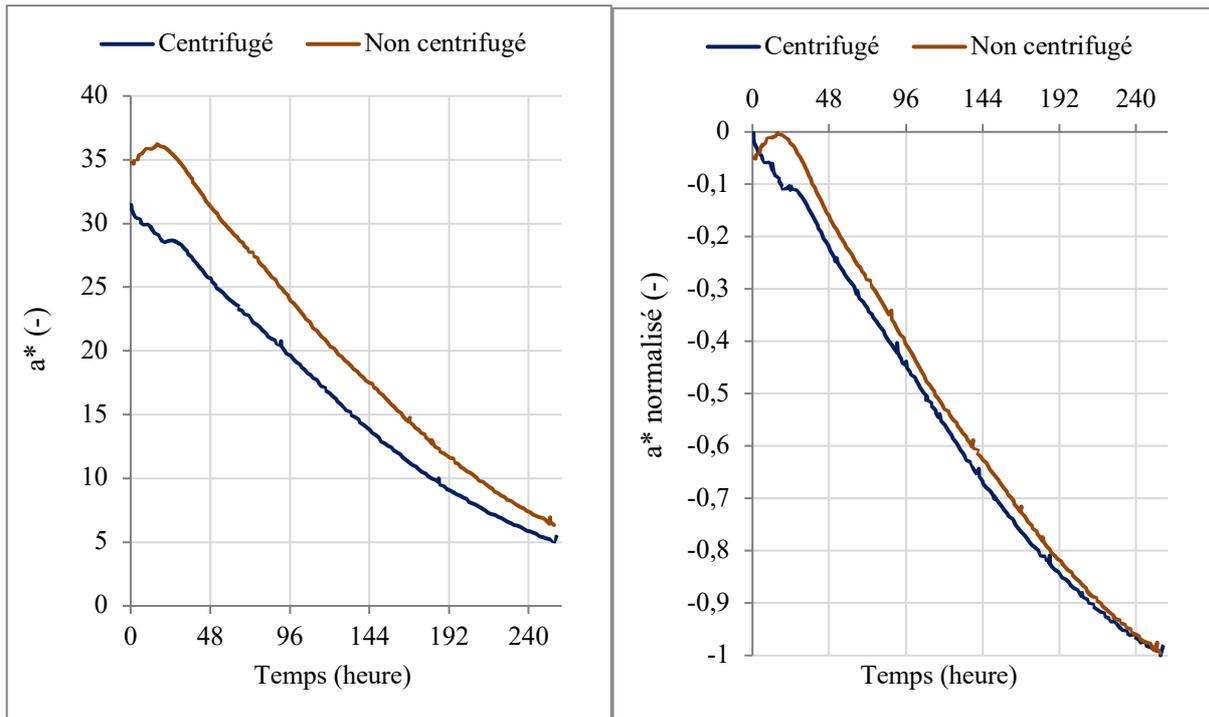


Figure 48 : Suivi du virement de couleur ( $a^*$ ) d'un jus d'entrecôte (50 mL de jus filtré et dilué au 1/5) à 4 °C avec, en bleu, ou sans, en rouge, l'étape de centrifugation (centrifugé ou non centrifugé) en fonction du temps (à gauche) et les valeurs de  $a^*$  normalisées en fonction du temps (à droite).

## 1.1.2 Corrélation entre virements de couleur et pOR dans le jus

### 1.1.2.1 Expérience avec du jus filtré à 4 °C

Suite aux tests préliminaires précédemment réalisés, un suivi du virement de couleur, du pH et du potentiel d'oxydoréduction (pOR) d'un jus de viande a été mis en place afin de déterminer si le pH et/ou le pOR seraient des indicateurs du virement de couleur. Les paramètres du protocole d'obtention du jus ont été les suivants : congélation/décongélation d'un muscle entrecôte entier sous vide, centrifugation, filtration et dilution du jus au 1/5 dans 50 mL d'eau milliQ stérile. Le même jus a été séparé dans quatre cristallisoirs (deux dupliqua sans sonde et deux dupliqua avec sondes) et ont été placés à 4 °C dans l'enceinte climatique. Le jus a été filtré afin d'observer un virement physicochimique qui ne sera pas influencé par la présence d'une éventuelle microbiologie. Des dénombrements microbiologiques de la flore totale en gélose profonde ont été mis en place en début et fin d'expérience afin de vérifier que les jus sont bien stériles et qu'ils n'ont pas été contaminés durant l'expérience. Tout d'abord, les résultats microbiologiques ont mis en évidence l'absence de colonies en début et en fin d'expérience sur les boîtes de Pétri qui ont étéensemencées avec de la suspension mère. Les jus utilisés sont

donc bien stériles. D'après la figure 49 (à gauche), les résultats montrent tout d'abord que le pH varie peu au cours du temps, de 5,7 à 5,5 en 14 jours d'expérience. Le pOR, quant à lui, présente une variation significative. Au début de l'expérience, la valeur du pOR est d'environ 100 mV, puis une forte augmentation est mesurée avec une valeur maximum de 215 mV au bout de 192 heures. Enfin, le pOR diminue jusqu'à atteindre une valeur de 190 mV à 330 heures (figure 49, à droite). En ce qui concerne le virement de couleur, l'évolution de  $a^*$  présente trois phases au cours du temps (figure 50). Les jus sont de couleur rouge vif au début de l'expérience. La première phase correspond à une diminution lente de  $a^*$  avec des valeurs allant de 50 à 43 en 96 heures. A ce stade, les jus commencent à changer de couleur et deviennent rouge foncé/marron. Ensuite, durant la deuxième phase, la valeur de  $a^*$  chute plus rapidement pour atteindre une valeur de 22 à 240 heures et les jus sont devenus presque complètement marron. Enfin, la troisième phase commence à partir de 240 heures où la diminution de la valeur de  $a^*$  commence à ralentir et tend à atteindre un plateau qui correspond à la fin au passage de rouge à marron ( $t = 320$  heures). Les valeurs de pOR et de  $a^*$  normalisées sont représentées sur la figure 51. Un point remarquable est qu'au cours du temps, la courbe de  $a^*$  diminue alors que la courbe du pOR augmente. De plus, les résultats montrent que la courbe de  $a^*$  commence à chuter (96 heures), en même temps que la courbe de pOR change de pente pour arriver à son maximum (intersection des deux courbes). Selon ces résultats du jus filtré (décontaminé), le pH varie peu durant l'expérience et ne permet donc pas de prédire le virement de couleur du jus de viande rouge. En revanche, le pOR est clairement relié au virement de couleur (valeur de  $a^*$ ). En effet, les valeurs de pOR commencent à atteindre leur maximum quand le jus commence à changer de couleur (virement de rouge à marron).

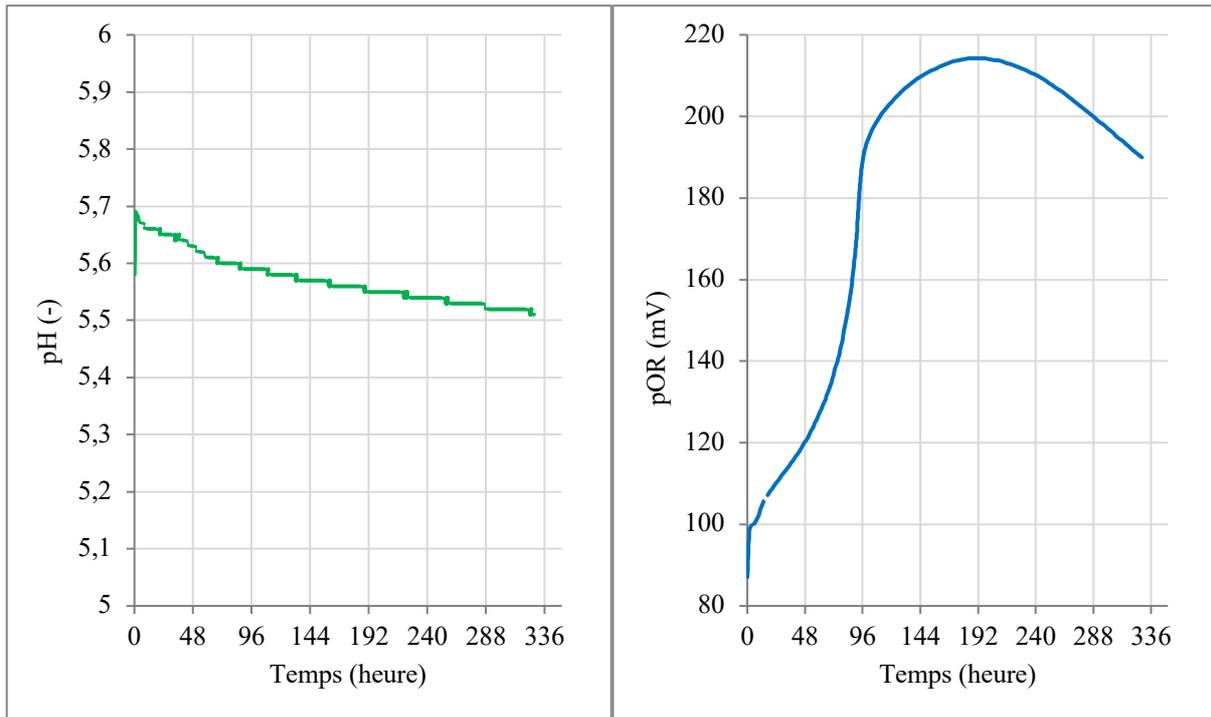
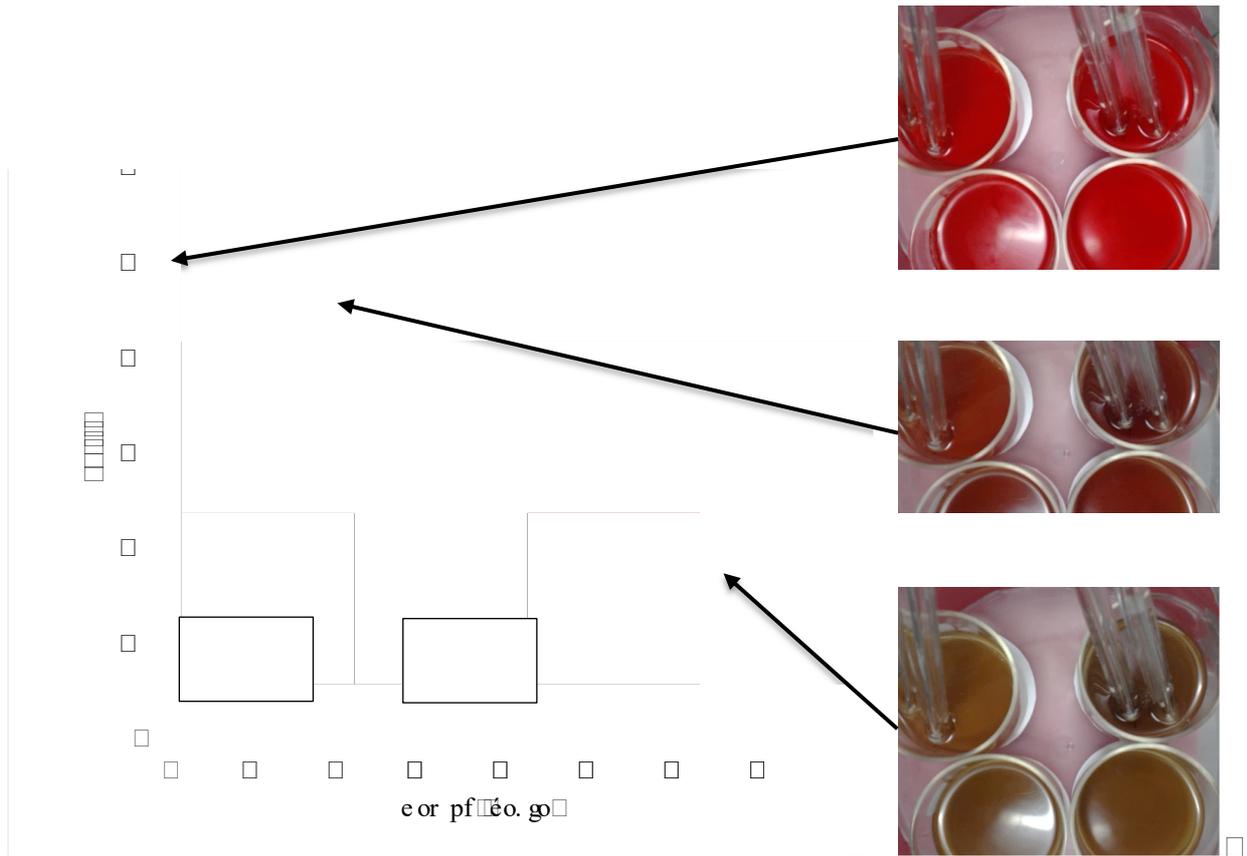
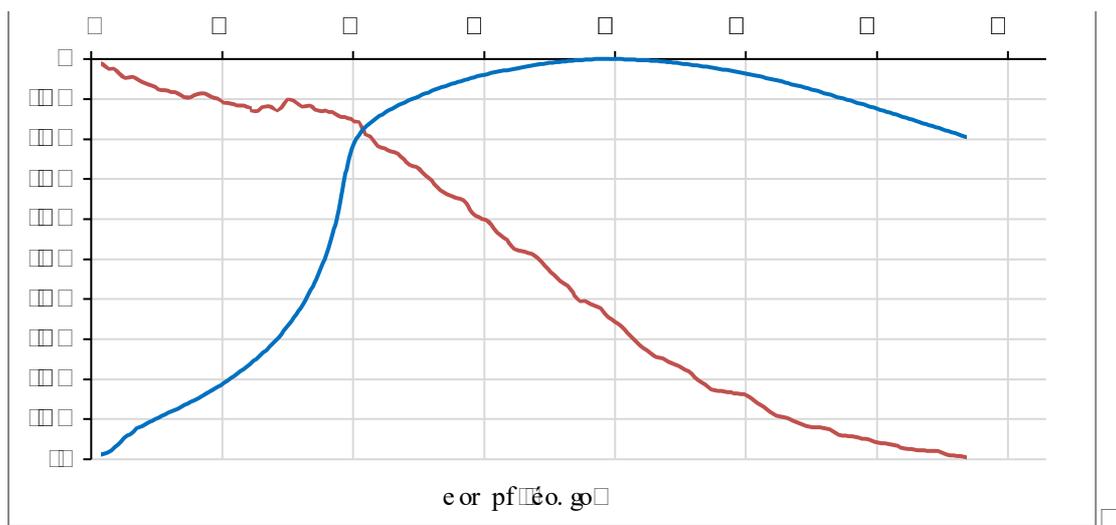


Figure 49 : Suivi du pH (à gauche) et du pOR (à droite) d'un jus d'entrecôte (50 mL de jus centrifugé, filtré et dilué au 1/5) à 4 °C en fonction du temps.



□  $xÉG$  □ □  $uÉ^*(É^*Gtqh-(qbcÉ-qÉCj$  □ (wÉh)ÉI(wqh-GbV-q□□  $g(q)ÉIbqh-CÉx7$  □  
 é-Cq-(^\*É7É □ □, □  $4qhéchb-^*h(É□qTEI,xjÉb$  □  $pq□-qIEpc-cljl$  □  $Icb^*qIEC7Iqh-jh-$  □  
 -q□  $Gtqh-(qbcÉ-qÉCqI)ÉIÉ^*-CI$  □ (7bh-jT  $^*h7I$  □, □ □  $pq$  □  $ÉG$  □ □ □  $pqÉGIq-$  □  
 -□ □  $pqÉGI$  □  $gqI$  □  $ch(qI$  □  $^*S-qI$  □  $gh$  □  $I-qIbCI-j-$  □  $^*c^*Qch-EqCT$  □  $^*I(q$  □  $T$  □  $qIÉQC-qE$  □  $q-$  □  $q$  □  
 Et l jÉ  $bcÉQ(É□qTEI$  □

□

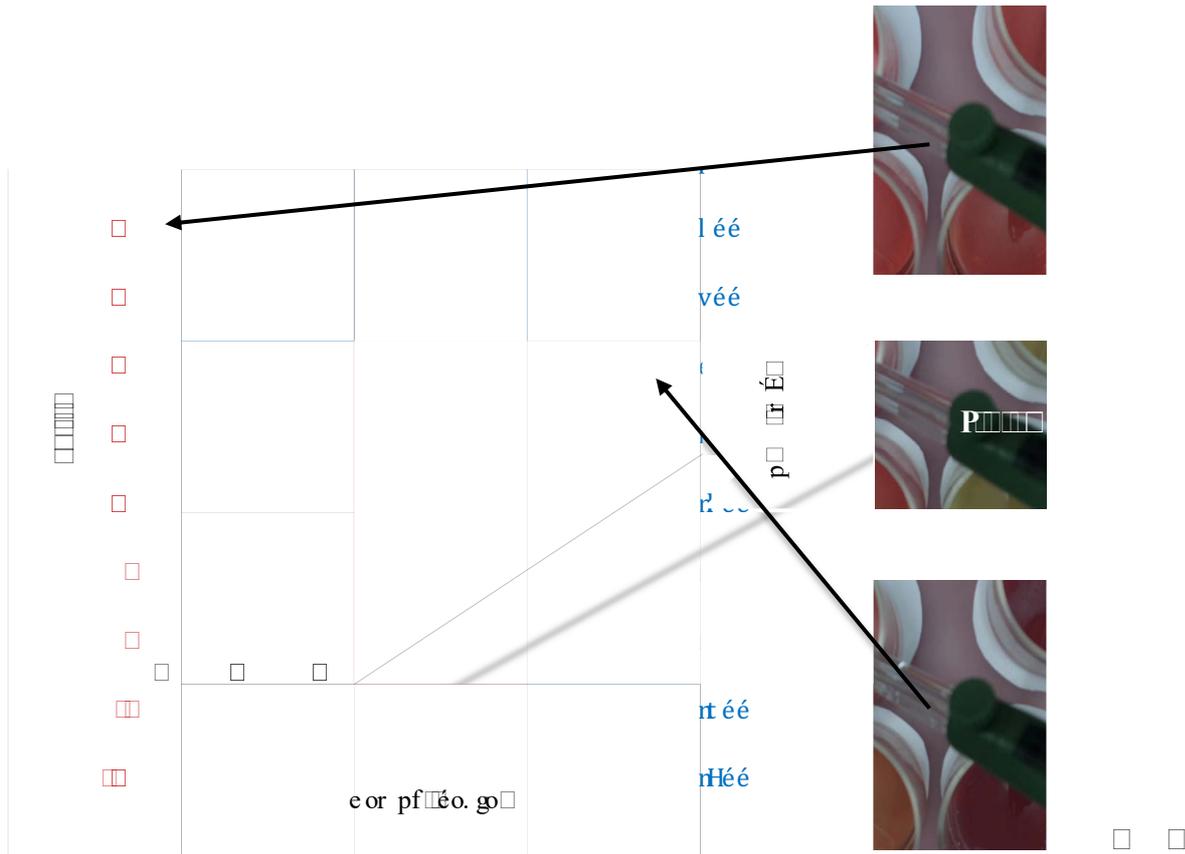


□  $xÉG$  □ □  $uÉ^*(É^*Gtqh-(qbcÉ-qÉCjhcC$  □  $Tj-$  □  $^*I7q$  □  $hCcÉxq(wÉh)ÉI(wqh-GbV-q$  □ □ □  
 Tg(q)ÉIbqh-CÉx7) □  $^*Cq-(^*É7É$  □ □  $q-(ÉEc-gh-^*q-(wcl:(cC7(Éb-^*h□Et l hc CTj-$  □  $^*I7$  □ □  
 $qhS-$  □  $qÉ,$  □ □  $4qhéchb-^*h(É□qTEI$  □

□

### 1.1.2.2 Expérience avec du jus non filtré à 4 °C

Suite à l'expérience avec le jus filtré (décontaminé), il a été décidé de réaliser de nouveau l'expérience mais en ne filtrant pas le jus afin d'être au plus proche des conditions industrielles. En effet dans l'industrie de la viande, les carcasses, les muscles et la viande ne subissent aucune étape de décontamination entre le début et la fin du process. Le but est de vérifier si le pOR est toujours un indicateur du virement de couleur dans ce cas-là. Le protocole du jus est le même que l'expérience précédente mais sans l'étape de filtration. Cette expérience a été réalisée en dupliqua sur un même jus. Les résultats des valeurs de  $a^*$  et du pOR sont représentés sur la figure 52. La première observation qui peut être faite est qu'une certaine « symétrie » est observée entre ces deux grandeurs. Tout d'abord, les valeurs de  $a^*$  débutent avec une phase de légère décroissance avec une valeur initiale passant de 30 à 27 au bout de 105 heures et les jus sont de couleur rouge. Puis une phase de décroissance brutale est observée avec une valeur de  $a^*$  de quasiment -5 en seulement 44 heures. A ce stade, les jus ont viré et sont de couleur jaune/verdâtre. Ensuite une nouvelle phase de plateau est mesurée, celle-ci a duré 80 heures et la valeur de  $a^*$  est restée proche de -5. Enfin à partir de 225 heures d'expérience, la valeur de  $a^*$  remonte jusqu'à une valeur de  $a^*$  de 20 avant de se stabiliser à cette même valeur. Les jus sont alors redevenus rouges mais un rouge plus foncé que le rouge vif initial. En ce qui concerne le pOR, une légère augmentation est observée pendant les 125 premières heures avec une valeur de pOR allant de 95 à 140 mV. Puis une augmentation exponentielle est mesurée avant d'atteindre un début de plateau à 215 mV au bout de 144 heures. Ce plateau est mesuré jusqu'à 200 heures ensuite une phase de très forte décroissance est observée avec une valeur de pOR atteinte de -460 mV qui finit par se stabiliser. Ces résultats montrent donc que deux virements de couleur sont observés ; un premier, de rouge vif à jaune/verdâtre au bout de 150 heures, et un second de jaune/verdâtre à rouge foncé au bout de 270 heures. De plus, le pOR suit ces évolutions de façon opposée c'est-à-dire avec une augmentation lors du premier virement de couleur et une diminution lors du second virement de couleur.



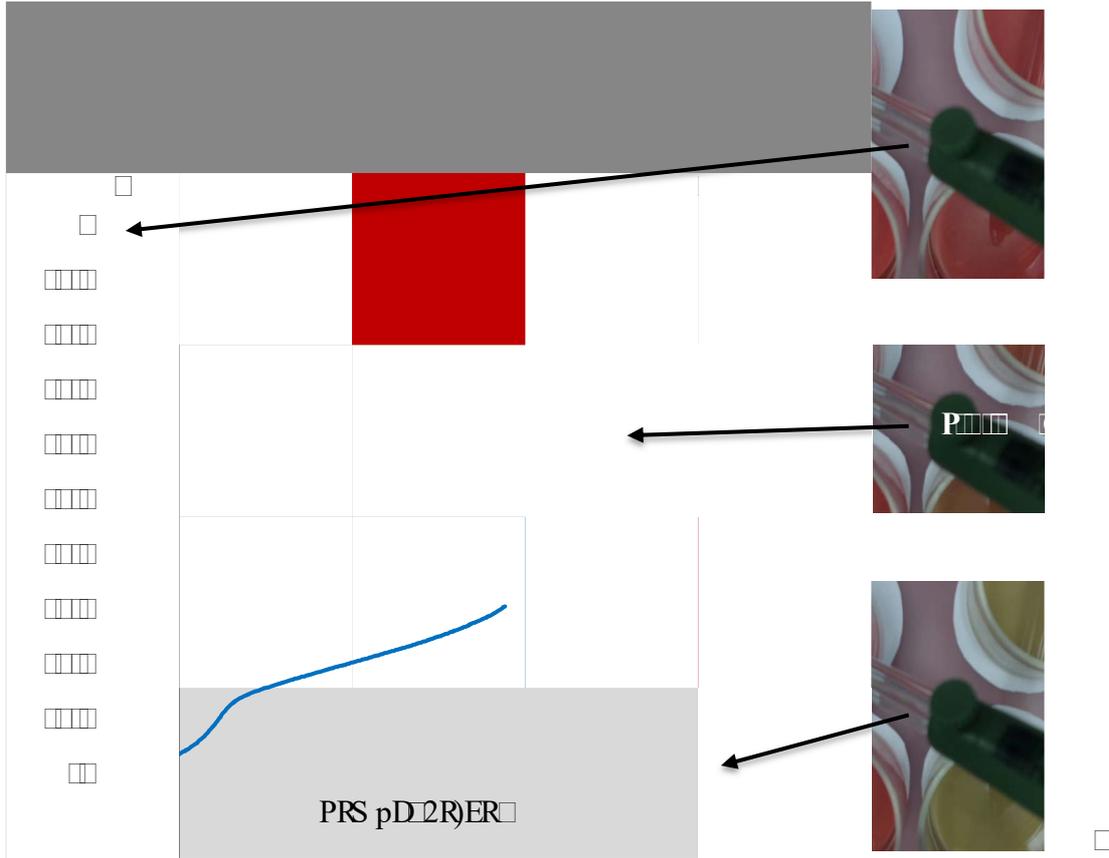
□\*ÉG□ □uÉ\* □É□\*Gt qh-(q bcÉ-qÉCj□ (wÉh)ÉI(wqh-CqbV-qhch(7 bch-jT \*h7□□ g□  
 (q)Élbqh-CÉx7hchÉ \*Cq-(\*É7É□ □□,□ 4□q-IE\*\*(ÉEt l qhéchb-\*ch(É□ qTEIq-ql□  
 Epc-cl jI Icb\*7ql ECIqh-jh-ql□\*Gt qh-I(q bcÉ-qÉCq I)ÉIhchÉ\*-CI□hch(7 bch-jT \*h7I□□  
 -□ p q ÉG□□ p q ÉG□□ □□□□p qÉG□□qh(ÉE-\*BÉj,(C c\*q□□

□

T. □&ff S m( DE NR p HS RE V RS R( R( R □ f E S m D n( NR D M f . L R D □ NR D □ p f D □ NR □ M f D R E V R E □  
 ). R w D h S L( R □ R( R m □ R( R p e ' □ T. □ R G R( U f S S R R S f.( R N m C O) E R □ □ □ F) m M N m V n R) E M R □  
 n M C S C) R m) U f) E D M( R S p D N R p e ' m) O S R( R R( U R N M R 6 m f. D C S ) N m L R □□

o. □ U F C D S R( R D □ f D R E V L □ □ 2 R) E R D S f S R( f □ R V R S R( M R L f) N R) E M L( R □ R p e ' □  
 p R S R( M f. U I C R □ M R D) C V R □ R D V R S R( D M R L f) N R) E M m D □ R □ □) D □ M R V 6 M R. f. □ C □ E L □ □ f. □  
 M L f.( n S C L □ □ □

□



□\*ÉG□ □uÉ\* (É□\*GqT qh-(q b)cÉ-qÉC)hC Tj- \*17(wÉh)ÉI(wqh-CqV-qhch □  
 (7bch-jT \*h7□□ g(q )ÉI(\*-É7É□ □□□ 4□q-(ÉEc- qh-\*q-□Et l hcCTj- \*17□qhéchb-\*h □  
 (É□qTEIq+qIEpc-cl jI Icb\*7qI ECIqh-jh-□q□\*GqT qh-(q bcÉ-qÉCq I)ÉIhch(7 bch-jT \*h7I □  
 □qh(ÉE- \*BÉj)(C c\*q□□□ p q ÉG□□□□ p qÉGqIq-□□ □ p qÉGqI □□- I v j x \*-(wÉh)ccT (q □  
 -jé \*ÉG□□□qh□j- qÉChcCTj- \*17qIT j \*IEcÉCh□qTEIb.cT ECIq-h-Cq□ -p q ÉGqI □□

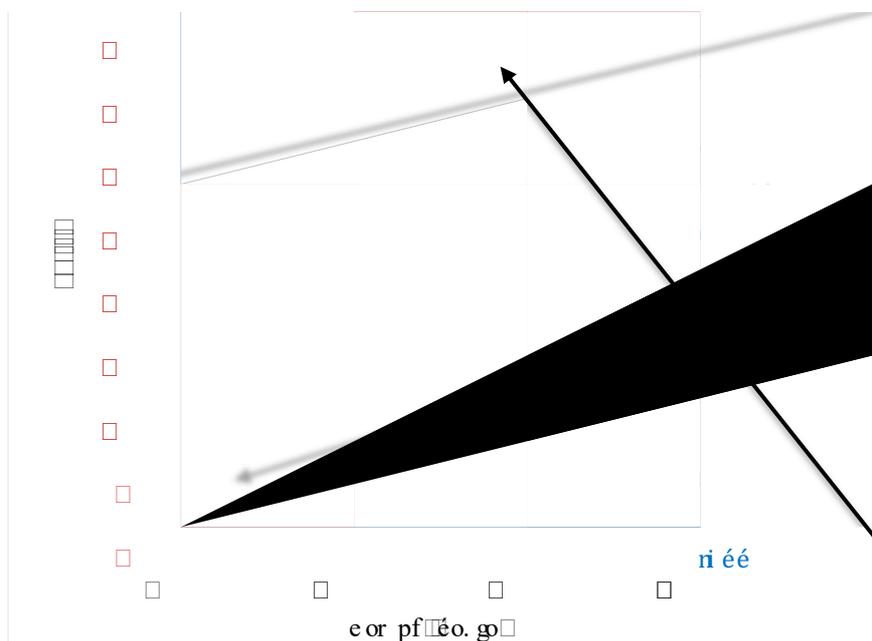
□

□ bpLRRURmVRM)-)D.f.6 □(H□ □ □□□

o . RMEC9RRpLRRURmVRM)-)D.f. □ 6□(H□□f. □ MLf.( nS CL □m□(LHm□DR□ □ □□□ RT)( □  
 RD(MR□Vf)EDNDVRS R( DMRf)NR)EID.( □S p m□LDp m□(RS pLm)ERR(□NRpe ' pRES R(□  
 (f)- f)EDMR)CVRNDVRS R( DMRf)NR)E1 R p H(fuNRM)-)DRDNR S 4S RF)R□pLRRUR □  
 p HULMR R S n□D□D□N□(pRMR□N□(□. □ □R(R□pLRRUR m□(LHm□DR□ □(□p□)m□D□E). □  
 S 4S R)-D□□ RDLDN□(DRp HLR( LDD)E□ND60)ERD□□R(□□□S f.( IR( MR(RM m□URDMRf)EIR □  
 MR(□)RD□(URF)Cm□(Lp HLR( L M m□N□m□(R p HULMR R S n□D□E). □N p DMRRS p D p ND□f)E(□  
 R p ND□m□60)ER □□ S f.( IR m) DC). □ UFCRS R( □F)C□UE□D□f.M □m)□ML( □M)VRS R( □MR  
 f)NR)Em) If( □MR □ 2R) RDMR□pLRRUR□T. □Uf.U□ND□. □ M□□VRS R( D□f.( m)D□fIDREVID □  
 R(□NRpe ' □D□(□CR □URDM□)□LVfN(□.D □ R p ND□R(□FS S R m□(RM)□m□(RS pLm)ER m). R □  
 C6NR.UR)D□NDVRS R( DMRf)NR)E□(□)□□ □□□NR pRS REVRS R( □R(RES CR m) If )(□  
 MR R )ER□(NRDRf.M m)If( MR □ R)ER□□

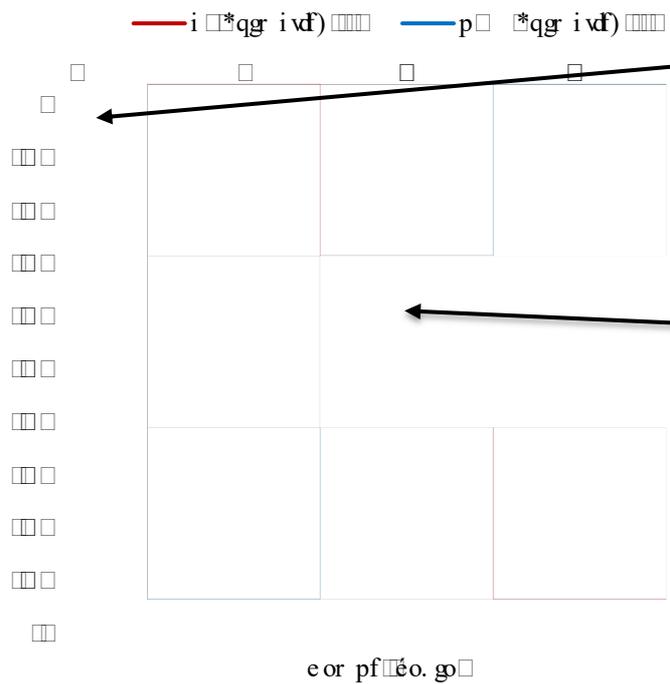
□

- 
- 



□  $xÉG$  □ □  $vÉ^*É^*Gtqh-(qbcÉ-qÉCj$  □ (wÉh)ÉI(wqh-CqbV-qhch(7 bch-jT  $\%7$  □ □ g □  
(q)ÉIbqh-CÉx7hchÉ  $\%Cq-(^*ÉjÉ$  □ □ □ □ 4 □ □  $IE^*(EEt l qhÉchb-^*ch(É qTEI q$  □  
-qIepc-cl jI Icb $\%7qI ECIqh-jh$  □ □  $\%Gtqh-I(qbcÉ-qÉCq I)ÉIhchÉ-^*CI$  □ □ hch □  
(7 bch-jT  $\%7I$  □ □ □ □ □  $pqÉGqI$  □ □ □ □  $pqÉGqI$  □ □ □ □  $pqÉGqI$  □ □ □ □  $CE-BÉj(C c^*q$  □ □

- 
-



bV-qh̄c h□  
 (/ bch-jI n/□□ g(q) E1bqn-Cæx/q-(τ -E)jE□ □,□ □4□q-(E)E-c- qh- \*q-□  
 (wc1: (cC7(Éb- \*ch□Et l hcCTj- \*I7□qhéchb- \*ch(É□ qT EIq- qIE)pc-cl jI Icb\*7qI EClqh-jh- □q□  
 ' \*Ct qh-(q bcÉ-qÉCq I)ÉIhch(7 bch-jT \*n7I□qh-CE- \*BÉj,(C c\* q□□□ p̄q ÉG□  
 -□□□□ p̄qÉGIq- □□ □ p̄qÉGI□□-I vjx\*-(wÉhfccT (q -jé \*ÉG□□□ q hxCjh(q ÉCChCTj- \*I7qI□  
 q-EcÉCÉh-□qT EIbcT EClqh-Cq̄ p̄q ÉGI□

□□□□□rCG nēA□ACEh Llar lenÉgA n□

□□ fs pñmCG.R. (HNR-)DR(NhV/GnMRE)f0R □

□Vnq (MRU2m0REMRS CQR) □R(ML2RNR □pnDn( m) b( RDDE) MnV GmMRR □S CQR) □RS C□  
 CM)D(EN).R (MRC9RRpLRRURmL(LHmNDLR(TNRmpf)E I)( (MRFS pmRENDRVRS R( DMR  
 U)NR)EMRnV GmMRE)0R □R(MRDF. □-)DmDDUCf( C MEdV f(EDR-)DRD(ELNRS R( ). □S CQR) □  
 S S L(C)R(hf)E UR(RRbpLRRUR).R (R5(RR(D. □-)DmDDUCf( (L(LHU)pLHLD( pMULD□  
 □□MndNRURC( RUS n(C)R□ R-)DmD)ICNR S 4S RpH( fufNRf)RnbpLRRURpELLMR(R□  
 R(RD)RpHLR( LDE N60)ER □ R(2m) (ç0m)U2R(NR-)Dp)E R(R 2m) (ç MFC(RNR-)DMSL m) □  
 □□□1 RDHDNn(D RpHLR( R( (NRD VnR)EDMRm MRNn V GmMRH)0R □(En(CLR)m)□□□ □U6□  
 □2np(CRUu□□□ R(MRDF. □-)DMSL m)□□ T. □URF)CUF.U RER (NR-)DNRDVNR)EDMRh□ f.( Nn  
 S 4S R(RMnURF)RpELLMR S R( R(MR) VRS R( Df( (L(LfIDREVID)NRpHS (REMRE)0R V6□  
 ç□m). z(HRR( (R□ 2R)ERDR(□ 2R)ERDR(NRDRf.M MRh).z (Rç(H)0R (f.U LR( (R□ 2R) ERD□

et 370 heures. Pour la viande, les valeurs de  $a^*$  mesurées suivent les mêmes tendances que le jus, c'est-à-dire tout d'abord une faible décroissance ( $t < 80$  heures) puis une chute plus importante ( $t < 288$  heures) et enfin un plateau (figure 56, à gauche). Un virement de couleur de rouge à verdâtre a été identifié mais aucun virement de verdâtre à rouge foncé n'a été observé (figure 56, photos). Les valeurs normalisées représentées sur la figure 56 (à droite) montrent les mêmes tendances entre les valeurs de  $a^*$  normalisées du jus et de la viande avec une chute démarrant un peu avant 96 heures et un croisement à 144 heures. Cependant, la chute a été plus rapide pour les valeurs de  $a^*$  du jus que pour celles de la viande. Le jus est donc un bon milieu mimétique en ce qui concerne les virements de couleur bien que la cinétique du virement soit plus rapide dans le jus que dans la viande (ce qui est cohérent car les coefficients de diffusion sont différents).

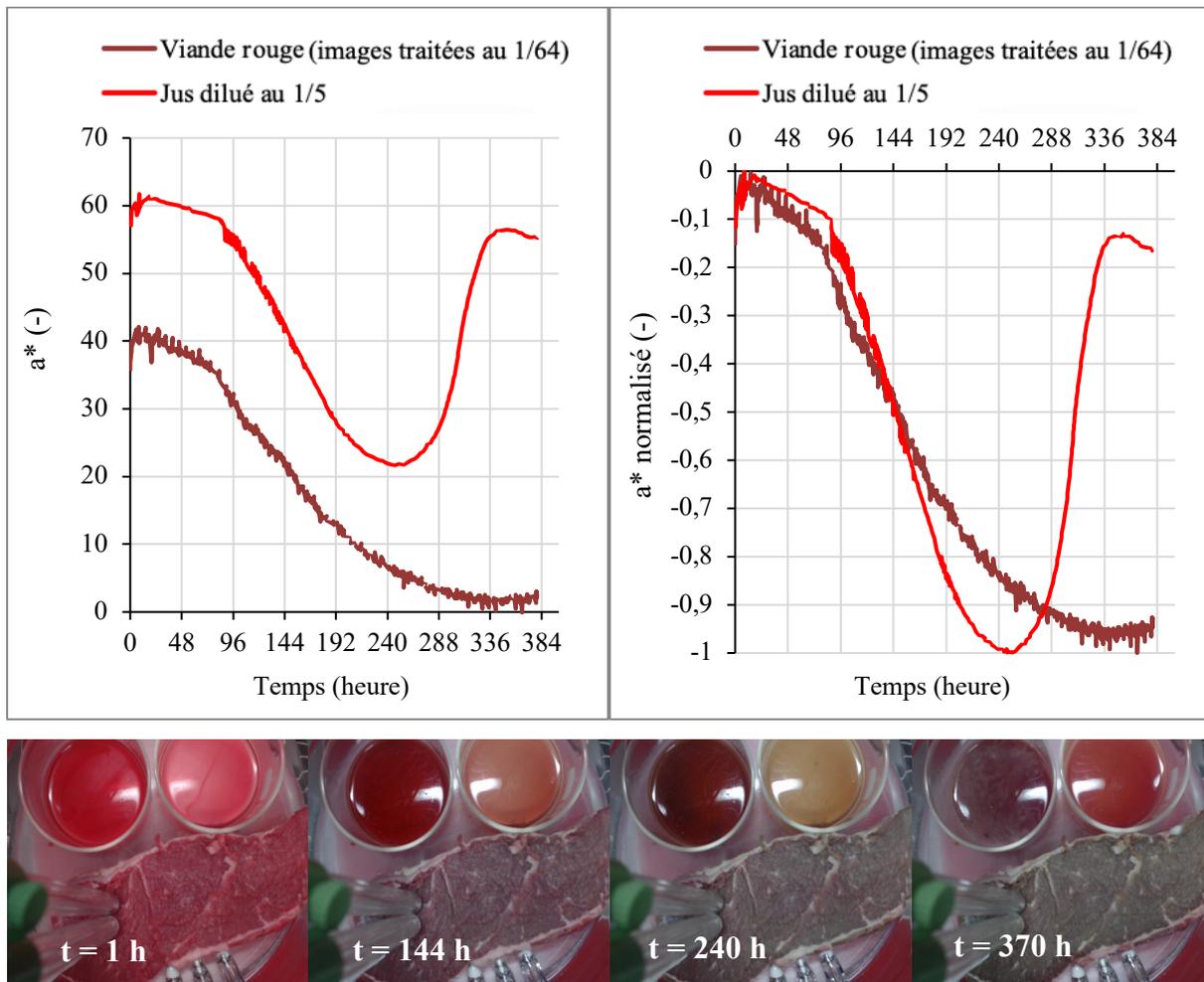


Figure 56 : Suivi du virement de couleur ( $a^*$ ) d'une entrecôte et de son jus associé (50 mL pur à gauche et 50 mL dilué au 1/5 à droite) à 4 °C en fonction du temps (à gauche), les valeurs de  $a^*$  normalisées en fonction du temps (à droite) et les photos associées présentant leurs virements de couleur à  $t = 1$  heure,  $t = 96$  heures,  $t = 240$  heures et  $t = 370$  heures.

### 1.1.3.2 Calibration des sondes rédox construites en interne

Le jus de viande étant un bon milieu mimétique de la viande pour étudier les virements de couleur, il a été décidé d'utiliser les sondes rédox développées en interne dans le jus pour effectuer leur calibration. En effet, les sondes ont été construites avec deux électrodes de travail, il n'y a donc plus d'électrode de référence et les valeurs ne peuvent pas être comparées aux valeurs présentées précédemment. Pour cette expérience, une sonde rédox commerciale (Hanna Instrument) et la sonde rédox développée en interne ont été introduites dans du jus dilué au 1/5 non filtré. Le protocole de récupération du jus est le même que pour l'expérience précédente. Sur la figure 57 sont représentés les résultats de cette expérience. La sonde commerciale a mesuré le pOR qui a suivi les deux virements de couleur de la même manière que les expériences précédentes. De plus, l'ordre de grandeur des valeurs du pOR est similaire. La sonde développée en interne a aussi mesuré le pOR qui a suivi les deux virements de couleurs. Cependant, les valeurs de pOR mesurées avec la sonde développée en interne sont supérieures aux valeurs de pOR mesurées avec la sonde commerciale. Le delta entre les valeurs est un delta positif de 700 mV (figure 57, à gauche). Les courbes des valeurs de pOR normalisées montrent que les deux virements sont bien mesurés par les deux sondes et que les tendances sont quasiment les mêmes (figure 57, à droite). Suite à ces résultats dans le jus, la sonde développée en interne pour les milieux semi-solides semble être très prometteuse pour les tests sur la viande.

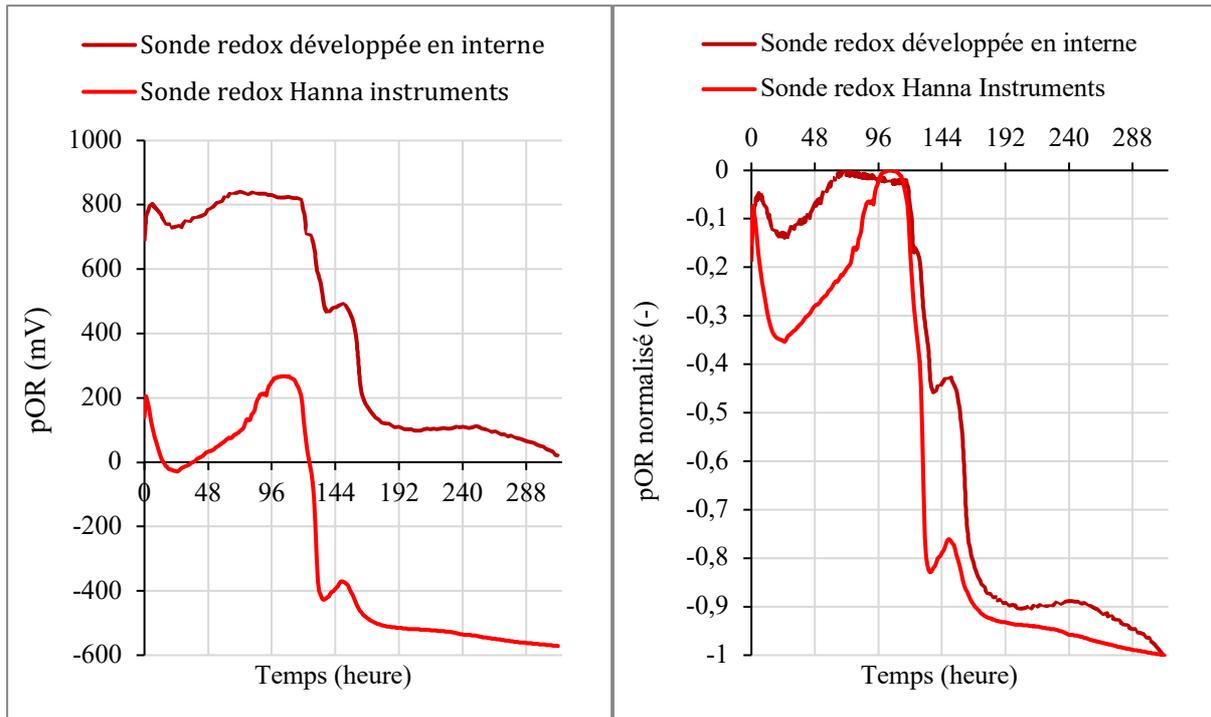


Figure 57 : Suivi des pOR mesurés avec une sonde redox commerciale (Hanna Instrument) et une sonde redox développée en interne dans un jus d'entrecôte dilué au 1/5 non filtré au cours du temps (à gauche) et les valeurs de pOR normalisées en fonction du temps (à droite).

## 1.2 Résultats sur la viande rouge

Suite aux différents résultats obtenus avec le jus, il a été décidé de tester la sonde redox développée en interne pour suivre les virements de couleur de la viande rouge dans des conditions semi-industrielles. Les tranches d'entrecôte ont été mises en barquette thermo-soudées et les sondes ont été placées sur la viande avant l'opperculage sous air (21 % d'oxygène). L'expérience a été réalisée avec 6 échantillons (6 tranches successives) provenant du même muscle. En ce qui concerne la localisation de la sonde sur la viande, elle a été positionnée dans le muscle composant l'entrecôte qui a viré le plus souvent d'après d'autres expériences réalisées durant cette étude. A ce stade, la détermination de la localisation précise du départ du virement de couleur n'est pas le point essentiel de l'étude. La première étape est de tester la sonde sur le milieu viande afin de voir si celle-ci fonctionne. Les valeurs de  $a^*$  ont été mesurées au plus proche de la sonde (à quelques mm) et représentent 1/64 de la tranche de viande. Les résultats de cette expérience sont représentés sur la figure 58. Au début de l'expérience, la valeur de  $a^*$  est de 20 et la viande est de couleur rouge. Une chute brutale a été mesurée au bout d'environ 5 heures. Un virement de couleur a été détecté au niveau de la sonde redox après 20 heures d'expérience. Une couleur verdâtre est alors observable au niveau de la

sonde redox. Au bout de 96 heures, les valeurs de  $a^*$  atteignent un plateau correspondant à une couleur verte marquée sur la viande. Pour le pOR, les tendances sont les mêmes que ce qui vient d'être présenté, les valeurs allant de 460 mV à 520 mV pendant l'augmentation du pOR, puis un plateau de quelques heures a été mesuré et enfin un début de chute se terminant à une valeur de 485 mV au bout de 144 heures (figure 58, à gauche). Les valeurs normalisées sont présentées sur la figure 58 à droite. Cette normalisation met en évidence que le pOR suit le virement de couleur (passage de rouge à vert) et qu'il y a un croisement au bout de 20 heures qui correspond au début du virement de couleur. La sonde redox développée en interne permet donc bien de suivre le virement de couleur dans le milieu semi-solide qu'est la viande.

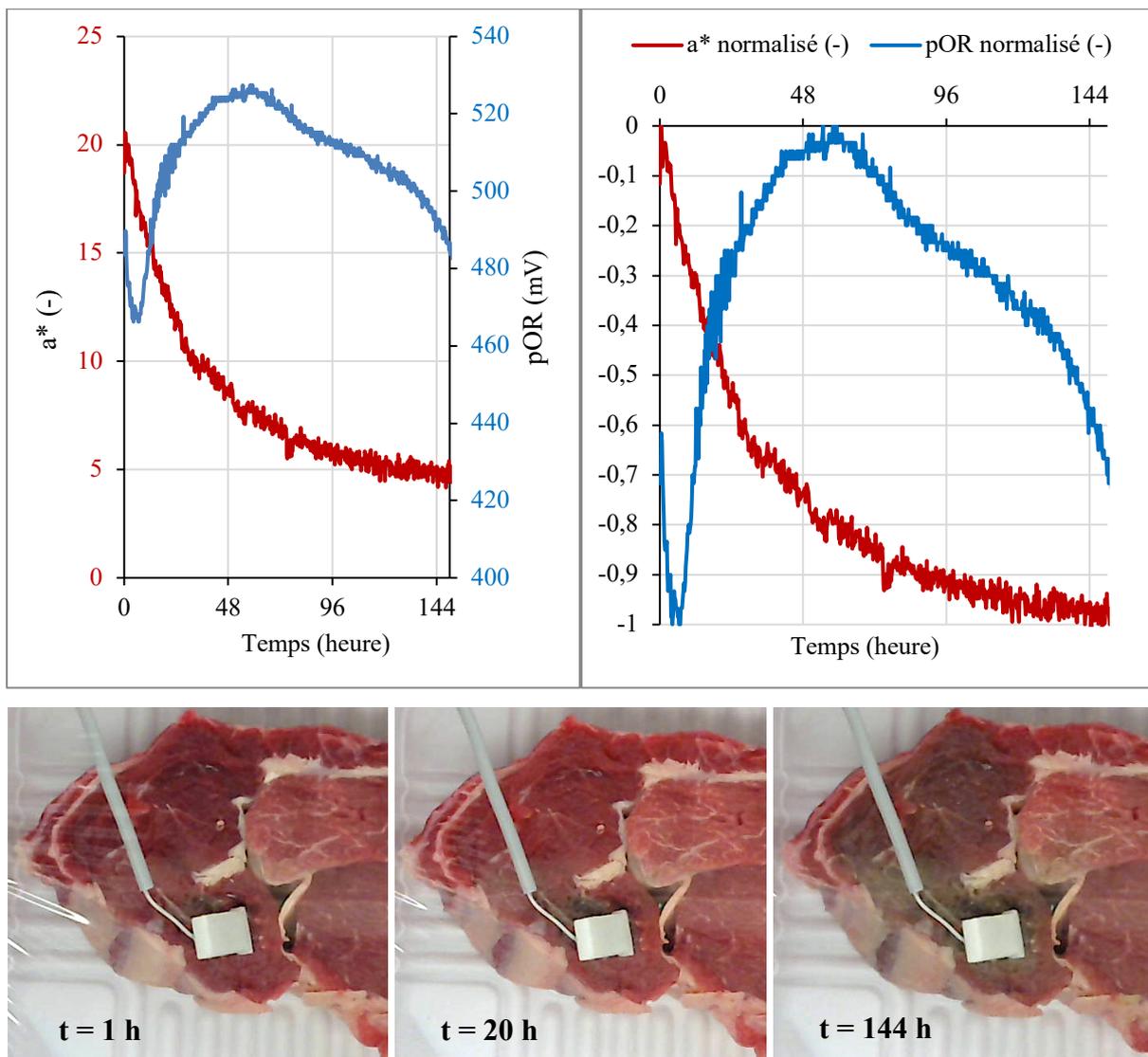


Figure 58 : Suivi du virement de couleur d'une entrecôte en barquette thermoscellée sous air et du pOR mesuré avec une sonde redox développée en interne à 4 °C en fonction du temps (à gauche), les valeurs normalisées en fonction du temps (à droite) et les photos associées présentant leurs virements de couleur à  $t = 1$  heure,  $t = 20$  heures et  $t = 144$  heures.

### 1.3 Discussion

Dans le cadre de l'utilisation du jus de viande comme milieu mimétique de la viande, le contenant, le volume et la dilution de celui-ci ont une influence sur la couleur initiale du jus et donc sur les valeurs de  $a^*$ . Le volume qui a été retenu est 50 mL afin que les sondes redox utilisées puissent être totalement immergées. En ce qui concerne la dilution, il a été décidé de modifier le jus le moins possible pour rester au plus proche du jus pur, la dilution au 1/5 dans de l'eau milliQ a donc été sélectionnée. Plus le jus est dilué plus la quantité de myoglobine (Mb) présente diminue, ce qui peut influencer les résultats. En effet, les muscles contenant de fortes concentrations en Mb apparaissent plus sombres que ceux en contenant moins. Ces différences de concentrations en Mb, du taux de consommation d'oxygène (OCR) et de taux d'autoxydation peuvent expliquer les variations de stabilité de la couleur entre différents muscles (Renner and Labas, 1987). Les étapes de préparation du jus sont toutes aussi importantes et doivent être contrôlées afin de s'assurer qu'elles impactent le moins possible les virements de couleur. Le jus pur n'est pas un bon choix pour suivre les virements de couleur car il est trop foncé. Une dilution au 1/5 a été appliquée avec deux eaux différentes. Les résultats ont montré que le virement de couleur a été ralenti avec l'utilisation de l'eau physiologique. En effet, l'utilisation de NaCl est bien connu comme conservateur et cela peut expliquer ce ralentissement bien que l'étude de Maruitti and Bragagnolo (2017) a mis en avant l'effet pro-oxydant du NaCl sur l'oxydation des lipides et donc sur les virements de couleur. En revanche, l'eau milliQ a le même comportement que l'eau distillée et selon l'expérience de Thiem *et al.* (2005) sur la préparation du jus de viande, l'eau distillée a été utilisée et les composants dans le jus de viande n'ont pas été modifiés après la dilution. Cela valide ainsi la méthode utilisée dans cette étude. La différence de taille du morceau utilisé n'a pas eu d'effet sur le virement de couleur dans le jus de viande. En effet, l'hypothèse serait que la composition des jus obtenus soient la même bien que la taille des morceaux diffère. L'identification et la composition des composants des jus n'ont pas été réalisées par manque de temps et de matériel. En revanche, le rendement du jus obtenu à partir des petits morceaux a été supérieur au rendement du jus provenant du morceau entier (3 à 4 fois plus élevé). L'augmentation de la surface due à la découpe pourrait expliquer cette différence de rendement. L'expérience sur les conditions d'emballage de la viande avant congélation a permis de mettre en avant le fait que le jus issu de la viande congelée sous air a une valeur de  $a^*$  supérieure à celle de la viande congelée sous vide. Cela peut s'expliquer par le fait que la viande emballée sous air a pu s'oxygéner pendant les étapes de congélation et décongélation entraînant donc une valeur plus élevée au départ. Cependant,

aucune différence n'a été observée sur le virement de couleur en lui-même. Selon Baran *et al.* (1970), lorsque de la viande fraîche est emballée avec des films ayant une imperméabilité élevée à l'oxygène (sous vide), la croissance anaérobie est favorisée et la croissance des microorganismes aérobies est limitée contrairement à un emballage sous oxygène (sous air). De plus, l'étude de Daniloski *et al.* (2018) a également montré des résultats similaires par rapport à ces deux types d'emballage. Les différents types d'emballage peuvent avoir une influence sur le virement de couleur à cause des microorganismes, cependant l'étape de filtration a retiré tous les microorganismes des jus. Cela pourrait expliquer pourquoi il n'y a pas de différence sur le virement de couleur entre les deux conditions d'emballage. L'étape de centrifugation n'a pas impacté le virement de couleur mais uniquement la valeur de  $a^*$  initiale. En effet, le jus non centrifugé a une valeur de  $a^*$  supérieure au jus centrifugé. Cela peut s'expliquer par le fait que le jus ayant subi une centrifugation a été clarifié et est donc plus clair que le jus non centrifugé. De ce fait, seule la valeur de  $a^*$  a été impactée. En effet, l'étape de centrifugation a pour but de standardiser les échantillons de jus en retirant les éventuels débris récupérés dans le jus après la décongélation et de faciliter la filtration. À la suite de ces résultats sur le protocole d'obtention du jus, les expériences sur le suivi du virement de couleur par le pOR ont pu être effectuées dans le jus filtré. En effet, ce premier test a été réalisé sur du jus filtré afin de mesurer un virement de couleur non impacté par la microbiologie. Souvent le suivi du pH est un bon indicateur des changements physicochimiques et c'est une méthode facile à mettre en place ; cependant pour la prédiction de virement du couleur dans le jus de viande dilué, le pH n'est pas ressorti comme un bon indicateur du virement de couleur. En effet, le pH et notamment le pH ultime peut influencer négativement la stabilité de la viande rouge quand le pH ultime est inférieur ou supérieur aux valeurs normales situées entre 5,4 et 5,8 (Faustmann et Cassens 1990a et 1990b ; Ledward, 1985 ; Zhu and Brewer, 1998). Cependant, il ne permet pas de suivre le virement de couleur. De plus, de manière générale, le changement de pH dans la viande est induit par des microorganismes comme des *Pseudomonas* ou encore des bactéries lactiques (Stavropoulou *et al.*, 2018). Cependant, nos expériences ont été réalisées avec du jus de viande filtré donc décontaminé, ce qui explique pourquoi le pH ne varie que très peu. Pendant les expériences sur les jus filtrés ou non filtrés à 4 et 20 °C et sur la viande à 4 °C, il a été observé que le pOR permet de suivre les virements de couleur. En effet, une symétrie a été mise en évidence entre cette grandeur thermodynamique et les virements de couleur. Pendant le virement de couleur, le fer hémunique s'oxyde et passe de l'état ferreux à l'état ferrique (Faustman *et al.*, 2010). L'augmentation du potentiel d'oxydoréduction serait donc liée à la perte de la coloration rouge de la viande qui est étroitement liée à l'oxydation du fer hémunique.

Dans les travaux de Ke et al. (2017), le potentiel d'oxydoréduction du muscle *psoas majeur* (PM) a augmenté de façon significative entre 0 et 7 jours et a été associé à une augmentation du % de MetMb et une diminution de la stabilité de la couleur (valeurs de  $a^*$ ). Aussi le pOR du muscle *longissimus lumborum* (LL) ne présentait pas de variation significative au cours du temps, et a été associé à une stabilité de la couleur du muscle. Nous avons confirmé les observations de Ke et al. (2017) dans le jus de viande à 20 °C et à 4 °C par l'augmentation du pOR traduisant l'oxydation du milieu pendant la perte de couleur de rouge du jus. En effet, l'expérience de comparaison du virement de couleur entre la viande et son jus a mis en évidence que le jus et la viande ont un début de virement de couleur simultané mais que la cinétique du virement est plus élevée dans le jus. Le jus étant un milieu liquide, les réactions physicochimiques sont plus rapides. La température peut aussi avoir une influence sur la cinétique du virement de couleur. Les courbes de virements de couleur du jus ou de la viande à 4 °C sont généralement composées de trois phases dans notre étude. Tout d'abord, un plateau qui correspond au temps de latence, c'est-à-dire le temps nécessaire à l'oxydation pour se mettre en place, puis une chute assez brutale correspondant à l'oxydation (passage de rouge à jaune/marron) en elle même et enfin une phase de plateau une fois le virement terminé. En revanche, dans les expériences à 20 °C, cette première phase de plateau est plus courte, voire parfois inexistante et le temps de virement est deux fois plus court. En effet, à 4 °C, les virements ont débuté entre 96 et 144 heures pour le jus et la viande et se sont terminés au bout de 144 et 240 heures pour le jus et la viande respectivement alors qu'à 20 °C les virements ont débuté rapidement entre 1 et 10 heures selon les jus et se sont terminés au bout de 24 heures. Cela s'explique par l'oxydation de la myoglobine qui est cinétiquement favorisée et plus rapide à des températures élevées (Gutzke and Trout, 2002; Faustman et al., 2010). Cependant, pour l'expérience sur le virement de couleur de la viande avec le suivi du pOR avec la sonde rédox développée en interne à 4 °C, le virement de couleur a été plus précoce que pour l'expérience de comparaison du virement de couleur de la viande et de son jus. Deux hypothèses peuvent être émises. La première serait que cette viande est plus sensible au virement de couleur qu'une autre de part sa variabilité interne. La deuxième serait que la sonde redox a favorisé le virement de couleur. En effet, bien que la sonde redox développée en interne suit correctement le virement de couleur, avec un delta presque constant comparé aux valeurs mesurées avec la sonde redox commerciale, le fer oxydé qui la compose peut avoir initié le virement de couleur à l'endroit où il a été inséré. De plus, la constatation a été la même pour les 5 autres tranches de viande. Donc soit les sondes redox ont été placées exactement au bon endroit à six reprises soit les sondes ont favorisé le déclenchement du virement de couleurs sur les 6 échantillons

différents. Malheureusement, la deuxième hypothèse semble être la plus probable. Warner *et al.* (2017) ont montré que la concentration en fer a un impact sur le virement de couleur de la viande de mouton. En effet, le muscle SM était moins stable en couleur que le muscle LL sous un conditionnement sous atmosphère modifiée à haute teneur en oxygène, en particulier lorsque le muscle présentait une teneur élevée en fer. Lorsque le muscle présentait de faibles niveaux de fer, le SM était plus stable à la couleur. Afin que ces sondes fonctionnent, l'utilisation de deux électrodes métalliques de travail a été nécessaire pour construire la sonde. En effet, il n'existe pas d'électrode de référence pour les milieux semi-solides. La première électrode est une tige de platine qui est inerte et qui prend la valeur du pOR de la solution dans laquelle elle est. La deuxième électrode est une tige de fer oxydé (non inerte, qui aura tendance à se réduire puisque l'oxyde de fer est perméable à l'air et à l'eau) afin que la différence entre les deux valeurs de pOR mesurées ne fassent pas 0. En effet, si les deux électrodes avec des matériaux inertes (métaux nobles) avaient été utilisés comme le platine et l'or, la différence de pOR mesurée est de 0 puisque chaque électrode prend la valeur du pOR de la solution, en l'occurrence ici, la même solution. Donc lors de sa fabrication, il a été décidé d'utiliser du fer oxydé afin de ne pas rajouter d'autres éléments métalliques comme du cuivre ou du zinc dans le jus ou dans la viande qui auraient pu eux aussi impacter les virements de couleur par des phénomènes de complexation. De ce fait, l'utilisation de ces sondes posent finalement problème et demande à être améliorées. Enfin suite à ces expériences, la présence de deux virements a été observée grâce à la forme des courbes des valeurs de  $a^*$  et grâce au suivi du pOR au cours du temps. Le premier virement correspond au passage de rouge vif à jaune/marron pendant la chute des valeurs de  $a^*$  et le second virement de jaune/marron à rouge foncé durant l'augmentation presque symétrique par rapport à la chute des valeurs de  $a^*$ . Cependant, le deuxième virement n'a pas été observé à chaque expérience mais uniquement dans les expériences où le jus n'a pas été filtré donc décontaminé, et sur les expériences avec la viande. Les filtres sont de diamètre 0,22  $\mu\text{m}$  et sont généralement utilisés pour stériliser un milieu liquide qui ne peut pas être autoclavé par exemple. L'hypothèse serait que la présence de microorganismes entraîne ce deuxième virement de couleur dans les jus non filtrés. La croissance microbienne étant plus rapide dans les milieux liquides, cela expliquerait que ce deuxième virement n'ait pas été détecté avec la viande. De plus, la chute de pOR mesurée indique que le milieu est en train de se réduire et prédit ce deuxième virement. Cette diminution est observée dans l'expérience avec la viande et la sonde redox développée en interne, ce qui indique que la viande pourrait avoir un virement de marron à rouge mais dans un laps de temps plus long que dans le jus. Les hypothèses sont que les microorganismes réduiraient le milieu

forçant ainsi la réduction de la MetMb en DeoMb ou en OxyMb, ou ils agiraient directement sur la MetMb en la transformant DeoMb ou en OxyMb. L'hypothèse de la formation de nouveaux composés dérivés de la myoglobine n'est pas à écarter à ce stade de l'étude (cholémयोगlobine et/ou sulfomyoglobine). La microbiologie aurait donc un rôle à jouer sur les virements de couleur et ce facteur doit donc être étudié afin de pouvoir développer de façon fiable un modèle du virement de couleur de la viande rouge par la suite.

## 2. Rôles de la microbiologie sur les virements de couleur

Les microorganismes naturellement présents à la surface de la viande rouge peuvent impacter les virements de couleur. Cette partie de l'étude a pour but d'identifier et de quantifier l'évolution des différents consortia notamment bactériens se trouvant naturellement sur la viande bovine et de déterminer leurs possibles impacts dans les virements de couleur. Pour cela, le potentiel d'oxydoréduction, l'état redox de la myoglobine et la quantité de microorganismes présents dans des jus de viande ont été suivis durant 15 jours. Les jus utilisés ont été obtenus à partir de muscles entrecôtes découpés en morceaux de 80 g emballés sous air avant l'étape de congélation/décongélation. Le but était de récupérer un maximum de jus, et pour ne pas modifier leurs caractéristiques, les jus n'ont pas été dilués impliquant une importante quantité de jus pour les 15 jours d'analyses. L'impact de la taille du morceau de viande utilisé et des conditions d'emballage ont déjà été expérimentés précédemment et les résultats n'ont mis en évidence aucun impact sur la cinétique du virement de couleur des jus. De plus, les jus obtenus n'ont pas été centrifugés afin de ne pas culoter les microorganismes. Certains échantillons ont été filtrés afin de pouvoir comparer l'impact de la microbiologie. Les expériences ont été réalisées en dupliqua pour chaque condition, filtrée ou non filtrée, sur 3 jus différents. Les mesures du pH et du pOR ont été effectuées toutes les 15 min et la mesure des pourcentages des formes redox de la Mb et la microbiologie (identification et quantification) ont été réalisées une fois par jour pendant 15 jours. Les résultats seront donc présentés en jour et non pas en heures afin d'alléger les graphiques et de faciliter la lecture. Le jus de viande a été suivi selon différentes conditions afin de mettre en avant le rôle des microorganismes dans le changement de couleur. Le même jus a été séparé en deux (2 x 140 mL), une partie a été gardée native (jus ( $\pi$ )), la seconde partie a été filtrée à 0,2  $\mu\text{m}$  afin de la rendre stérile (jus ( $\varphi$ )).

## 2.1 Résultats sur le jus

Les jus de viande issus du muscle entrecôte de 3 jeunes bovins différents ont été utilisés, en séparant à chaque fois une partie filtrée ( $\varphi$ ) et une partie non filtrée ( $\pi$ ). Une vérification de l'absence de biais entraînés par certaines manipulations comme l'agitation du jus, le prélèvement dans le fond du récipient, l'extraction d'ADN ou le dépôt dans les puits pour les qPCR, est nécessaire avant de présenter et de discuter les résultats. Dans la partie suivante, les résultats exposés indiquent qu'il n'existe aucune différence entre un jus agité avant le prélèvement et un jus non agité. L'absence de biais d'extraction ou de dépôt a pu être vérifiée (annexe 17). La mesure d'absorbance à 600 nm présente un biais dû à la composition même du jus. Les valeurs sont faussées malgré le retrait de l'absorbance du jus filtré à celle du jus non filtré. Ces données ne seront donc pas exploitées lors de la discussion. Aucune différence d'évolution n'est observable entre les différents triplica (expériences 1, 2 et 3), seule la vitesse des phénomènes observés diffère. Afin d'alléger la suite de ce manuscrit, seuls les résultats de l'expérience 1 (suivi du pOR, des pourcentages des formes rédox et de la quantité de microorganismes dans du jus de viande pur filtré) seront présentés, les autres étant disponibles en annexes (annexes 18 et 19).

### 2.1.1 Résultats dans le jus filtré

#### 2.1.1.1 Suivi physico-chimique

Le pH du jus filtré de l'expérience 1 décroît faiblement durant la durée du suivi (entre 5,41 et 5,04). Le pOR du jus ( $\varphi$ ) augmente de 22 à 111 mV (figure 59). Les légères variations visibles le premier jour sont dûes au temps de stabilisation du pOR. Une phase de plateau s'observe au pOR maximum à partir du jour 10.

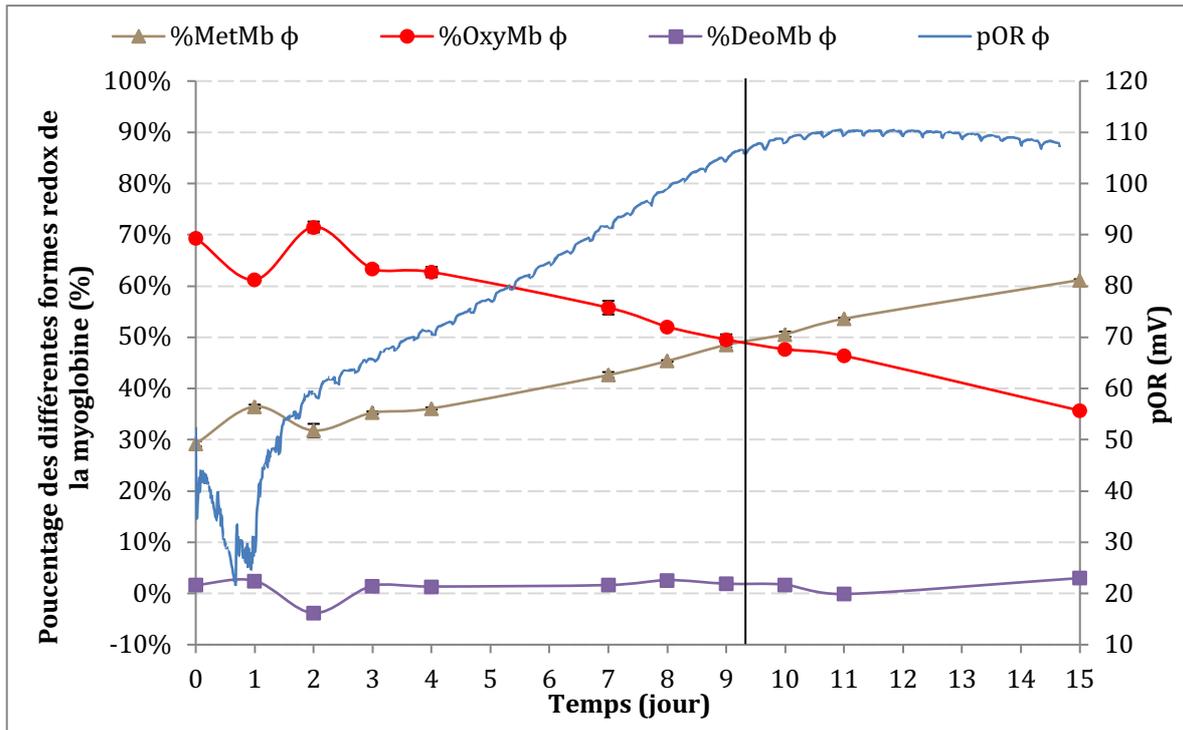


Figure 59 : Évolution des pourcentages des différentes formes redox de la myoglobine et du potentiel d'oxydoréduction (pOR) dans le premier jus filtré ( $\phi$ ) en fonction du temps. %MetMb, %OxyMb et %DéoMb sont respectivement les pourcentages de MetMyoglobine, d'OxyMyoglobine et de DésoxyMyoglobine. Les barres d'erreurs sont les écart-types calculés à partir des triplicata des spectres d'absorbance mesurés. Elles sont inférieures à la taille des symboles utilisés. Le croisement à 50% de MetMb et 50% d'OxyMb correspond à l'arrivée au maximum de la courbe de pOR et au passage à la phase de plateau et est schématisée par une barre verticale noire.

### 2.1.1.2 Spectroscopie UV-visible du jus filtré

La spectroscopie UV-visible des échantillons de jus permet de quantifier les différentes formes de myoglobine dans le jus à un temps donné. Dans la première expérience (figure 59), la forme majoritaire en début de suivi est l'OxyMb ( $69 \pm 1\%$ ). La MetMb augmente progressivement au cours du temps (entre ( $29 \pm 1\%$ ) et ( $61 \pm 1\%$ )). L'OxyMb décroît symétriquement à l'augmentation de MetMb (jusqu'à ( $36 \pm 1\%$ )). La DéoMb reste stable, entre ( $-4 \pm 1\%$ ) et ( $3 \pm 1\%$ ). Au début de la phase de plateau de pOR, il y a autant de MetMb que d'OxyMb dans le jus.

### 2.1.1.3 Suivi des communautés microbiennes

Un dénombrement en gélose profonde a été réalisé pour chaque prélèvement des 3 jus ( $\phi$ ) afin de vérifier leur stérilité le long du suivi. Aucun microorganisme n'a été observé pour les deux premières expériences. En revanche, après quatre jours de suivi, une contamination

microbienne a été constatée dans le troisième jus. Il a donc été nécessaire de le décontaminer une nouvelle fois de la même façon que celle décrite en figure 34. Le suivi des mesures a donc été poursuivi.

## 2.1.2 Résultats dans le jus non filtré

### 2.1.2.1 Suivi physico-chimique

De même que dans le jus filtré, le pH du jus non filtré évolue peu. Il décroît jusqu'à un minimum pour augmenter légèrement en fin de suivi. Il varie entre 5,10 et 5,58. Après un jour de stabilisation, le pOR augmente jusqu'à un maximum au jour 6 avant de chuter brutalement à partir du septième jour (figure 60). Un pallier est ainsi atteint puis, une nouvelle chute de pOR est observable à partir du jour 11. Le pOR de ce jus évolue entre 78 et -151 mV.

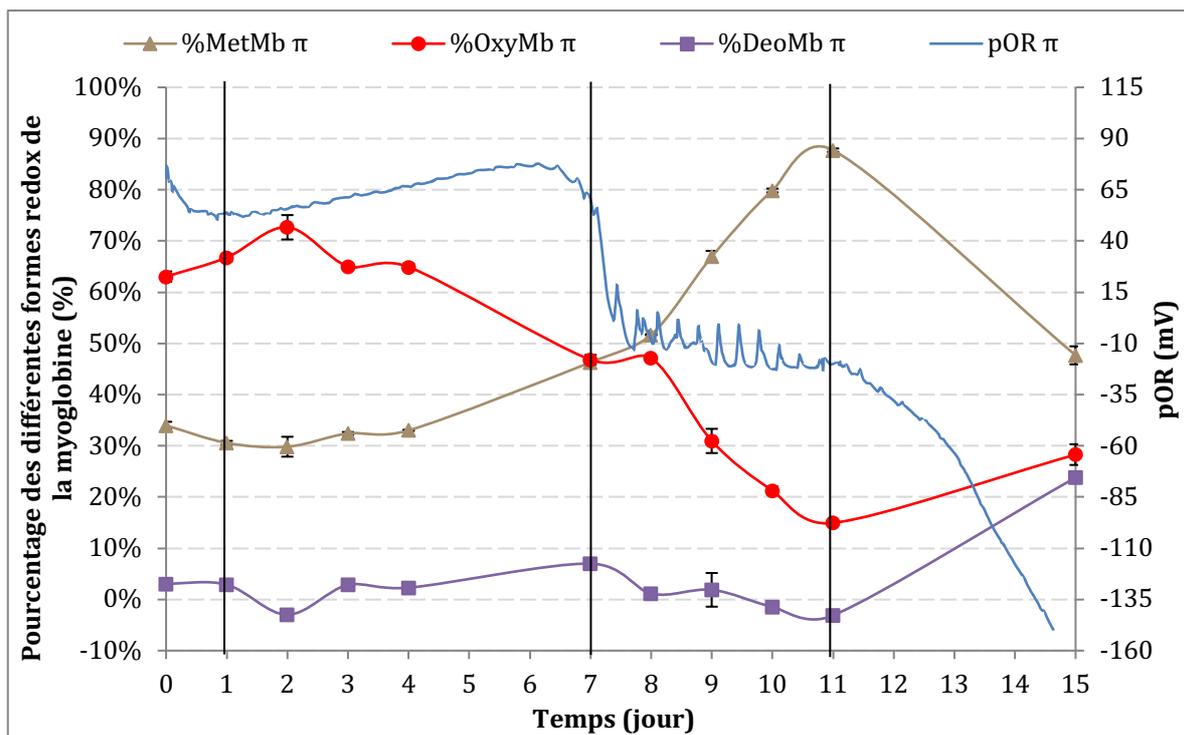


Figure 60 : Évolution des pourcentages des différentes formes redox de la myoglobine et du potentiel d'oxydoréduction (pOR) dans le premier jus non filtré ( $\pi$ ) en fonction du temps. %MetMb, %OxyMb et %DéoMb sont respectivement les pourcentages de MetMyoglobine, d'OxyMyoglobine et de DésoxyMyoglobine. Les barres d'erreurs sont les écart-types calculés à partir des triplica des spectres d'absorbance réalisés. Elles sont inférieures à la taille des symboles utilisés. Les barres verticales déterminent des changements significatifs des différentes courbes.

### 2.1.2.2 Spectroscopie UV-visible du jus non filtré

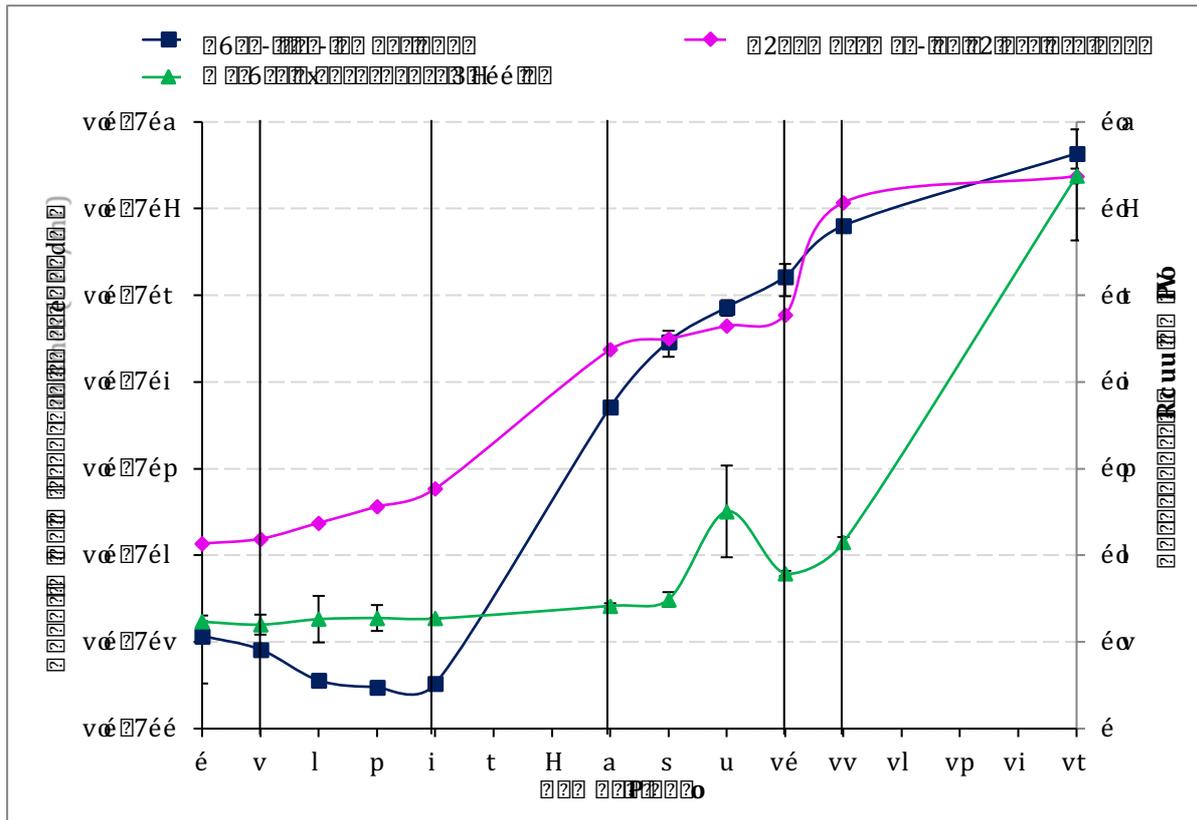
Dans le jus ( $\pi$ ) de l'expérience 1 (figure 60), la MetMb varie entre  $(30 \pm 2)\%$  et  $(88 \pm 1)\%$ . Elle augmente jusqu'à un maximum, atteint le 11<sup>ème</sup> jour, puis diminue brutalement. L'OxyMb évolue entre  $(15 \pm 1)\%$  et  $(73 \pm 2)\%$  de manière symétrique à la MetMb. Il y a autant de MetMb que d'OxyMb au jour 7. La DéoMb évolue très peu jusqu'au jour 11 (entre  $(-3 \pm 1)\%$  et  $(7 \pm 1)\%$ ) puis augmente fortement, atteignant  $(24 \pm 1)\%$ .

### 2.1.2.3 Suivi des communautés microbiennes du jus non filtré

L'évolution des communautés microbiennes du jus ( $\pi$ ) a été suivie selon trois méthodes différentes.

#### 2.1.2.3.1 Mesure d'absorbance à 600 nm

L'absorbance à 600 nm du premier jus non filtré évolue très peu les premiers jours (figure 61) allant de 0,120 à 0,128 entre les jours 0 et 4. Une légère augmentation jusqu'à 0,142 est ensuite observable entre les jours 4 et 7. Un pic d'absorbance à 0,250 est visible au jour 9. Du jour 10 au jour 15, il y a une forte augmentation de l'absorbance entre 0,179 et 0,638.



□\*ÉG□ □uÉ \*q IT \*CccCxj\*IT qI(□jhl □qECqT \*QÉIhchē) \*Cqhéchb-\*ch(É□ qTEI□gq□  
 hcT SCq(wÉh\*7écCTjh-(q Ib-c-ch\*qIEjCT gqI-□'j-É7EjC(7 hcT SCqT qh-qhx7 -cl□  
 EGéch(q g) qhcT SCq(q b□-É-qISjb -7CqhhqIEjCT gqI-bj- bÉ-7,EjC -C(wÉhqBÉjh- \*bj- \*ch□  
 (w□mEjCBs □l □

□

□ 7hcT SCqT qh-qhx7 -clqECcéh(q □

□

1 RD UN.CRD MfS IELRD R□OLNDR pF6f.MR D.( □MR UN.CRD Im(LGR.R D) T.( IR NRD□  
 MGLR( RDRopLEURURDNF)m( CLCC(GNRMIS CFFE0mCDS RDpR)( VREEM)ce(mUR)E□ S nD□  
 NUFCDDnURS CFI CR.R RIDRS INiNR□□

mD NR-)DMR Np HS OERRopLEURUR(60)ER□□□NF)m( CLCC(GNRMIS CFFE0mCDS RDRD)MR□  
 □□b□ □or □S 1 □TNR)m)OS R( RpH0ERDDVIS R( R( IRNRD-f)ED□R(□pf)E n((RCMR□ b□  
 □□or □S 1 □T.( IRNRD-f)ED□R(□ N(m).R fE(RUFCDnURM) fS IERMIS CFFE0mCDS RD□  
 -)DF)ce□□ b□□ □or □S 1 □p)CD). □pmNRE RD□m(RC(□)DF)cm□-f)E□□ fi□ NF)m( CLMR□  
 S CFFe0mCDS RD RD)□MR□ b□□ □or □S 1 □o.R□M)bc9S R□fE(R□m)OS R( n(C.□ MR□  
 S CFFe0mCDS RDRD) fIDREV fNR.R( IRNRD-f)ED□R(□ -)DF)ce□).R (F)m( CLMR□ b□□□□  
 or □S 1 □□) (RS pD6cmNMLR(D)CVC9) S R-f)E □□).R (F)m( CLMR□ b□□ □or □S 1 □R□  
 fi DREVIR□□

□

□

### 2.1.2.3.3 Etalonnage de la qPCR

Une quantité d'ADN par cellules bactériennes a été estimée. Le dénombrement par Nombre le Plus Probable (NPP) d'une culture de *E. coli* a permis d'estimer la quantité de bactéries dans 1 mL de culture à  $1,1 \times 10^{10}$  cellules bactériennes par mL. En parallèle, l'ADN extrait de cette même culture a été quantifié à  $(5,14 \pm 0,32)$   $\mu\text{g}$  d'ADN par mL.

Lors d'une qPCR, un nombre de cycle seuil (Cycle threshold, Ct) identique entre deux puits indique qu'une même quantité d'ADN se trouve dans ces deux puits. Pour quantifier l'ADN présent dans un puits lors de la qPCR, il faut un étalon réalisé avec un ADN de référence (ADN d'*E. coli* à  $1,46 \text{ ng}/\mu\text{L}$ ) et les amorces voulues (amorces ciblant les bactéries totales). Le nombre de cycles seuils obtenu pour les différentes dilutions d'ADN de référence permet d'obtenir une droite d'étalonnage (figure 62) à partir de laquelle il est possible de quantifier l'ADN. La relation entre le nombre de cycles seuils et la quantité d'ADN ( $Q_{\text{ADN}}$  exprimée en  $\text{ng}/\mu\text{L}$ ) est donnée par l'équation 5 dont l'efficacité est de 205%.

$$C_t = - 2,07\log(Q_{\text{ADN}}) + 9,13 \quad \text{Eq. (5)}$$

Grâce aux données précédentes et après une qPCR, la quantité de bactéries présentes dans le premier jus au cours du temps a pu être évaluée (figure 65). Hormis la différence visible pour les jours 1 à 4, la quantification par qPCR présente des phases d'évolution similaires à la quantification par dénombrement en gélose profonde. La quantité de cellules bactériennes initiales est estimée à  $1,2 \times 10^1$  cellules par mL. Il y a ensuite une légère diminution entre 1 et 4 jours jusqu'à un minimum de  $3,0 \times 10^0$  cellules par mL. De 4 à 7 jours, il y a une forte augmentation de la quantité de bactéries, allant jusqu'à  $5,1 \times 10^3$  cellules par mL. Des jours 8 à 10, le nombre de cellules bactériennes reste croissant mais avec une diminution de la pente. Au jour 11, il y a une croissance un peu plus importante que celle des jours précédents et le maximum de cellules bactériennes est obtenu le jour 15 avec une quantité de  $1,0 \times 10^7$  cellules par mL.

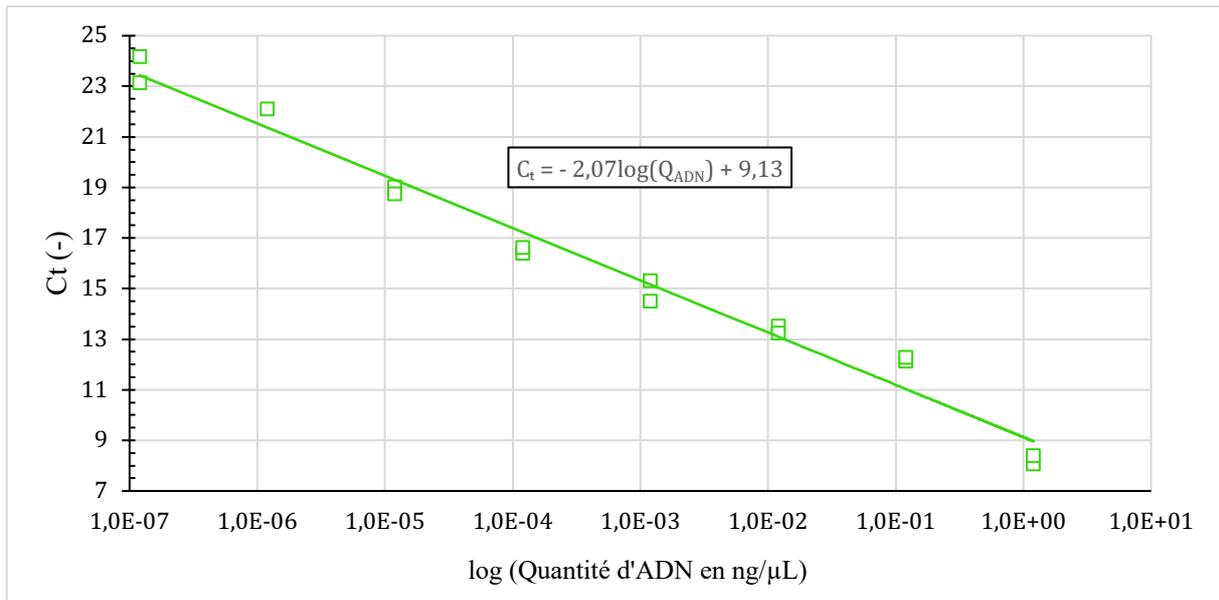


Figure 62 : Droite d'étalonnage des amorces ciblant les bactéries totales pour la qPCR. L'équation de la droite permet d'associer un nombre de cycles seuils (Ct) obtenu après amplification à une quantité d'ADN. L'efficacité associée à cet étalon est de 205%.

#### 2.1.2.4 Identification et quantification du consortium bactérien

Le but de cette expérience était d'identifier et de quantifier certains microorganismes présents dans le consortium bactérien d'après la littérature. Des amorces spécifiques pour *Brochotrix thermosphacta*, le genre *Pseudomonas* et les bactéries lactiques ont été utilisées pour la qPCR des échantillons de jus de viande non filtré. Les résultats représentés sur la figure 63 montrent que la phase de latence a duré de 0 à 3 jours. La quantité de microorganismes pour les *Pseudomonas* ou les bactéries lactiques sont proches avec  $6,9 \times 10^0$  UFC/mL et est plus élevée que pour *Brochotrix thermosphacta* avec  $2,7 \times 10^{-1}$  UFC/mL. Ensuite, entre 3 et 7 jours, une phase exponentielle a été observée simultanément pour tous les microorganismes. Cependant, pour les *Pseudomonas*, cette phase a été plus brutale que pour *Brochotrix thermosphacta* et les bactéries lactiques. Les valeurs atteintes sont de  $1,3 \times 10^4$ ,  $1,3 \times 10^3$  et  $2,5 \times 10^1$  UFC/mL pour les *Pseudomonas*, les bactéries lactiques et *Brochotrix thermosphacta* respectivement. Les phases exponentielles pour *Brochotrix thermosphacta* et les bactéries lactiques ont continué de façon parallèle atteignant des valeurs de  $1,8 \times 10^4$  et  $4,8 \times 10^5$  UFC/mL respectivement jusqu'au jour 11. Pour les *Pseudomonas*, au 7<sup>ème</sup> jour, la phase exponentielle a commencé à ralentir (phase de ralentissement) atteignant en jour 10 une valeur de  $2,0 \times 10^5$  UFC/mL proche de celle des bactéries lactiques. Enfin à partir du 10<sup>ème</sup> jour, une phase de déclin a été observée pour les

*Pseudomonas* ainsi que pour *Brochothrix thermosphacta* à partir du jour 11 atteignant finalement au jour 15 des valeurs de  $2,6 \times 10^2$  et  $2,2 \times 10^3$  UFC/mL, respectivement. Pour les bactéries lactiques, une phase stationnaire a été observée entre le jour 11 et 15 avec une valeur atteinte de  $5,8 \times 10^5$  UFC/mL en fin d'expérience. Les *Pseudomonas* sont donc dominants entre les jours 4 et 10 avant de décroître alors que les bactéries lactiques augmentent moins fortement mais deviennent dominantes entre les jours 10 et 15. Les *Brochothrix thermosphacta* sont minoritaires et augmentent de la même manière que les bactéries lactiques entre le jour 4 et 10 mais montrent une phase de décroissance entre les jours 11 et 15.

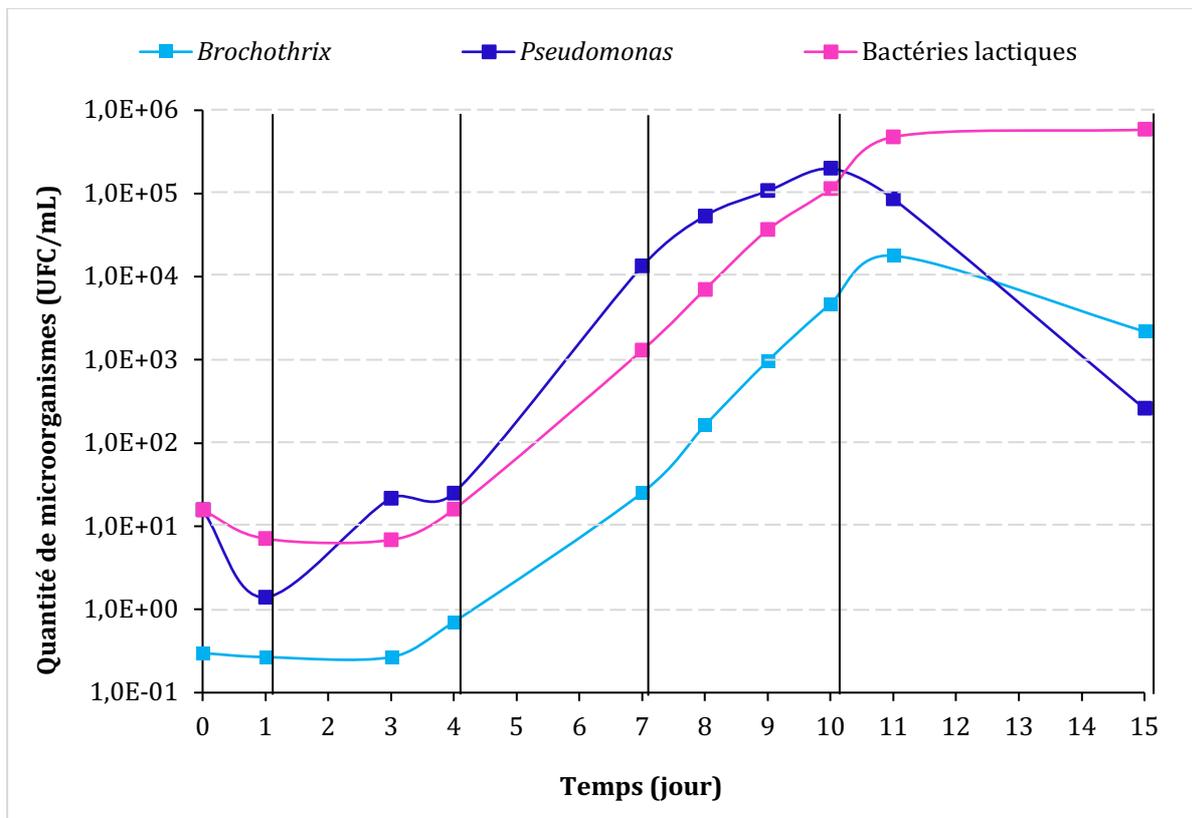


Figure 63 : Suivi de l'identification et de la quantification des consortia bactériens dans le premier jus non filtré en fonction du temps. Le nombre d'unités formant des colonies par mL est évalué par dénombrement en gélose profonde pour les bactéries totales. Le nombre de cellules bactériennes par mL est calculé à partir d'une quantification d'ADN par qPCR.

## 2.2 Résultats sur la viande rouge

Suite aux résultats dans le jus, des expériences sur la viande ont été mises en place. Le but était aussi de mettre en avant l'effet de la microbiologie sur les virements de couleur mais sur le milieu viande. La noix a été détaillée à partir du muscle entrecôte. Une fois cette noix récupérée,

elle a été séparée en trois afin d'être utilisée selon les trois conditions microbiologiques. Pour la première partie de la noix dite normale, la noix a été tranchée et deux à trois centimètres ont été retirés sur tout le tour de la noix. De plus, elle n'a subi aucune modification microbiologique afin d'être au plus proche des conditions normales d'une viande de supermarché par exemple. La deuxième partie de la noix dite décontaminée a subi le protocole de décontamination. Ce protocole a pour but de retirer toute la microbiologie possiblement présente sur la surface de la viande. Enfin pour la troisième partie dite recontaminée, la noix a subi une décontamination comme pour la deuxième partie, mais elle a été par la suite contaminée avec du consortium bactérien récupéré à partir du jus de viande non filtré. Sur la noix recontaminée, 1 mL à  $10^6$  UFC/ $\mu$ L du consortium bactérien a été pulvérisé de façon homogène. Ce jus est un jus d'entrecôte qui a subi le même protocole que le jus non filtré précédent, soit 15 jours à 4 °C. Chaque noix, réalisée en duplica, a été conditionnée dans des barquettes thermosoudées sous air (21 % d'oxygène). Un suivi du virement de couleur a été réalisé à 4 °C pour chacune des conditions. Les résultats des valeurs de  $a^*$  sont présentés en figure 64. De plus, un dénombrement de la flore totale, de la flore lactique, des *Pseudomonas*, *Brochotrix thermosphacta* et des entérobactéries a été réalisé en début (Jour 0) et en fin d'expérience (Jour 13). Ce dénombrement a été réalisé par Terana, un laboratoire d'analyses microbiologiques en Auvergne. Ces résultats sont présentés en figure 65. Les résultats des duplicas pour chaque condition sont identiques et ne seront pas présentés afin d'alléger les graphiques (annexe 20). Les résultats montrent que les trois conditions testées ont donné des temps de virement de couleur différents. En effet pour la viande normale, une phase de latence a été observée du jour 0 au jour 7 avec des valeurs de  $a^*$  de 31. La viande est alors de couleur rouge vif. Les tests microbiologiques ont montré des quantités de microorganismes inférieures à  $1,00 \times 10^1$  UFC/cm<sup>2</sup> pour les microorganismes. Puis, une phase de décroissance exponentielle entre le jour 7 et le jour 11 a été mesurée. Le virement de couleur a été observé au jour 9 avec une valeur de  $a^*$  de 19. Au jour 11, la viande est alors de couleur verte et la valeur de  $a^*$  de 5. Enfin entre le jour 11 et le jour 13, un début de phase d'augmentation de  $a^*$  a été observé. La viande a commencé à devenir rouge foncé et a atteint une valeur de  $a^*$  de 13 avant l'arrêt de l'expérience. En fin d'expérience, les microorganismes présents sont les *Pseudomonas* puis *Brochotrix thermosphacta*, la flore lactique et enfin les entérobactéries avec  $1,50 \times 10^6$ ,  $7,20 \times 10^3$ ,  $9,00 \times 10^1$  et  $1,00 \times 10^1$  UFC/cm<sup>2</sup>, respectivement. Pour la viande décontaminée, le virement de couleur a été plus lent que pour la viande normale. La valeur de  $a^*$  est de 31 au jour 0 et de 19 au jour 13. La viande a viré de rouge à verte très lentement avec un virement détecté seulement au jour 13. La quantité de microorganismes est restée inchangée entre le début et la fin de

l'expérience avec des valeurs inférieures à  $1,00 \times 10^1$  UFC/cm<sup>2</sup>. Pour la viande recontaminée, une première phase de décroissance a été observée avant entre le jour 0 et la fin du jour 1 avec des valeurs de  $a^*$  entre 27 et 22 respectivement. La viande est de couleur rouge. La quantité de microorganismes est de l'ordre de  $10^6$  UFC/cm<sup>2</sup> avec les *Pseudomonas*, puis la flore lactique et les entérobactéries et enfin *Brochotrix thermosphacta* avec  $4,50 \times 10^6$ , puis  $1,00 \times 10^5$  et  $1,80 \times 10^4$  et enfin  $1,50 \times 10^3$  UFC/cm<sup>2</sup> respectivement. Ensuite, une seconde phase de décroissance, s'est produite entre la fin du jour 1 et le milieu du jour 2 avec des valeurs de  $a^*$  atteintes de 9 en milieu du jour 2. La viande a viré de rouge à vert au jour 2 avec une valeur de  $a^*$  de 17. Enfin, une phase de croissance entre le milieu du jour 2 et le jour 13 a été observée. La valeurs de  $a^*$  est de 19 au jour 13. La viande a viré de verte à rouge durant cette phase. La quantité de microorganismes au jour 13 est de  $7,50 \times 10^9$  puis  $2,20 \times 10^6$  et  $4,00 \times 10^5$  et enfin  $2,60 \times 10^5$  UFC/cm<sup>2</sup> pour les *Pseudomonas*, les entérobactéries, *Brochotrix thermosphacta* et la flore lactique, respectivement. La microbiologie a donc un impact évident sur les virements de couleur de la viande. En absence de microbiologie, le virement de couleur de rouge à vert est très tardif et apparaît au bout de 13 jours. Pour la viande normale, le virement de couleur de rouge à vert apparaît plus rapidement que pour la viande décontaminée, avec un virement au bout de 9 jours. Le deuxième virement de couleur de vert à rouge apparaît au jour 12. Enfin pour la viande recontaminée, les deux virements apparaissent plus rapidement que pour la viande normale. Le premier virement de couleur apparaît au bout de 2 jours (avec une quantité de microorganisme initiale de  $10^6$  UFC/cm<sup>2</sup>) et le second virement au bout du jour 3.

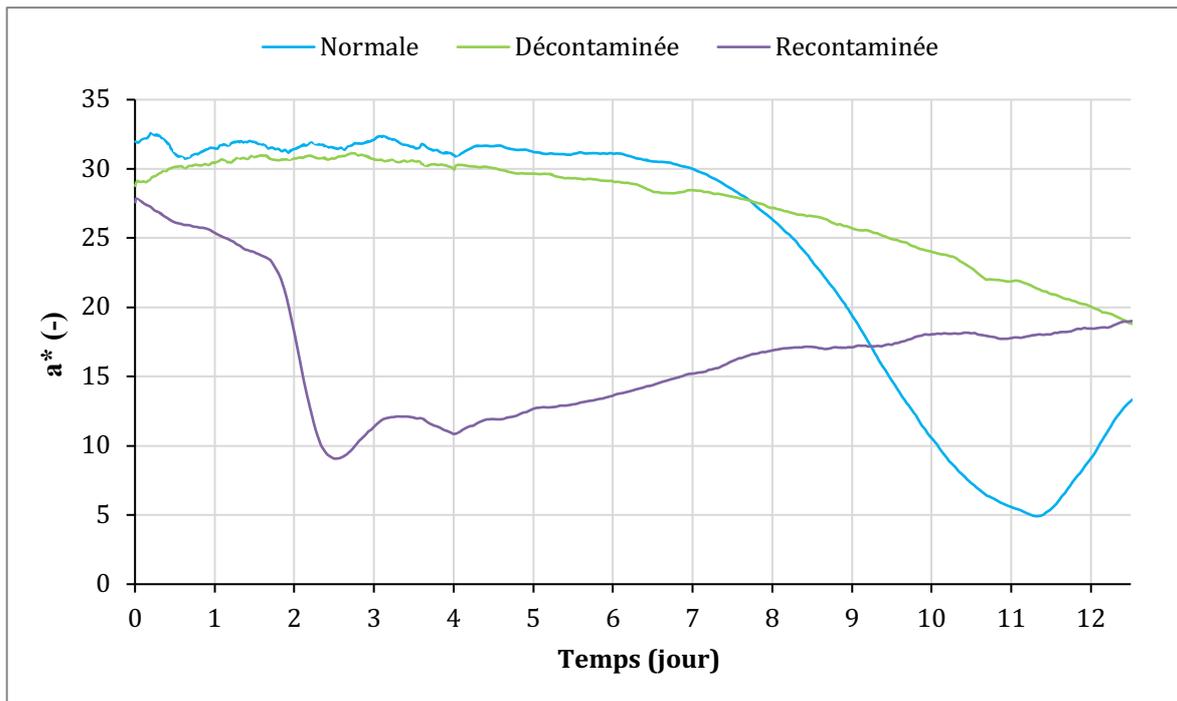


Figure 64 : Suivi du virement de couleur ( $a^*$ ) de noix d'entrecôte mises en barquette sous air à 4 °C selon différentes conditions microbiologiques en fonction du temps. (normale : aucune modification n'a été faite par rapport à une viande découpée en abattoir ; décontaminée : la viande a subi un protocole de décontamination ; recontaminée : la noix a subi une décontamination puis une recontamination avec un consortium bactérien).

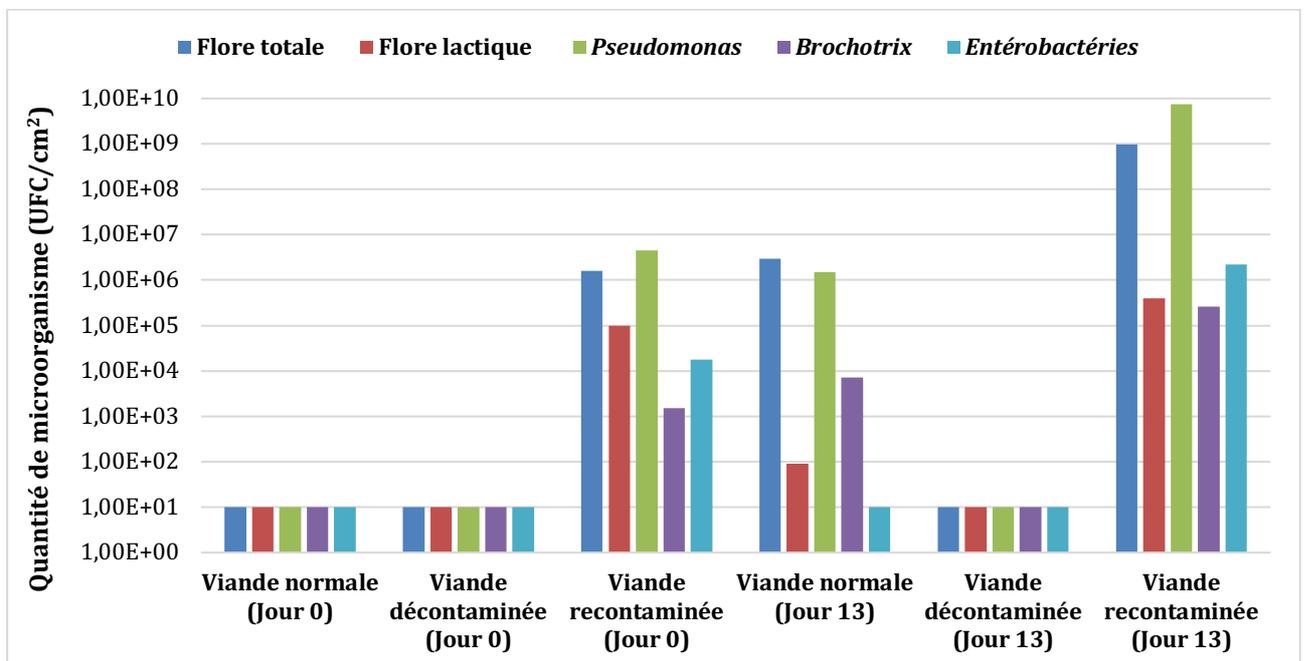


Figure 65 : Quantité de microorganismes (en UFC/cm<sup>2</sup>) de la flore totale, de la flore lactique, des Pseudomonas, Brochotrix thermosphacta et des entérobactéries d'échantillons de noix d'entrecôtes (normale, décontaminée, recontaminée) conditionnées en barquettes thermosoudées sous air pendant 13 jours à 4 °C.

## 2.3 Discussion

Les transformations s'opérant dans les jus filtrés sont uniquement le fait de phénomènes physico-chimiques : la filtration permet de s'affranchir des phénomènes microbiologiques. La comparaison entre le jus filtré et le jus non filtré permet de mettre en avant les phénomènes dépendants de la physico-chimie et ceux dépendants de la microbiologie. La filtration du jus semble n'avoir aucun impact sur les données initiales de pOR, de pH et de spectroscopie UV-visible. En effet, une fois l'étape de stabilisation des données physico-chimiques passée (un jour), les courbes de pOR et les différentes courbes de spectrométrie UV-visible des jus ( $\pi$ ) et ( $\varphi$ ) se superposent (figure 66). Au jour 7, les courbes se séparent et des profils différents apparaissent. La séparation des courbes ( $\pi$ ) et ( $\varphi$ ) au jour 7 indique que la différence de condition de préparation des jus n'a de réel impact qu'à partir de ce moment-là. De plus, la couleur des jus avec et sans filtration n'est pas la même au bout de 15 jours (figure 67). L'évaluation instrumentale de la couleur n'a pas été réalisée (jus pur) mais l'évaluation du pourcentage des différentes formes de myoglobine permet d'estimer la couleur dominante dans le jus à des instants donnés. La chute de pOR coïncide avec le moment de décrochage entre les courbes des jus ( $\pi$ ) et ( $\varphi$ ) obtenues par spectroscopie UV-visible. Comme les deux jus provenaient initialement d'un même jus, il est réaliste de penser que l'étape de filtration est responsable des différences observées dans les caractéristiques physico-chimiques. La filtration du jus entraîne une forte chute de pOR mais celle-ci n'est pas associée au passage de marron à rouge car ce changement de couleur est observable aussi dans le jus filtré dont le pOR ne chute pas. En revanche, le point de croisement entre les quantités de MetMb et d'OxyMb survient deux jours plus tôt dans le jus non filtré (J7) que dans le jus filtré (J9). Il y a donc eu une accélération des phénomènes due à un composant du jus présent uniquement dans le jus non filtré. De plus, la quantité de MetMb diminue fortement dans la deuxième partie du suivi du jus non filtré. Cela signifie que le jus ne reste pas marron une fois le maximum de MetMb atteint. De l'OxyMb, ( $28 \pm 2$ )%, et de la DéoMb, ( $24 \pm 1$ )%, se forment en grande quantité, ce qui lui redonne une couleur rouge. La seule différence entre les jus filtrés ou non est la présence de microorganismes. En filtrant à  $0,2 \mu\text{m}$ , seuls les amas de viande (comme des petits morceaux de gras), et les microorganismes ont été enlevés ; les composants chimiques n'ont pas été modifiés. Il semble qu'un certain temps soit nécessaire avant que la microbiologie entre en jeu (entre 4 et 7 jours d'incubation semble nécessaire avant de pouvoir observer une différence). Il y a deux changements de couleurs dans les jus non filtrés alors qu'il n'y en a qu'un dans les jus filtrés. Un fois marron, le jus ne redevient pas rouge sans la présence de microorganismes. Les

deux changements de couleur sont influencés par les microorganismes mais pas de la même façon. La présence de microorganismes ne fait qu'accélérer une réaction existante lors du premier changement de couleur (de rouge à marron) alors qu'elle est essentielle pour l'obtention d'un second changement de couleur (de marron à rouge).

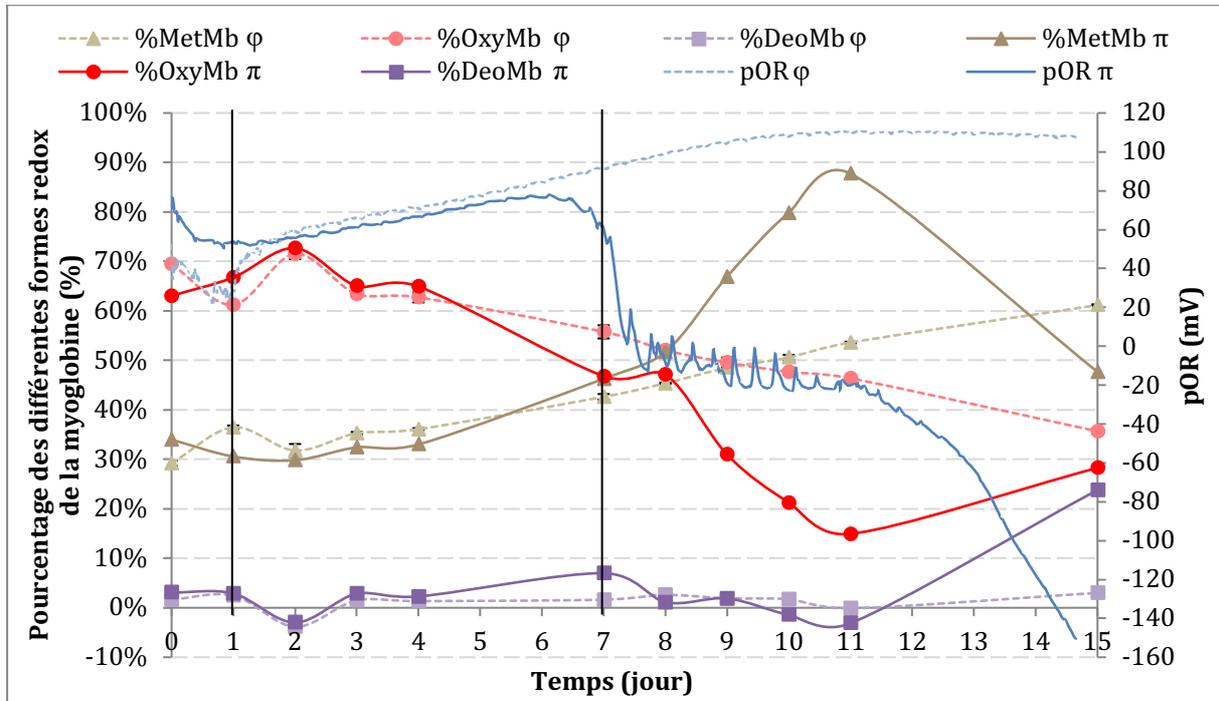


Figure 66 : Comparaison des potentiels d'oxydoréduction (pOR) et des différents pourcentages de myoglobine du jus filtré ( $\phi$ ) ou non ( $\pi$ ) de la première expérience. %MetMb, %OxyMb et %DéoMb sont respectivement les pourcentages de MetMyoglobine, d'OxyMyoglobine et de DésoxyMyoglobine. Les barres verticales noires déterminent des changements significatifs des différentes courbes.



Figure 67 : Photo des jus non filtré (à gauche) et filtré (à droite) après 15 jours d'incubation à 4 °C.

Il est difficile de comparer les quantités initiales de microorganismes de la littérature ( $1,0 \times 10^2$  à  $1,0 \times 10^5$  UFC/cm<sup>2</sup>, Garcia-López *et al.*, 1998) avec la quantité dénombrées dans le jus. Un centimètre carré de viande préparé selon les mêmes conditions que celles décrites dans la figure 34 ne donnera pas la même quantité de jus selon la zone du muscle dans lequel il a été prélevé. La quantité initiale de microorganismes semble avoir un impact sur la vitesse avec laquelle la chute de pOR et le changement de couleur s'opèrent. En effet, d'après le tableau 10, plus il y a de microorganismes dénombrés au début du suivi, plus le pOR chutera tôt (courbes disponibles en annexe 21). Il est aussi possible que la quantité initiale de bactéries ou que les communautés présentes soit suffisamment importantes pour que les deux changements de couleur se passent au même moment, empêchant la visualisation de marron et l'obtention d'un pic de MetMb (expérience 3, Annexe 18 C). Inversement, un jus riche en bactéries dans lequel ne se trouve que très peu des consortia influençant la couleur mettra beaucoup plus de temps à changer de couleur.

Tableau 10 : Quantités de microorganismes (UFC/mL) associées aux chutes de potentiel d'oxydoréduction (pOR) dans les différents jus non filtrés.

	Quantité initiale de microorganismes	Chute du pOR	Quantité de microorganismes à la chute du pOR
Expérience 1	$1,4 \times 10^2$	Jour 7	$2,4 \times 10^4$
Expérience 2	$4,1 \times 10^2$	Jour 5	$2,8 \times 10^4$
Expérience 3	$1,9 \times 10^3$	Jour 4,5	$1,7 \times 10^5$

La qPCR n'ayant pas pu être réalisée pour les trois répliques biologiques, les comparaisons entre données physico-chimiques et biologiques se feront avec la quantité de microorganismes dénombrés en gélose profonde. Les trois expériences possèdent une quantité de microorganismes évoluant de la même façon. Les différentes phases observables sur les dénombrements de microorganismes semblent correspondre à une succession de deux courbes de croissance (figure 68). Des jours 0 à 1 se trouve une phase de latence. La phase d'accélération prend ensuite place entre les jours 1 et 4 puis la croissance exponentielle dure du jour 4 au jour 7. La phase stationnaire s'opère en même temps que la phase d'accélération d'une seconde population (où troisième en prenant en compte la population dominant initialement le jus de viande). La croissance exponentielle de cette population a lieu au jour 10 et est suivie jusqu'au jour 15 d'une phase stationnaire. Il y aurait donc trois populations majeures successives de microorganismes dans le jus.

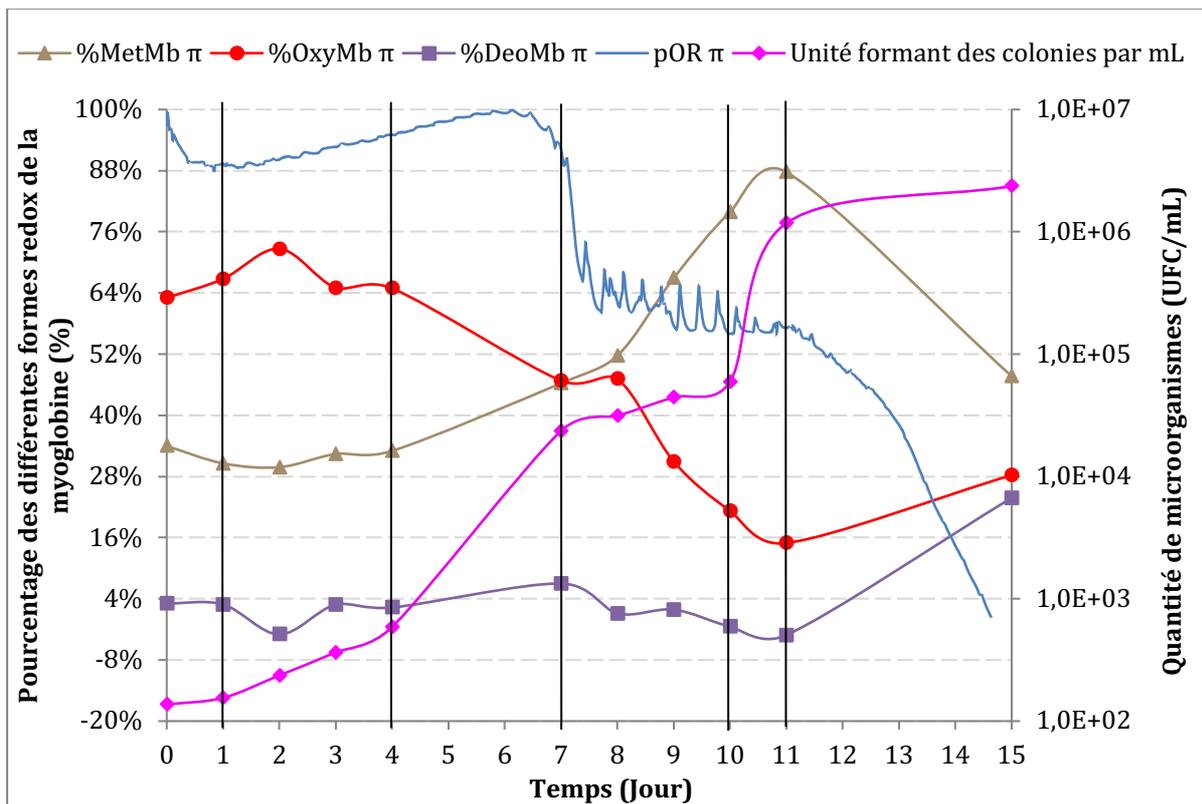


Figure 68 : Récapitulatif des différentes données suivies durant les 15 jours d'incubation du jus non filtré ( $\pi$ ). %MetMb, %OxyMb et %DeoMb sont respectivement les pourcentages de MetMyoglobine, d'OxyMyoglobine et de DésoxyMyoglobine. La courbe de potentiel d'oxydoréduction (pOR) a été normalisée et rajoutée avec une unité arbitraire (axe non représenté) afin d'en observer les variations sur les mêmes temps de mesure.

Le consortium bactérien présent initialement dans le jus est dominé par des bactéries capables de croître rapidement à des températures de réfrigération, donc des Gram – (Garcia-López et al., 1998). D’après Betts (2006) et Yang *et al.* (2018), les *Acinetobacter* et les *Pseudomonas* sont les bactéries colonisant le plus rapidement la viande même si ces dernières sont moins rapides mais plus pérennes. La première phase de croissance exponentielle correspond à la phase durant laquelle les quantités de MetMb et d’OxyMb s’équilibrent (de J1 à J7). En l’absence de microorganismes, cet équilibre n’apparaît qu’au jour 9. Une hypothèse peut être formulée : une population de microorganismes accélérant les changements de couleur augmente à ce moment-là. D’après Robach et Costilow (1961), les bactéries aérobies sont capables d’accélérer l’oxydation de l’OxyMb et donc le passage à marron. En 1998, Chan et al. ont montré que *Pseudomonas fluorescens* était capable de ce phénomène. Les *Pseudomonas* sont des organismes courant sur la viande, capables de rapidement se développer à 4 °C (Garcia-López et al., 1998). *Brochothrix thermosphacta* est aussi une bactérie aérobie et d’après Yang *et al.* (2018), elle est capable de devenir grandement majoritaire dans une population d’organismes contaminant la surface de la viande. Elle est aussi plus adaptée que les *Pseudomonas* pour une culture à  $(4 \pm 2)$  °C de longue durée car elle est capable de croître à des températures variant de 0 à 30 °C alors que *Pseudomonas* a du mal à croître en dessous de 4 °C (Betts, 2006). Il est donc fortement possible que la population augmentant entre les jours 4 et 7 et causant le changement prématuré de couleur soit dominé par des *Pseudomonas* et/ou des *Brochothrix*. Lorsque la quantité de bactéries atteint  $1,0 \times 10^4$  à  $1,0 \times 10^5$  UFC/mL, il y a la première chute de pOR (tableau 10). Des bactéries capables de réduire le milieu doivent donc être présentes pour entraîner une chute aussi importante. La phase de stabilité du pOR entre les jours 7 et 10 correspond à la seconde phase d’accélération et à la première phase stationnaire de la courbe de croissance bactérienne. Comme le nombre de microorganismes n’augmente plus, le pOR reste stable. Les quantités de MetMb et d’OxyMb continuent de respectivement augmenter et diminuer, la population présente étant favorable au changement de rouge à marron. Au jour 10 se trouve la phase de croissance exponentielle de cette seconde population, qui s’associe à partir du jour 11 à une deuxième chute de pOR. Cette chute s’accompagne d’un virement de marron à rouge avec une augmentation de la quantité d’OxyMb et de DéoMb et une diminution de celle de MetMb. La population bactérienne se mettant en place tard dans le jus est donc capable de le faire redevenir rouge. Il est probable qu’il s’agisse de bactéries à Gram + capables de résister plus longtemps dans des conditions limitantes que les bactéries Gram – (Holzapfel, 1998). Comme le milieu n’est pas aéré, il est probable que cette nouvelle population soit composée de bactéries lactiques capables de produire un composé rouge à partir

de MetMb (Arihara *et al.*, 1993). Il est toutefois aussi possible que cette population soit des *Pseudomonas* car celles-ci sont aussi capables de transformer la MetMb en DéoMb (Motoyama *et al.*, 2010). Les résultats sur l'identification des microorganismes présentés précédemment sont en accord avec la littérature. Cependant, il faut être prudent avec ces hypothèses car il est aussi possible que le consortium bactérien ne soit dominé à aucun moment par l'un de ces genres ou même qu'il soit dominé par l'un d'eux sans forcément que celui-ci n'intervienne dans le changement de couleur. Il n'y a par exemple aucune trace dans la littérature d'une modification de la couleur de la viande effectuée par *Brochothrix thermosphacta* alors que celle-ci est souvent trouvée majoritairement dans la viande (Betts, 2006 ; Yang *et al.*, 2018). Les amorces pour l'identification des populations bactériennes ont été choisies pour les populations sortant le plus souvent majoritairement dans la viande d'après la littérature. La quantification des différents consortia a permis d'observer leur évolution au cours du temps et de faire le lien entre les chutes de pOR et les variations des différentes quantités de myoglobine. Enfin, l'expérience sur la viande a permis de mettre en avant que la microbiologie peut aussi avoir un impact sur le milieu viande de la même façon que dans le jus. En effet, si la microbiologie est en excès (viande recontaminée), le virement de couleur est accéléré et est détecté au bout de 2 jours. En revanche, si la microbiologie est totalement absente, le virement de couleur est beaucoup plus tardif et apparaît seulement au bout de 13 jours. Dans des conditions dites « normales », le virement de couleur arrive aux alentours du 9<sup>ème</sup> jour soit après la date limite de consommation qui est de 5 jours pour une viande fraîche vendue en barquette filmée. Donc la microbiologie naturellement présente sur la viande reste une variable liée au process et fait partie entière de la variabilité de chaque échantillon.

### 3. Modélisation et prédiction du virement de couleur

Les résultats de la première partie ont mis en avant que le suivi du virement de couleur par le pOR est possible. Cependant, les sondes redox développées en interne pour les milieux semi-solides présentent un biais. Dans la seconde partie, l'étude microbiologique a démontré que si les microorganismes présents sont en quantité dite « normale », cette microbiologie fait partie intégrante de la variabilité de chaque échantillon utilisé.

En conséquence dans cette dernière partie, les différentes étapes du développement d'un modèle de virement de couleur (à partir des valeurs du paramètre colorimétrique  $a^*$  d'échantillons de

viande dans des conditions semi-industrielles afin d'être le plus réaliste possible) vont être présentées :

- choix d'une équation de décroissance pour la modélisation des courbes  $a^* = f(t)$  ;
- évolution de la courbe  $a^* = f(t)$  en fonction des paramètres expérimentaux ;
- détermination du temps de virement à l'aide de l'équation choisie.

### 3.1 Modélisation des courbes d'évolution $a^* = f(t)$

#### 3.1.1 Exemple de données expérimentales

Les cinétiques d'évolution du paramètre colorimétrique  $a^*$  mesurées en faisant varier les paramètres technologiques (pression partielle en dioxygène, température de stockage de la viande, temps de maturation sous vide du muscle et angle de découpe du muscle en tranches) selon le plan de Jones et Nachtsheim ont globalement toutes la même allure : phase de latence, phase de décroissance puis plateau final, avec des durées et des vitesses dépendantes bien entendu des paramètres technologiques (figure 69).

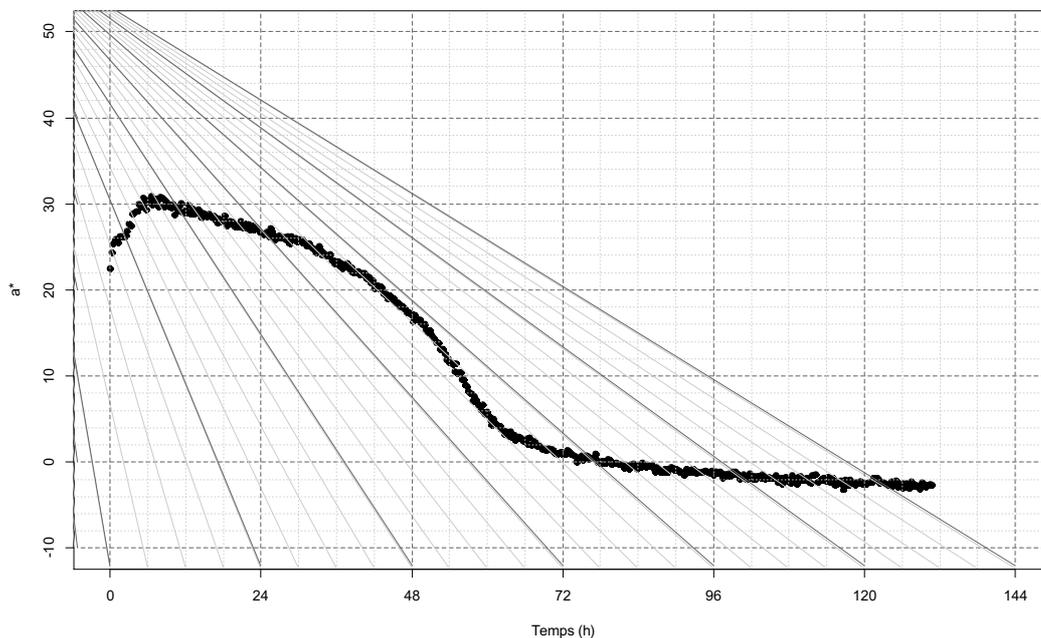


Figure 69 : Exemple de courbe d'évolution du paramètre colorimétrique  $a^*$  (pression partielle en dioxygène : 20 %, température de stockage de la viande : 10 °C , temps de maturation sous vide du muscle : 14 jours et angle de découpe du muscle en tranches : 90 °).

### 3.1.2 Optimisation non linéaire

Comme indiqué dans la partie Matériels et Méthodes, nous avons testé cinq équations (Albert, Geeraerd, Buchanan, Gompertz et Verhulst) sur l'ensemble des cinétiques expérimentales (annexe 22). Seul le traitement de la cinétique représentée sur la figure 69 sera développé. Avant de procéder à l'optimisation des paramètres pour chaque équation, il est nécessaire de choisir des valeurs initiales pour ces paramètres qui ne soient pas trop éloignées des valeurs finales, afin d'éviter que l'algorithme de Newton-Raphson utilisé par la commande nls de R ne diverge. Le choix est relativement aisé dans la mesure où il faut indiquer la valeur initiale et la valeur finale de  $a^*$  ainsi qu'une estimation de la vitesse maximale de décroissance. Le tableau 11 donne les principaux résultats de l'optimisation et la figure 70 montre les courbes expérimentales (cercles pleins) et calculées (courbe rouge) pour les cinq équations testées.

*Tableau 11 : Valeurs des paramètres des cinq équations testées pour représentées la cinétique d'évolution du paramètre colorimétrique  $a^*$  dans les conditions pression partielle en dioxygène : 20 %, température de stockage de la viande : 10 °C , temps de maturation sous vide du muscle : 14 j et angle de découpe du muscle en tranches : 90 °.*

	Équation de Geeraerd	Équation d'Albert	Équation de Buchanan	Équation de Gompertz	Équation de Verhulst
Paramètre 1	27,99±0,22	29,02±0,28	27,98±0,32	27,91±0,20	28,71±0,20
Paramètre 2	-1,46±0,16	-1,23±0,15	-1,46±0,16	-2,47±0,18	-1,96±0,12
Paramètre 3	29,63±0,68	2,59±0,11	29,61±0,66	33,21±0,59	33,23±0,62
Paramètre 4	1,56±0,06	18,16±0,91	1,56±0,04	-1,94±0,5	-1,95±0,04
RSS	817	720	832	571	385

Dans ce cas l'équation qui donne le meilleur résultat (c'est-à-dire la somme des carrés des résidus ou RSS) est l'équation de Verhulst. Les différents paramètres sont difficilement comparables. En effet, ils n'ont pas nécessairement la même signification physique, à part les deux qui correspondent respectivement à la valeur initiale de  $a^*$  et à la valeur finale de  $a^*$ . Pour les équations de Geeraerd, Buchanan, Gompertz et Verhulst, le paramètre 3 coïncide avec le temps de latence et la valeur absolue du paramètre 4 à la vitesse maximale de décroissance.

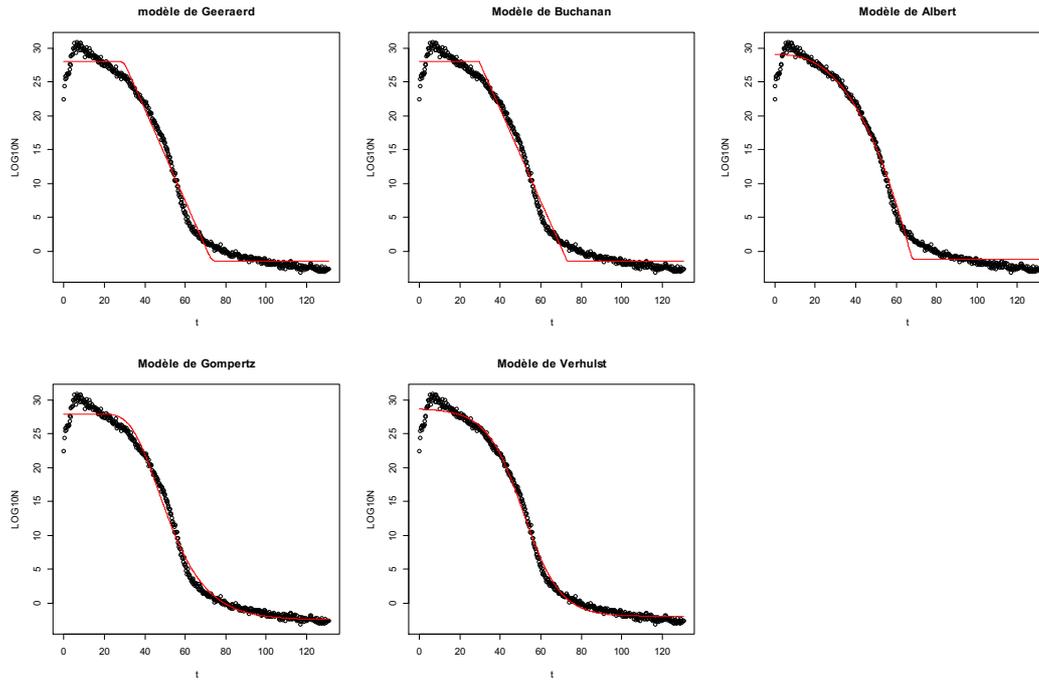


Figure 70 : Lissage de la courbe d'évolution du paramètre colorimétrique  $a^*$  (pression partielle en dioxygène : 20 %, température de stockage de la viande : 10 °C , temps de maturation sous vide du muscle : 14 jours et angle de découpe du muscle en tranches : 90 °) par cinq équations non linéaires.

### 3.1.3 Examen de la matrice des corrélations

Pour chaque équation, il a été procédé à un examen de la matrice de corrélation entre les différents paramètres, sachant que par construction de l'équation, ces paramètres sont corrélés. Le tableau 12 donne les résultats pour les équations de Gompertz et de Verhulst.

Tableau 12 : Matrice de corrélation des paramètres obtenus par optimisation non linéaire dans le cas de la courbe d'évolution du paramètre colorimétrique  $a^*$  (pression partielle en dioxygène : 20 %, température de stockage de la viande : 10 °C , temps de maturation sous vide du muscle : 14 jours et angle de découpe du muscle en tranches : 90 °).

Équation de Gompertz		$\log_{10}(N_0)$	$\log_{10}(N_{\max})$	lag	$\mu_{\max}$
	$\log_{10}(N_0)$	1,00	-0,12	-0,54	0,10
	$\log_{10}(N_{\max})$	-0,12	1,00	0,31	-0,45
	Lag	-0,54	0,31	1,00	-0,77
	$\mu_{\max}$	0,10	-0,45	-0,77	1,00
Équation de Verhulst		$\log_{10}(N_0)$	$\log_{10}(N_{\max})$	lag	$\mu_{\max}$
	$\log_{10}(N_0)$	1,00	-0,19	-0,73	0,39
	$\log_{10}(N_{\max})$	-0,19	1,00	0,23	-0,31
	Lag	-0,73	0,23	1,00	-0,84
	$\mu_{\max}$	0,39	-0,31	-0,84	1,00

Pour ces deux équations, il est normal que le temps de latence (lag) soit corrélé, d'une part à  $\log_{10}(N_0)$ , et d'autre part à  $\mu_{\max}$ , puisqu'il correspond au point d'intersection entre la tangente au point d'inflexion ( $\mu_{\max}$ ) et l'axe des abscisses ( $\log_{10}(N_0)$ ). L'utilisation d'une méthode de type bootstrap permet, dans un premier temps de voir la dispersion des valeurs des paramètres caractéristiques, et dans un second temps de visualiser la corrélation de ces paramètres. La figure 71 montre les résultats pour les équations de Gompertz et de Verhulst à partir de 5000 échantillons tirés au hasard.

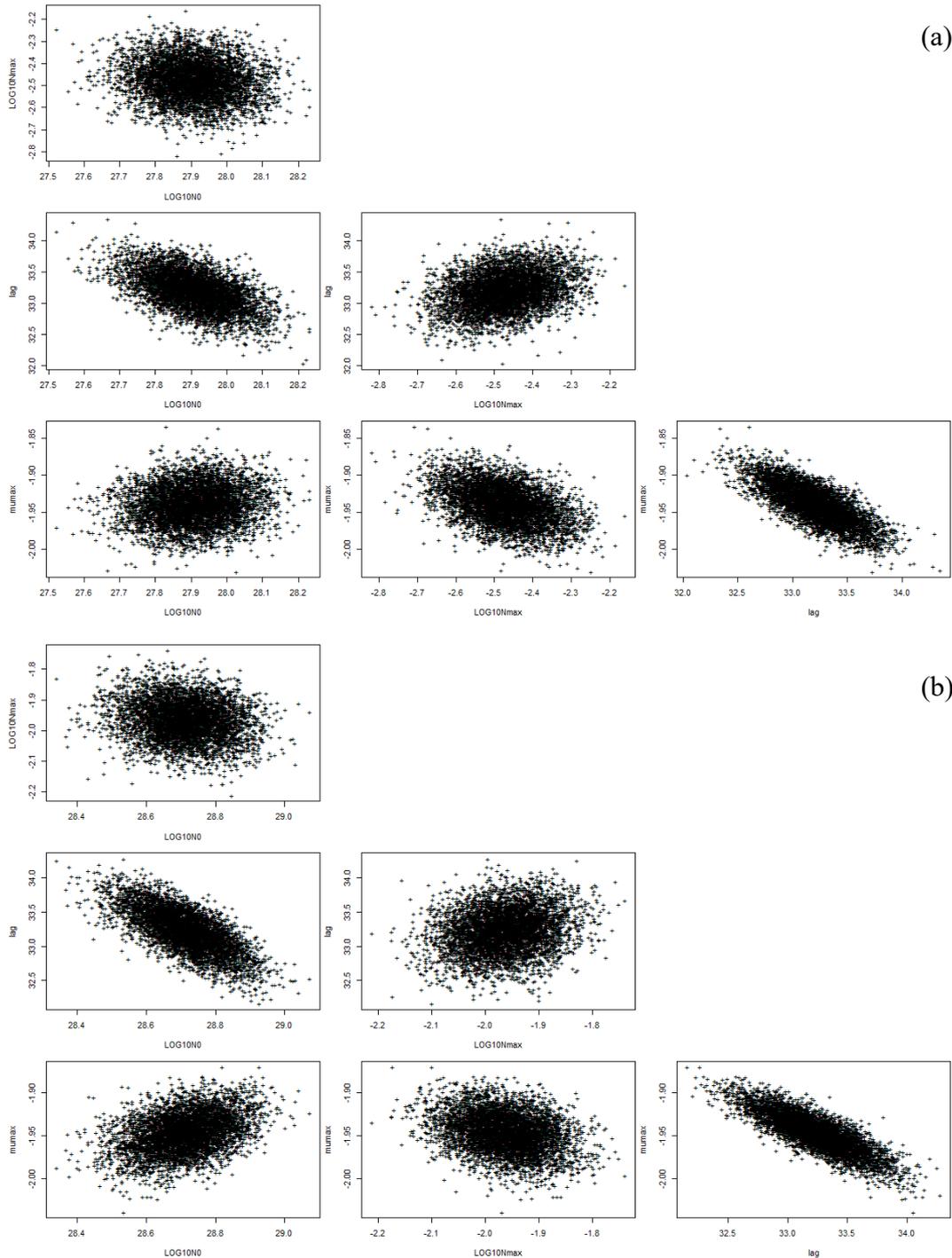


Figure 71 : Domaines de variation des paramètres caractéristiques de la courbe d'évolution du paramètre colorimétrique  $a^*$  déterminés par une méthode de bootstrap (5000 échantillons) pour l'équation de Gompertz (a) et l'équation de Verhulst (b) (pression partielle en dioxygène : 20 %, température de stockage de la viande : 10 °C , temps de maturation sous vide du muscle : 14 jours et angle de découpe du muscle en tranches : 90 °).

### 3.1.4 Détermination de points levier

L'utilisation de la technique du Jackknife permet de vérifier l'existence ou non de points influençant la valeur des paramètres (ou points levier) pour chacune des équations. La figure 72 donne l'exemple pour l'équation de Gompertz. Les points qui influencent la valeur des paramètres sont ceux attendus :

- les points initiaux qui donnent la valeur de  $\log_{10}(N_0)$
- les points initiaux et les points au milieu de la cinétique qui déterminent la valeur du temps de latence
- les points au milieu de la cinétique qui caractérisent la vitesse maximale de décroissance
- les points finaux qui correspondent à la valeur de  $\log_{10}(N_{\max})$ . Il faut noter que ce n'est pas le cas dans cet exemple.

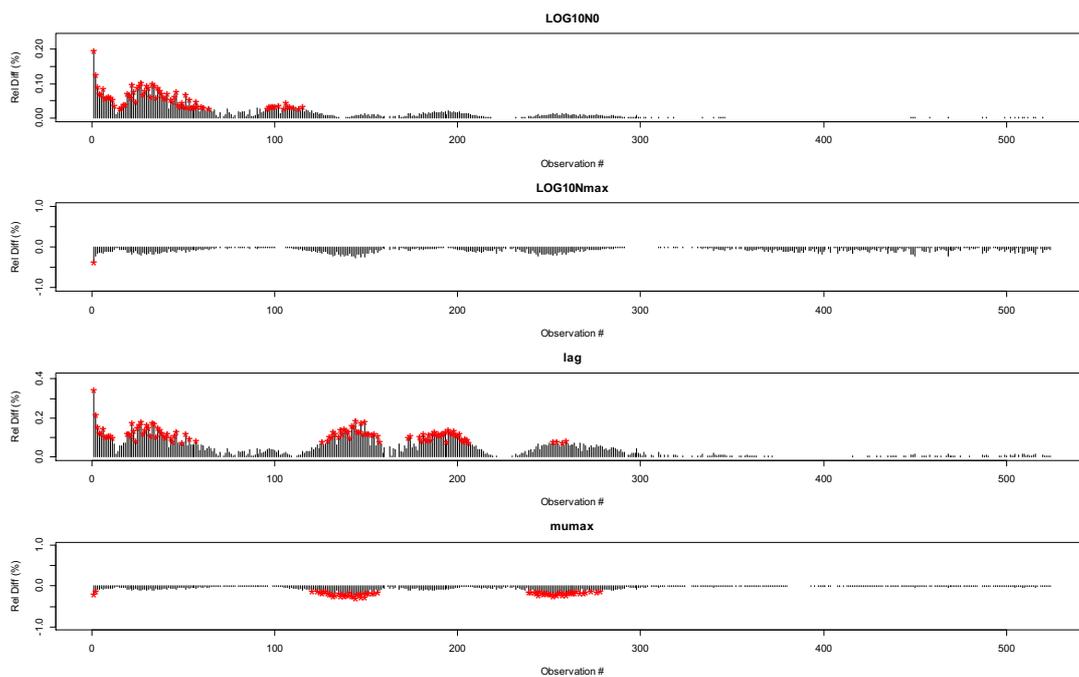


Figure 72 : Détection des point influençant (points rouges) la valeur des paramètres de l'équation de Gompertz dans le cas de la courbe d'évolution du paramètre colorimétrique  $a^*$  (pression partielle en dioxygène : 20 %, température de stockage de la viande : 10 °C , temps de maturation sous vide du muscle : 14 jours et angle de découpe du muscle en tranches : 90 °).

### 3.1.5 Étude des résidus

Enfin, il est important de regarder les résidus et leur distribution. En effet, cela permet de déterminer l'existence de points hors limites. La figure 73 montre les résultats dans le cas de l'équation de Gompertz. Plusieurs points sont à noter :

- sauf pour les fortes valeurs de  $a^*$  (qui correspondent au démarrage de la cinétique de décroissance), les résidus standardisés (c'est-à-dire des résidus dont la moyenne est égale à 0 et l'écart-type à 1), sont compris entre -2 et +2 ;
- l'existence d'ondulations au niveau des résidus standardisés indiquent que le modèle passe successivement au-dessus puis en-dessous de la courbe expérimentale ;
- l'existence d'une autocorrélation entre les points expérimentaux est normale dans le cas d'une cinétique ;
- la distribution des résidus ne suit pas exactement une loi normale avec un « excès » de résidus supérieurs à 2 qui correspondent aux valeurs fortes de  $a^*$ , donc au début de la cinétique ;
- les quantiles suivent approximativement la droite théorique de la loi normale à part quelques points aux deux extrémités.

En conclusion, il n'existe pas de points hors-limites en dehors des premiers points de la cinétique.

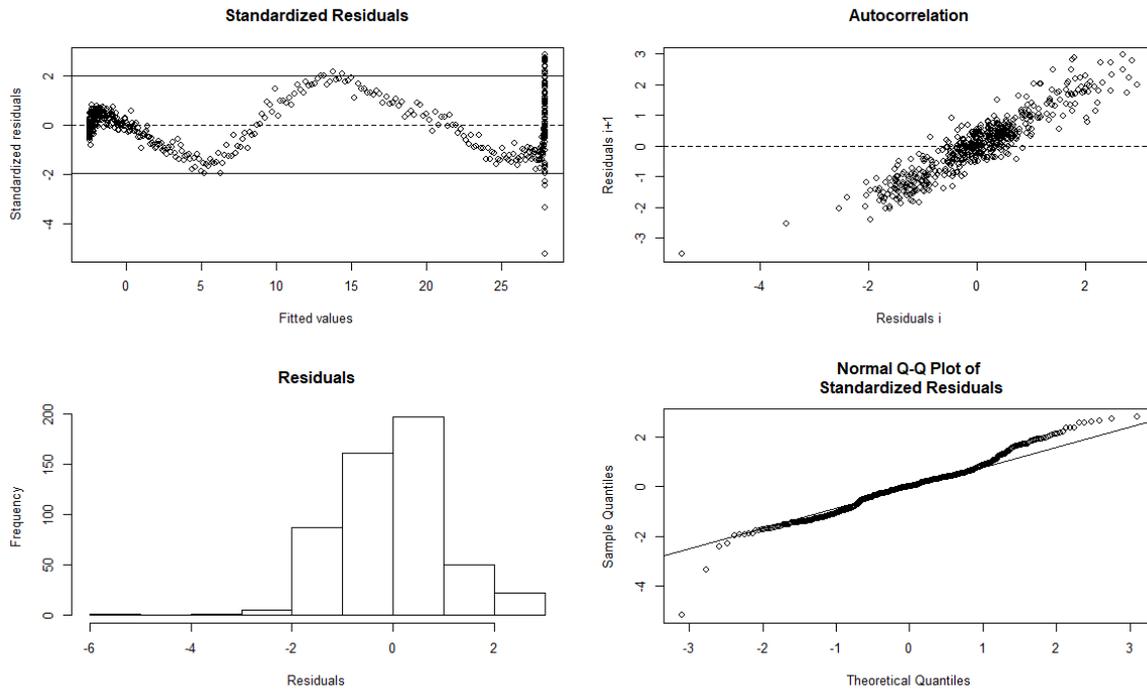


Figure 73 : Différentes représentations graphiques des résidus permettant de vérifier la distribution des résidus de l'équation de Gompertz dans le cas de la courbe d'évolution du paramètre colorimétrique  $a^*$  (pression partielle en dioxygène : 20 %, température de stockage de la viande : 10 °C , temps de maturation sous vide du muscle : 14 jours et angle de découpe du muscle en tranches : 90 °).

### 3.1.6 Conclusion partielle

Une étude systématique similaire à ce qui vient d'être décrit a été réalisée en utilisant cinq équations pour représenter les 18 cinétiques réalisées à l'aide du plan de Jones Nachtsheim. Les résultats obtenus ont permis de déterminer que l'équation de Gompertz était celle qui en moyenne permettait de mieux représenter les cinétiques du paramètre  $a^*$ . À partir des résultats de l'optimisation non linéaire, deux voies complémentaires ont été explorées pour développer un modèle prédictif :

- création d'un modèle de représentation de la cinétique de  $a^*$  : un modèle de prévision des paramètres lag et  $\mu_{\max}$  de l'équation de Gompertz a été développé par régression linéaire. Connaissant la valeur initiale de  $a^*$ , il devient possible de prévoir l'évolution temporelle de  $a^*$  puisque le modèle de Gompertz s'écrit :

$$a^* = a_{initial}^* + (a_{final}^* - a_{initial}^*) \times e^{-e^{\frac{\mu_{max} \times e^1 \times (lag - temps)}{(a_{final}^* - a_{initial}^*) \times \log(10) + 1}}} \quad \text{Eq. (6)}$$

avec  $a^*$ , la valeur calculée grace au modèle ;  $a_{initial}^*$ , la valeur de  $a^*$  initiale mesurée ;  $a_{final}^*$ , la valeur de  $a^*$  finale mesurée ; lag, le temps de latence avant le début du virement de couleur et  $\mu_{max}$ , la pente.

- création d'un modèle de prévision du temps de virement qui correspond à la moyenne entre le temps de fin du palier initial de  $a^*$  et le temps correspond au point d'inflexion de la courbe expérimentale de  $a^*$ .

## 3.2 Modélisation des cinétiques de $a^*$

### 3.2.1 Valeurs de lag et du $\mu_{max}$ pour l'équation de Gompertz

Les valeurs des paramètres de l'équation de Gompertz (lag et  $\mu_{max}$ ) obtenus par régression non linéaire sont récapitulés dans le tableau 13. Modéliser les cinétiques de  $a^*$  revient à trouver les relations entre les paramètres de l'équation de Gompertz et les facteurs étudiés. Pour cela, une régression linéaire ascendante (variables simples + variables au carré + interactions entre deux variables) est faite pour chacun des deux paramètres : lag et  $\mu_{max}$ . Le choix de la régression linéaire ascendante pas à pas se justifie par la nécessité d'avoir un modèle parcimonieux : le moins de termes possibles qui permettent tous de réduire la variance résiduelle de façon significative.

Tableau 13 : Valeurs de lag et de  $\mu_{max}$  exprimées en logarithme de base 10 pour chaque courbe de valeurs de  $a^*$  modélisé avec Gompertz. (avec camX la caméra associée à l'expérience).

Date/Caméras		$\log_{10}(\text{lag})$	$\log_{10}(\mu_{max})$
30/03/2018	cam0	2,792	-3
	cam1	2,792	-3
	cam2	1,784	-0,229
	cam3	2,072	-0,042
	cam4	1,929	-0,209
	cam5	1,811	-0,191
26/04/2018	cam0	1,703	-0,117
	cam1	2,909	-3
	cam2	1,521	0,288
	cam3	1,947	-0,011
	cam4	2,909	-3
	cam5	1,789	0,201
31/05/2018	cam0	3,367	-3
	cam1	2,109	-0,227
	cam2	1,766	0,314
	cam3	3,367	-3
	cam4	1,863	-0,529
	cam5	1,775	0,320

### 3.2.2 Régression linéaire sur le paramètre lag

Trois types d'analyses ont été réalisés : régression linéaire sur l'ensemble des variables suivies d'une régression linéaire descendante pas à pas ; régression linéaire ascendante pas à pas et une sélection des variables par l'algorithme de Furnival et Wilson (1974). Dans les trois situations, le modèle obtenu est identique. En conséquence, seuls les résultats de la régression linéaire ascendante seront détaillés. Le modèle obtenu par la régression linéaire ascendante pas à pas sur le temps de latence (lag) déterminé par l'équation de Gompertz est détaillé en tableau 14.

Plusieurs commentaires peuvent être faits sur les résultats :

- la distribution des résidus ne semble pas suivre exactement une loi normale. En effet, si la médiane des résidus est proche de zéro, les valeurs absolues des 1<sup>er</sup> et 3<sup>ème</sup> quartiles sont éloignées. Il en est de même pour les valeurs absolues des valeurs minimales et maximales ;
- la plupart des termes de la régression sont significativement différents de zéro ;
- le coefficient de détermination ajusté ( $R_{adj}^2$ ) est proche du coefficient de détermination ( $R^2$ ) : ceci est un indice de la parcimonie du modèle. En effet,  $R_{adj}^2$  augmente quand le

nombre de points expérimentaux augmente ou que le nombre de termes pris en compte diminue ;

- la p-value du modèle indique un modèle dont les termes sont globalement tous significativement différents de zéro.

Tableau 14 : Résultats de la régression linéaire ascendante pour le logarithme de base 10 du temps de latence ( $\log_{10}(lag)$ ).

Residuals:				
Min	1Q	Median	3Q	Max
-0,20822	-0,01872	0,01072	0,05783	0,13739

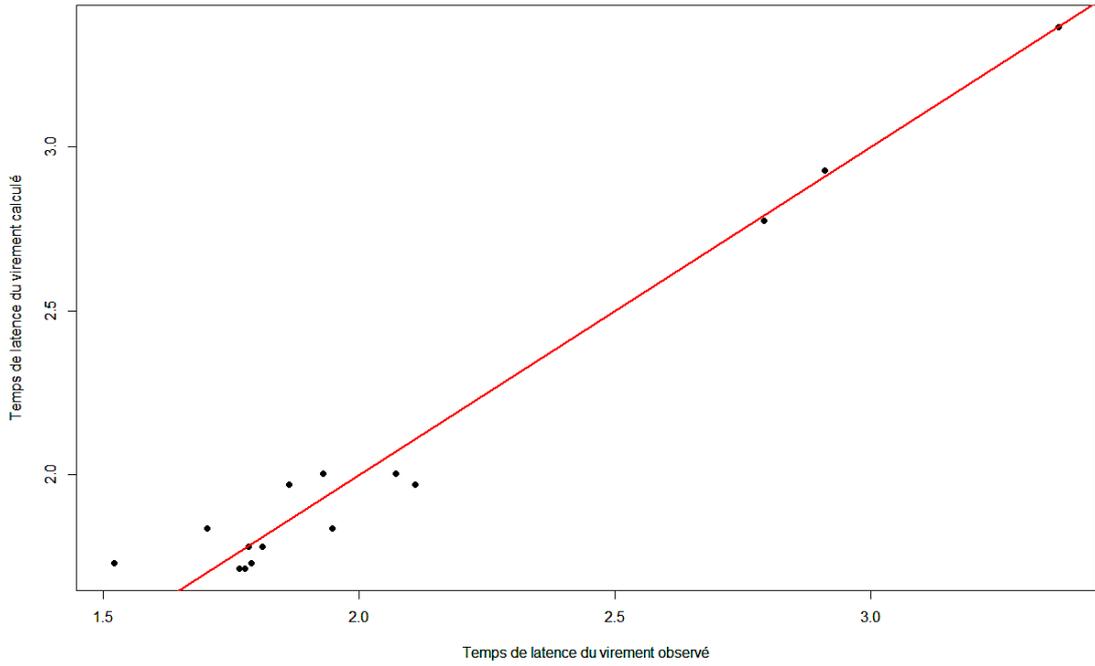
  

Coefficients:					
	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )	
(Intercept)	1,544951	0,106548	14,5	5,72E-09	***
pO2^2	0,115647	0,018513	6,247	4,27E-05	***
pO2*Ang	0,02349	0,004974	4,722	0,000495	***
Temp*pO2	-0,076051	0,038713	-1,965	0,073055	.
Angle^2	0,025544	0,008879	2,877	0,01391	*
pO2	-0,0535	0,037229	-1,437	0,176267	

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0,001 '\*\*' 0,01 '\*' 0,05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0,1028 on 12 degrees of freedom  
 Multiple R-squared: 0,9797, Adjusted R-squared: 0,9713  
 F-statistic: 116 on 5 and 12 DF, p-value: 9,889e-10

La figure 74 permet de s'assurer de la qualité du modèle puisque les points correspondant aux temps de latence déterminés à l'aide de l'équation de Gompertz sont tous proches de la première bissectrice.



□\*ÉG□ □□□cT EjG\*Ich(q I-cxjC\*pT ql(q Sjl q(q I=qTEI(q -j-qhbqlq)IE7C\*Th-jÉI□  
 □cx □□-jx□□q-(q I-cxjC\*pT ql(q Sjl q(q I=qTEI(q -j-qhbqlb)j-bÉ-7IEjC-□jC 7xCqII\*ch□  
 -\*h7j\*Cq□

□  
 l m(0)ER□□S f.( HRM)□ C6 fES n(C.D IRn(CV D)□ b HLDM)DIM)□ R pml(NEVf)(C. MRHLDM)D  
 D) MR(OLDF)Cf.( UFS pHDR( HR□□R(□□D)6 pf)E ).R (VnR) Etm□□R(Mn)(HRpnl(NR0Emp2F)R□  
 F)m(ORF)m(ORF)CUf.6 ES RnR□□RURMRM)□ pfC( DpfDUNRS R( 2fEDNS (Rf)□NRVRE□□  
 NRdpfC( DUFER)□f.Mm( ç NRDDC□□PRS p□□□ /□□pe □□□□ □□□□ n(□□□□-f)ED□□□.0NR□□□□ □□  
 R(ç NRDDC□ □PRS p□□□ /□□pe □□□□□□□□ □□□□ n(□□□□ -f)ED□□□.0NR□□□□ □□I□□□RDM)□  
 0Emp2F)RDUf.6 ES R( NnM)□ C9S RfRS nF)R□6n(CR)DE NRDELN(n(DMRn)ELORDDf. □NCL n(ER□  
 Pf)( RfCDURDM)□ pfC( DRDR( MRd)□( REVnR)MRLf.6 GmURç□ □ m(f)E □MRn)MECR□  
 (2LfEF)R□T.6C□).R □mmNR MRn)MQmUR MR□fA R( MRn)MQmUR MR□ RND2 é )2□pf)E□  
 U2n). MR□ pfC( DR S) f.( Rpm)MR□ pfC. (DRVRE)□

□  
 □

□

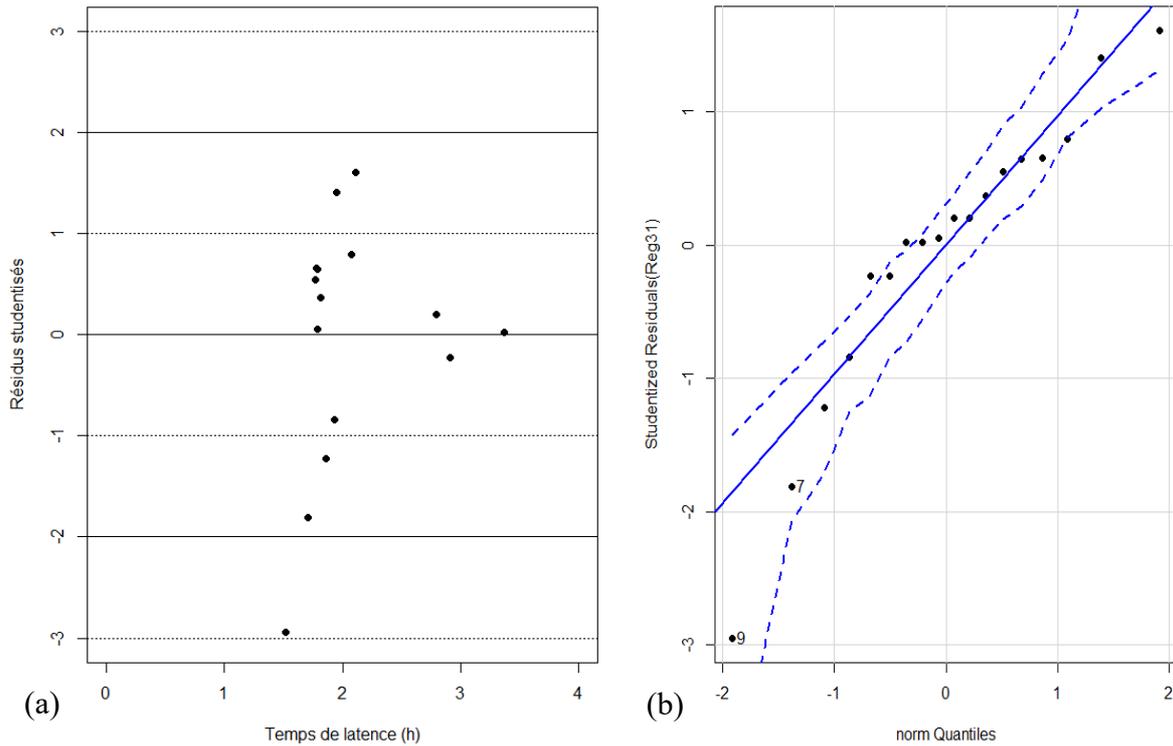


Figure 75 : Étude des résidus du modèle de régression linéaire ascendante sur le logarithme de base 10 du temps de latence ( $\log_{10}(\text{lag})$ ) calculé par l'équation de Gompertz : (a) = résidus studentisés et (b) graphique quantile-quantile.

Une autre approche de l'étude des résidus consiste à effectuer différents tests 1/ sur la normalité des résidus (Test de Shapiro), 2/ sur l'indépendance des résidus (Test de de Durbin Watson) et 3/ sur l'homoscédaticité des résidus (Test de score de variance). Le tableau 15 récapitule les résultats correspondant à ces différents tests. Si des écarts à la normalité existent, ils sont faibles et il n'y a pas de différence de variance entre les mesures.

Tableau 15 : Tests statistiques de Shapiro, de Durbin Watson et du score de variance non-constante sur le logarithme de base 10 du temps de latence ( $\log_{10}(\text{lag})$ ) calculé par l'équation de Gompertz.

Test utilisé	Norme	Résultats
Test de Shapiro	$p > 0,05$	$p = 0,308$
Test de Durbin Watson	D-W entre 1 et 3 et $p > 0,05$	D-W = 2,439 et $p = 0,31$
Test du score de variance non-constante	$p > 0,05$	$p = 0,047$

Comme indiqué dans le chapitre Matériels et Méthodes, il existe plusieurs façons d'évaluer la qualité de la régression. Une première façon consiste à examiner les graphiques Variable + Résidu (figure 76). La courbe bleue en pointillés correspond à une corrélation parfaite et la

courbe rose correspond à la courbe issue de la régression. Pour chacune des cinq variables de la régression linéaire, les écarts entre les courbes sont faibles ce qui indique une bonne adéquation du modèle obtenu.

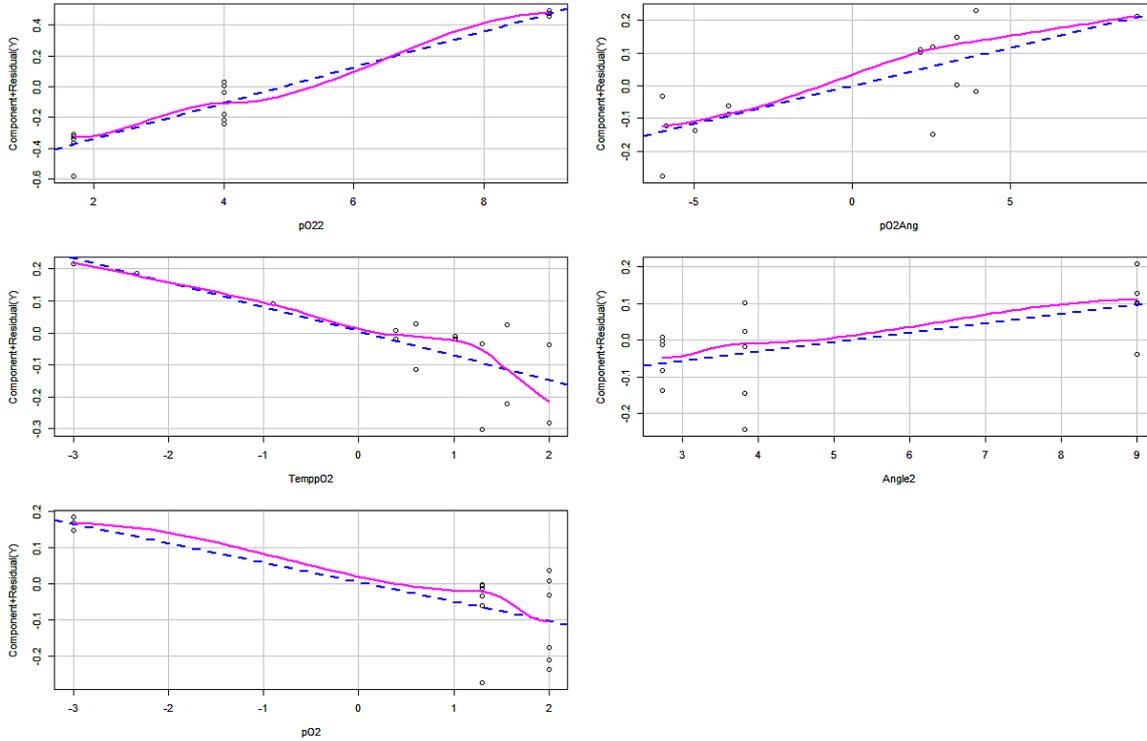


Figure 76 : Graphiques Variable + Résidu pour les variables de la régression linéaire sur le logarithme de base 10 du temps de latence ( $\log_{10}(\text{lag})$ ) calculé par l'équation de Gompertz.

Une seconde façon consiste à regarder les facteurs d'inflation de la variance (FIV ou VIF en anglais). Nous avons pris la norme  $VIF < 5$  comme critère d'évaluation. Le tableau 16 montre les résultats concernant les variables de la régression linéaire ascendante. Ainsi, il reste des colinéarités fortes entre  $pO_2$ ,  $pO_2^2$  et  $pO_2 \times \text{Temp}$ .

Tableau 16 : Récapitulatif du VIF ( $\log_{10}(\text{lag})$ ).

	Norme	$pO_2^2$	$pO_2 \times \text{Angle}$	$\text{Temp} \times pO_2$	$\text{Angle}^2$	$pO_2$
VIF	< 5	5,433	1,071	7,059	1,005	11,544

Cette colinéarité résiduelle est confirmée par l'analyse de l'importance relative des facteurs de la régression (figure 77). En effet,  $pO_2$  est le facteur prépondérant dans la constitution de  $R^2$  (> 80 %) dans les virements de couleur comparé à la température, au temps de maturation et

l'angle de découpe quelques soient les métriques utilisées (LMG, Last, First, Pratt, Genizi et CAR).

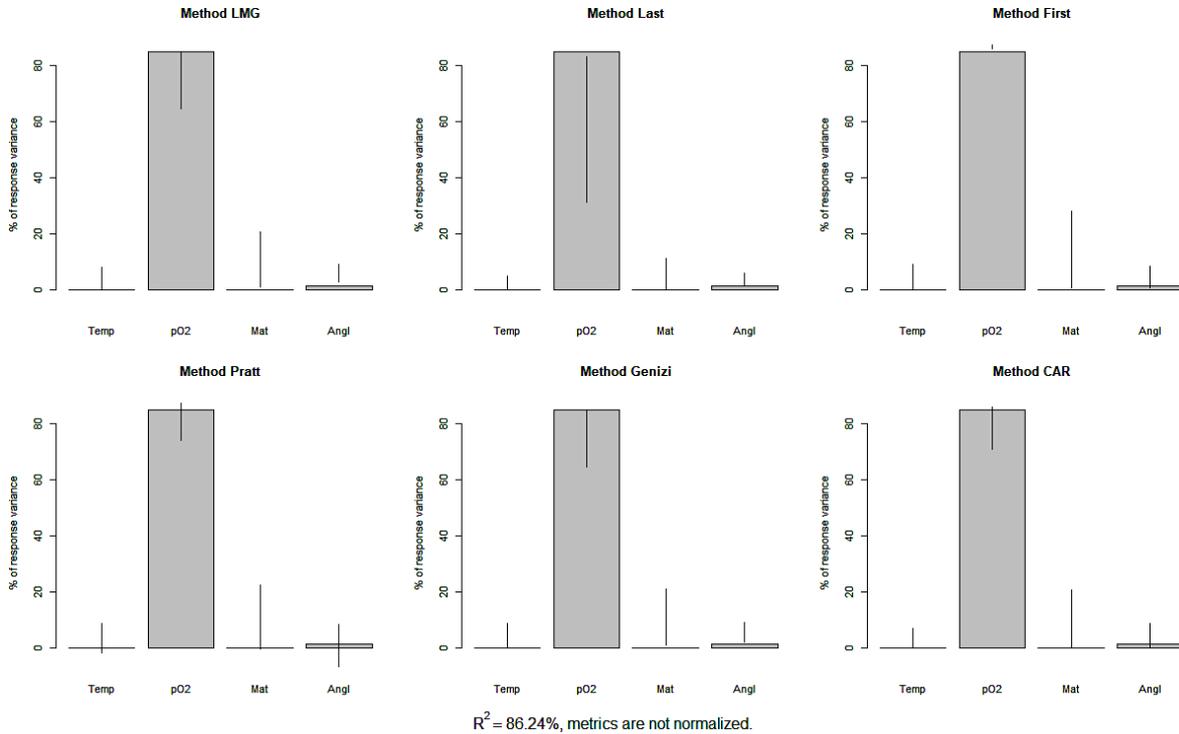


Figure 77 : Importance relative des variables de la régression linéaire ascendante du logarithme de base 10 du temps de latence ( $\log_{10}(\text{lag})$ ) selon les méthodes LMG, Last, First, Pratt, Genizi et CAR.

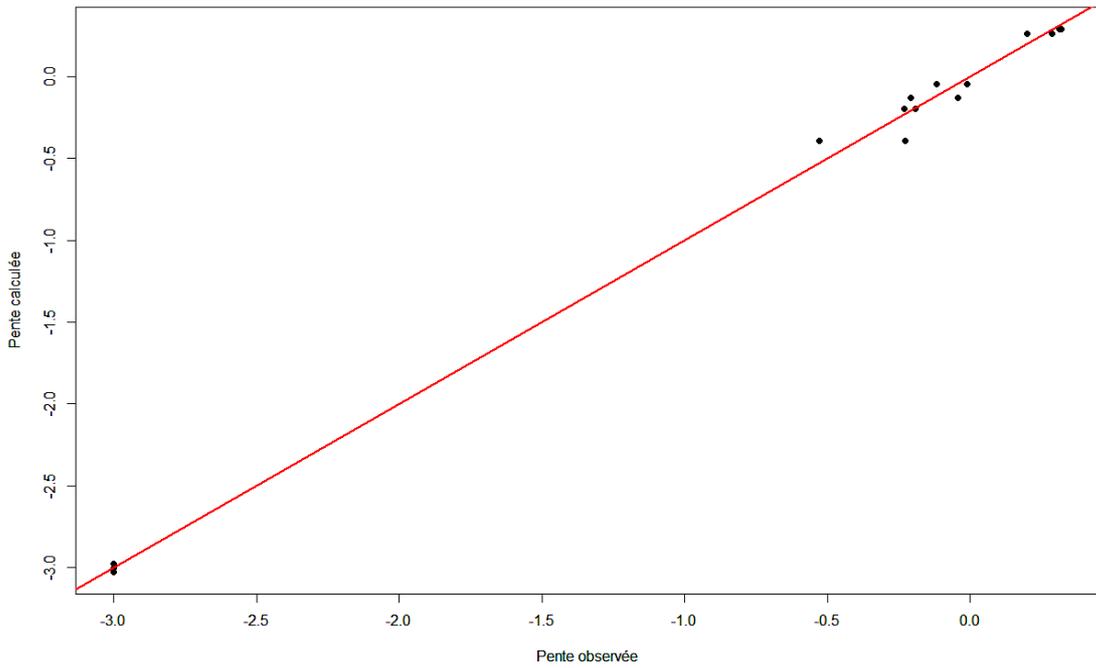
### 3.2.3 Régression linéaire sur le paramètre $\mu_{\max}$

Une étude similaire a été réalisée sur le paramètre  $\mu_{\max}$  (tableau 13) déterminé par l'équation de Gompertz. De nouveau, l'utilisation d'une régression linéaire suivie d'une régression linéaire descendante ou bien d'une régression linéaire ascendante ou bien de l'algorithme de Furnival et Wilson (1974) donne des résultats identiques (tableau 17). Le modèle donne des prévisions satisfaisantes (figure 78).

$\square pjE * Gq \square \surd \square 7IE - j - Iq - (* IbÉII * chI \square$

$ejs - qjÉ \square \square \square 7IE - j - I(q \square jC 7xCqII * ch \square * h7j * CqjI \square bqh(jh - qEcÉC - q - cxjC * pTq(q \square Sjl \square q(q \square$   
 $\square - jEq \square h - q \square - cx \square \square \square 6TjI \square \square \square$

lx e , 28-9	lx 04488	x 77 , ,	x 08789	xe 8, 806
:M x e 9 , , 42				
0	x 44 , - 6	x 0 , 907	- 0 68 ,	0 4 2   x 9
010	lx 089692	x - 4 , 67	l - , 022	4 7 , 2   x 4
010	lx , , 64	x x 6 x -	18 6 6 9	x x x x 0 , ,
0n 0 0	x - 8028	x x 7699	, 679	x x x 7 x -
0 0 0 0 0	lx - 84 - 6	x x x 8 - , ,	10 2 6 9	x - 2 , 7



$\square * ÉCq \square \square \square cT EjG * Ich(q \square I - cxjC * pTq(q \square Sjl \square q(q \square IEqh - qlq \square IE7C * Tqh - j - ql \square$   
 $\square - cx \square \square 6TjI \square \square q - (q \square I - cxjC * pTq(q \square Sjl \square q(q \square IEqh - qlb - j - bÉ - 7qlEjC - jC 7xCqII * ch \square * h7j * Cq \square$

L'analyse des résultats diffèrent peu de l'analyse concernant le temps de latence, seuls les points de différence importants seront développés :

- une différence notable avec le temps de latence concerne la distribution des résidus. En effet, la médiane des résidus est proche de zéro, et les valeurs absolues des 1<sup>er</sup> et 3<sup>ème</sup> quartiles sont proches ainsi les valeurs absolues des valeurs minimales et maximales (figure 79 (a)) ;
- deux points (figure 79 (b)) sont très proches de l'intervalle de confiance à 95 % de la droite théorique du graphique quantile-quantile : le point 14 (Temp = 6 °C ; pO<sub>2</sub> = 100 % ; Mat = 0 jour ; Angle = 90°) et le point 17 (Temp = 6 °C ; pO<sub>2</sub> = 100 % ; Mat = 0 jour ; Angle = 90°);
- seules les variables pO<sub>2</sub> et pO<sub>2</sub><sup>2</sup> ont des FIV supérieures à 5 (tableau 18).

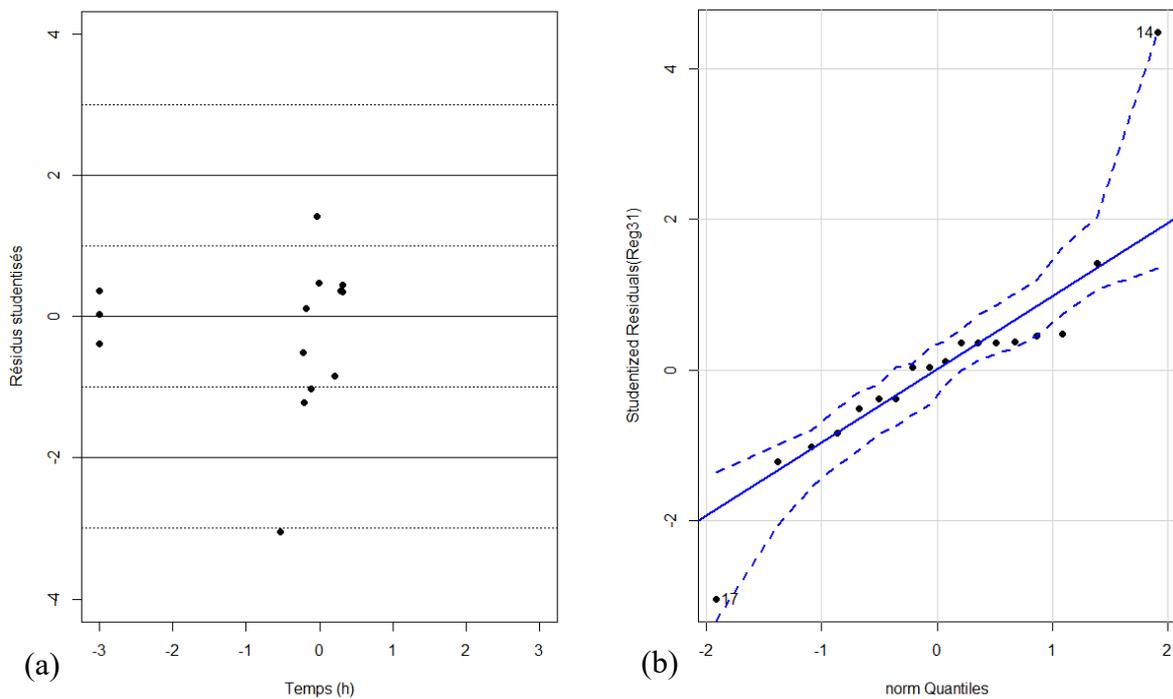


Figure 79 : Étude des résidus du modèle de régression linéaire ascendante sur le logarithme de base 10 de la pente ( $\log_{10}(\mu_{max})$ ) calculé par l'équation de Gompertz : (a) = résidus studentisés et (b) graphique quantile-quantile.

Tableau 18 : Récapitulatif du VIF ( $\log_{10}(\mu_{max})$ ).

	Norme	pO <sub>2</sub>	pO <sub>2</sub> <sup>2</sup>	Mat <sup>2</sup>	pO <sub>2</sub> *Mat	Mat*Ang
VIF	< 5	7,919	9,947	1,02	1,081	2,046

Par contre, l'analyse statistique des résidus ne détecte pas d'écart significatif à la normalité (test de Shapiro), ni à l'indépendance des résidus (Test de Durbin Watson) et ni à l'homoscédaticité (tableau 19). Les distances de Cook et de Welsch-Kuh n'ont pas mis en évidence de points leviers. Enfin, la variable pO<sub>2</sub> est le facteur explicatif prédominant (> 80 %) comme dans le cas du temps de latence.

Tableau 19 : Récapitulatif des tests statistiques de Shapiro, de Durbin Watson et du score de variance non-constante ((log<sub>10</sub>(μ<sub>max</sub>)).

Test utilisé	Norme	Résultats
Test de Shapiro	p > 0,05	p = 0,428
Test de Durbin Watson	D-W entre 1 et 3 et p > 0,05	D-W = 2,246 et p = 0,64
Test du score de variance non-constante	p > 0,05	p = 0,152

### 3.2.4 Modèle des cinétiques de a\*

Il est maintenant possible de combiner les deux modèles précédents en un modèle décrivant la cinétique d'évolution du paramètre colorimétrique a\* en fonction du temps (équation 7). Le modèle s'écrit :

$$a^* = a_{initial}^* + (a_{final}^* - a_{initial}^*) \times e^{-e^{\frac{\mu_{max} \times e^1 \times (lag - temps)}{(a_{final}^* - a_{initial}^*) \times \log(10)} + 1}} \quad \text{Eq. (7)}$$

avec a\*, la valeur calculée grace au modèle ; a\*<sub>initial</sub>, la valeur de a\* initiale mesurée ; a\*<sub>final</sub>, la valeur de a\* finale mesurée,

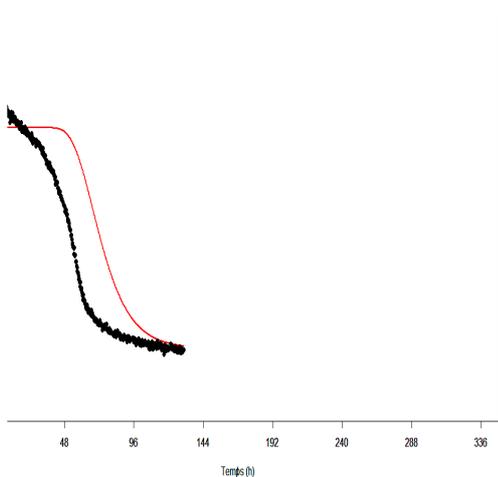
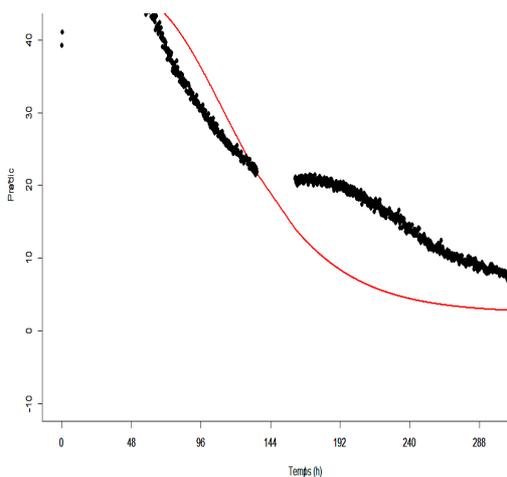
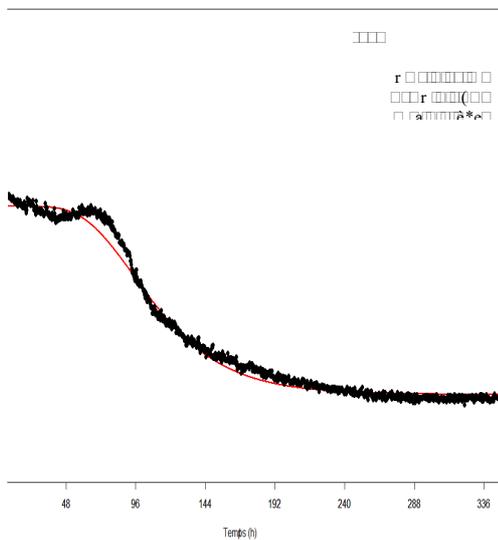
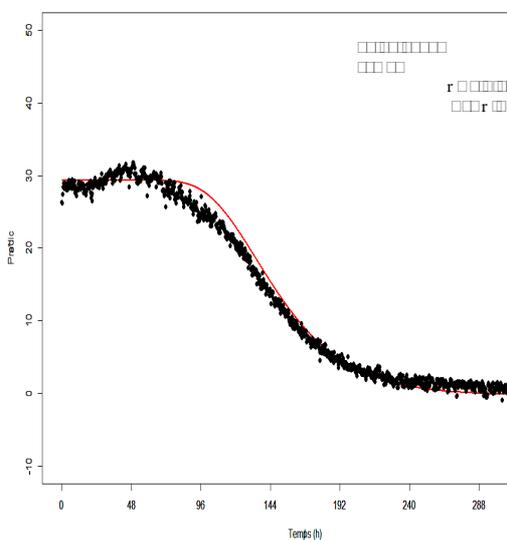
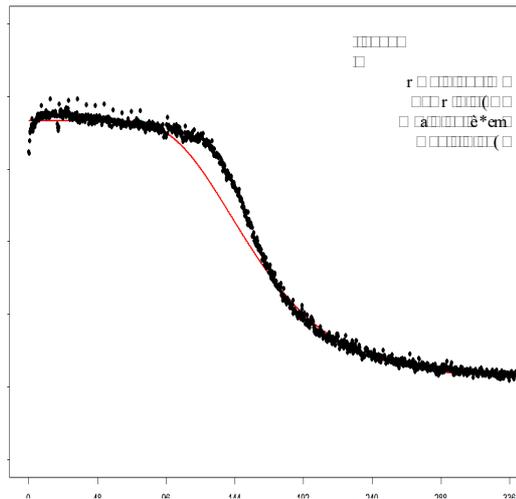
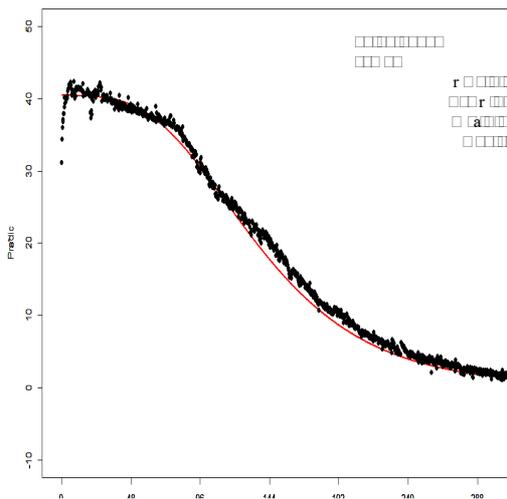
$$lag = 10^{1,544951 + 0,115647 * pO_2^2 + 0,023490 * pO_2 * Angle + 0,025544 * Angle^2}$$

$$\text{et } \mu_{max} = -10^{0,383397 + 0,299315 * pO_2 - 0,268587 * pO_2^2 - 0,033359 * Mat^2 + 0,016276 * pO_2 * Mat - 0,016915 * Mat * Angle}$$

Ce modèle peut donc être utilisé pour prédire les virements de couleur de la viande rouge fraîche. En effet, à partir des valeurs de a\*<sub>initial</sub>, a\*<sub>final</sub> et en fonction de la température de stockage, de la pression partielle en dioxygène, du temps de maturation et de l'angle de découpe, un temps de virement moyen peut être calculé.

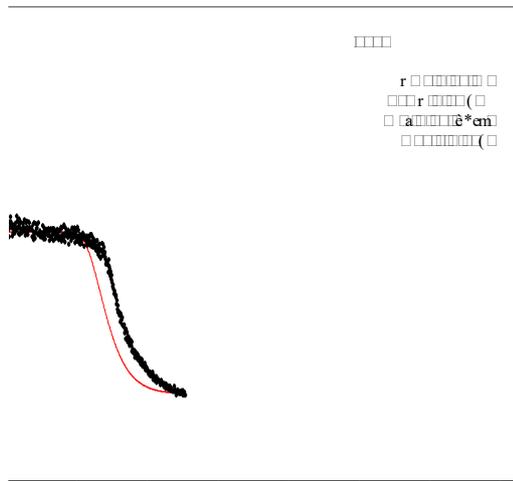
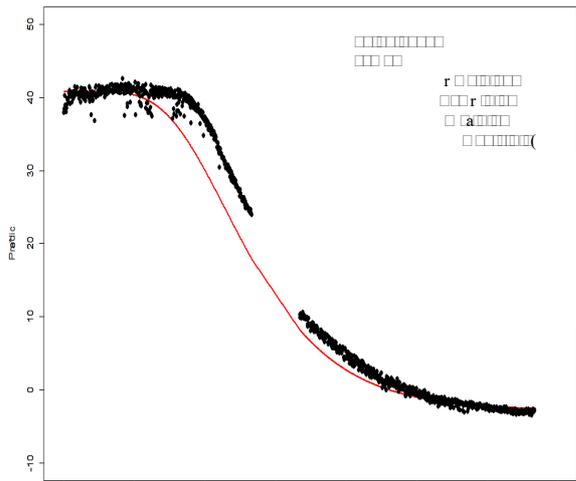
### 3.2.5 Vérification du modèle déterminé

Une fois le modèle établi, les courbes calculées et les courbes expérimentales ont été superposées afin de vérifier si le modèle est applicable à chaque condition. Les courbes (calculées et expérimentales) sont présentées en figure 80 et 81. Les courbes avec 0 % de dioxygène (100 % azote) qui sont constantes au cours du temps ne sont pas présentées.

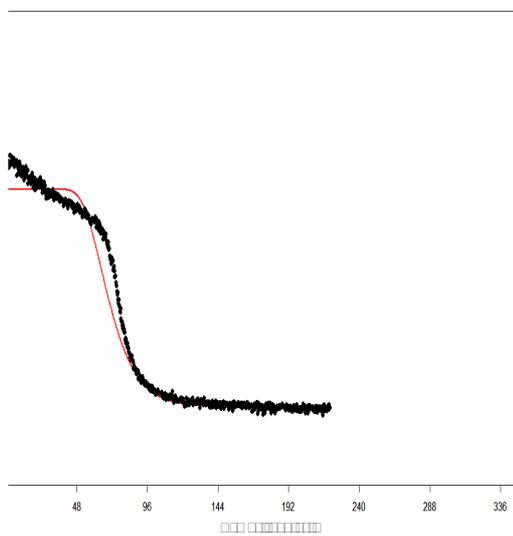
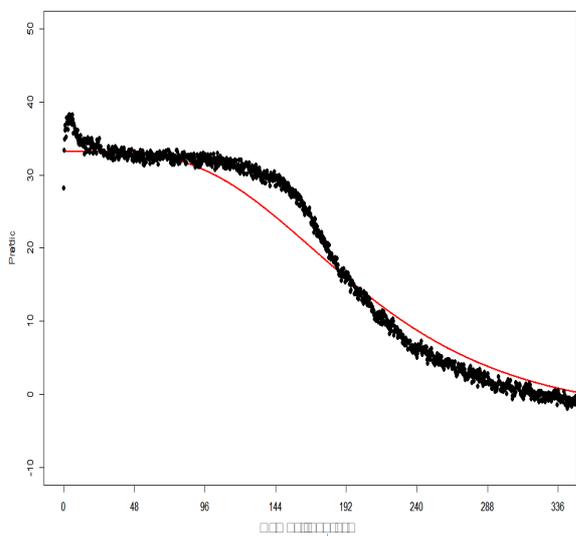


□  $x \dot{E} Q$  □ □ □  $c \dot{E} S q I (q \quad j - q \dot{E} Q (q \quad j \bar{b} \quad j - b \dot{E} - 7 q I \bar{q} - \bar{q} I E \mathcal{T}^* T \quad q h - j - q I \quad * T \quad j x q \quad I = G^* - 7 q I \dot{E} \quad \cdot \quad T q \quad \square$   
 $q h \dot{E} ch b - ch (q \quad I (* \dot{e} \mathcal{T} G h - q I b ch (* - ch I \bar{q} I E \mathcal{T}^* T \quad q h - j - q I \dot{E} \bar{b} \quad c \dot{E} Q (\dot{E} \quad q T E I \quad \square \square E j C - * q \quad \square$

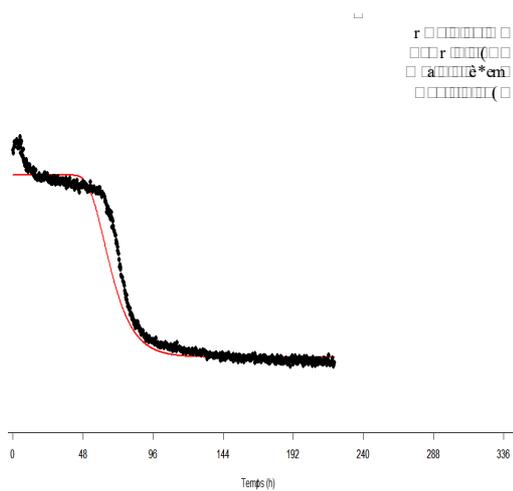
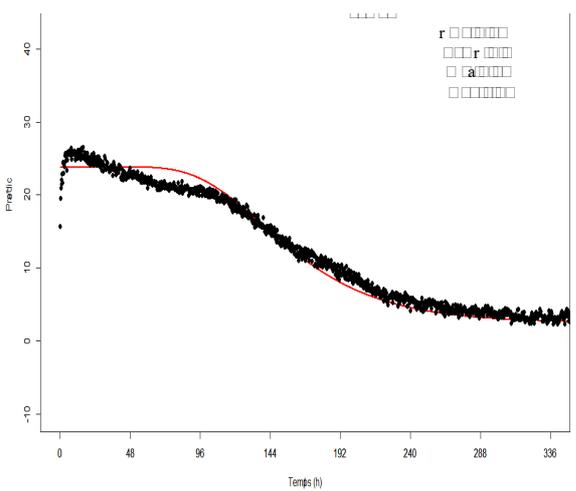
□  $p_j E^* G$  □ ▽  $l \text{ } \eta \text{ } \dot{E} \text{ } j \text{ } - \text{ } I \bar{q} \text{ } - \text{ } (* \text{ } I b \dot{E} \text{ } II \text{ } * \text{ } ch \text{ } I$  □



□



□



□ □

□

□  $* \dot{E} G$  □ □ □ □  $c \dot{E} S q l(\dot{q} \text{ } \square \text{ } j \text{ } - \text{ } q \dot{E} Q(\dot{q} \text{ } j \dot{b} \text{ } \text{ } j \text{ } - \text{ } b \dot{E} \text{ } - \text{ } 7 q l \bar{q} \text{ } - \text{ } \bar{q} \text{ } I E \dot{C} \text{ } * \text{ } T \text{ } q h \text{ } - \text{ } q l \text{ } \square \text{ } * \text{ } T \text{ } j x q \text{ } I \text{ } \square \text{ } G \text{ } * \text{ } - \text{ } 7 q l j \dot{E} \text{ } \text{ } \text{ } . \text{ } T \text{ } q \text{ } \square \square$   
 $q h \dot{E} \text{ } ch b \text{ } - \text{ } ch(\dot{q} \text{ } I \text{ } (* \text{ } \acute{e} \dot{7} C q h \text{ } - \text{ } q l \text{ } \text{ } b \text{ } ch \text{ } (* \text{ } - \text{ } * \text{ } ch \text{ } I \text{ } q \text{ } I E \dot{C} \text{ } * \text{ } T \text{ } q h \text{ } - \text{ } q l j \dot{E} \dot{b} \text{ } \text{ } c \dot{E} Q(\dot{E} \text{ } \square \text{ } q \text{ } T \text{ } E I \text{ } \square \text{ } E j \text{ } C \text{ } * \text{ } q \text{ } \text{ } \square \text{ } \square$

□

### 3.3 Analyse de sensibilité du modèle de $a^*$ et intervalle de confiance sur la prévision de $a^*$

#### 3.3.1 Analyse de la sensibilité

L'analyse de sensibilité doit permettre de qualifier le modèle en termes de robustesse à une mauvaise estimation des coefficients des modèles linéaires du temps de latence et du temps de génération. Pour évaluer l'effet d'une perturbation sur la prévision, chacun des coefficients des modèles linéaires a vu sa valeur varier de -50 %, -20 %, -5 %, -2 %, -1 %, +1 %, +2 %, +5 %, +10 %, +20 % et +50%. Seuls les résultats concernant la courbe d'évolution du paramètre colorimétrique  $a^*$  réalisée dans les conditions suivantes :

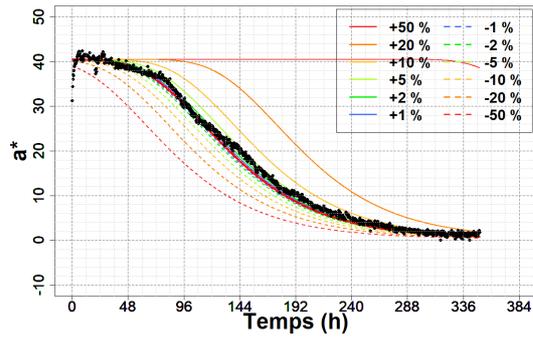
- pression partielle en dioxygène : 20 %,
- température de stockage de la viande : 10 °C,
- temps de maturation sous vide du muscle : 14 jours,
- angle de découpe du muscle en tranches : 90 °

seront présentés, sachant que des résultats similaires ont été obtenus pour les autres courbes expérimentales. Les deux modèles peuvent s'écrire :

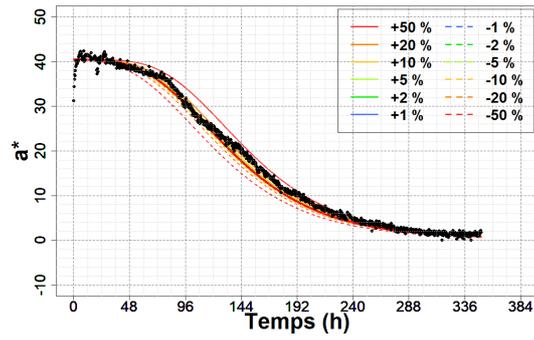
$$\text{lag} = 10^{b_0 + b_1 * pO_2^2 + b_2 * pO_2 * \text{Angle} + b_3 * \text{Temp} * pO_2 + b_4 * \text{Angle}^2 + b_5 * pO_2} \quad \text{Eq. (8)}$$

$$\text{et } \mu_{\max} = -10^{c_0 + c_1 * pO_2 + c_2 * pO_2^2 + c_3 * \text{Mat}^2 + c_4 * pO_2 * \text{Mat} + c_5 * \text{Mat} * \text{Angle}} \quad \text{Eq. (9)}$$

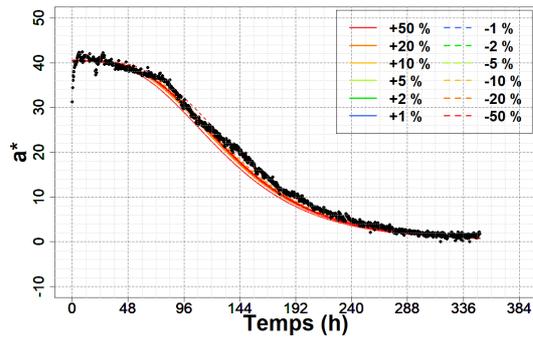
La figure 82 correspond à l'effet des coefficients du modèle du temps de latence et la figure 83 à l'effet des coefficients du modèle de la vitesse de décroissance sur la prévision de la cinétique de  $a^*$ . Celle-ci est essentiellement affectée par la valeur de quatre paramètres : les deux constantes  $b_0$  et  $c_0$  ainsi que  $c_1$  ( $pO_2$ ) et  $c_2$  ( $pO_2^2$ ) et encore pour des variations de 20 % ou plus. Cet effet est amplifié par le fait que les modèles développés sont du type  $\log_{10}(\text{Latence}) = f(\text{Conditions})$  et  $\log_{10}(\text{Vitesse}) = f(\text{Conditions})$ . Il s'agit de variations qui sont supérieures aux différents coefficients de variation (rapport entre l'écart-type et la valeur du coefficient exprimé en pourcentage) :  $CV_{b_0} = 6,9 \%$  -  $CV_{c_1} = 8,0 \%$  -  $CV_{c_2} = 7,2 \%$  - sauf pour le coefficient  $c_0$  où il s'agit du même ordre de grandeur  $CV_{c_0} = 27 \%$ . Pour des valeurs de perturbation inférieures ou égales à 20 %, le modèle de prévision des cinétiques de  $a^*$  peut être considéré comme robuste.



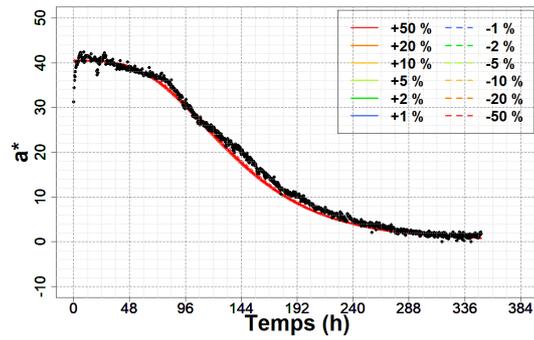
Variation du coefficient  $b_0$



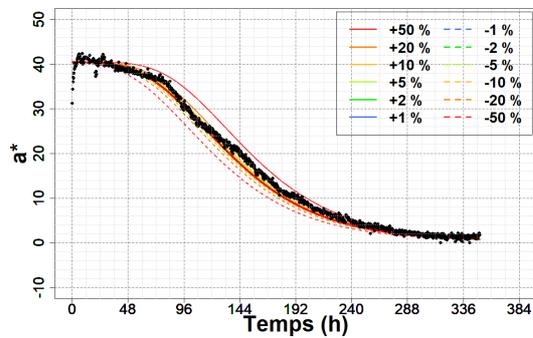
Variation du coefficient  $b_1$



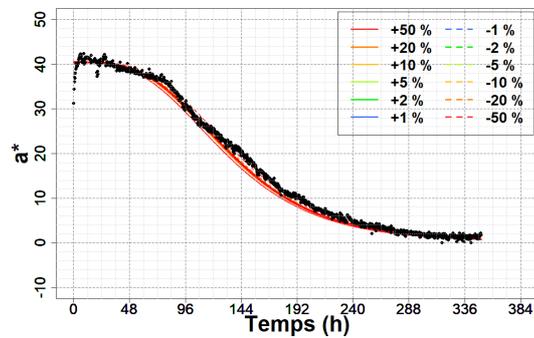
Variation du coefficient  $b_2$



Variation du coefficient  $b_3$

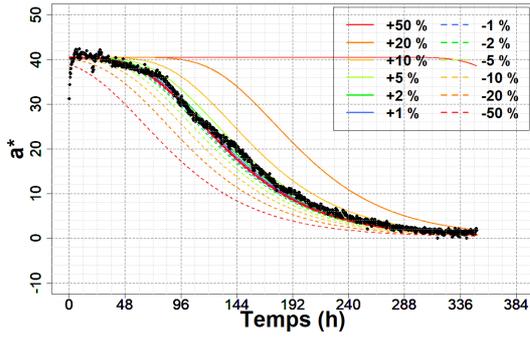


Variation du coefficient  $b_4$

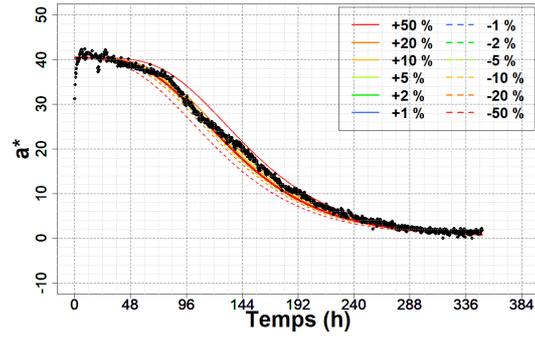


Variation du coefficient  $b_5$

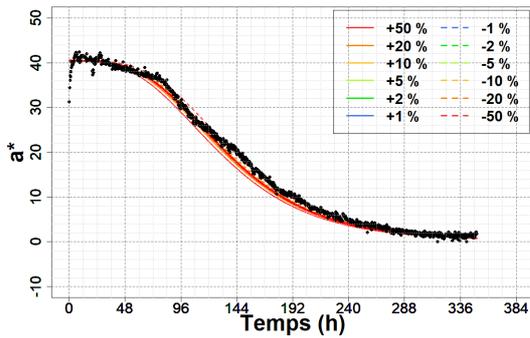
Figure 82 : Modifications des cinétiques de  $a^*$  en fonction de l'amplitude d'une perturbation sur un des coefficients du modèle de prévision (partie 1).



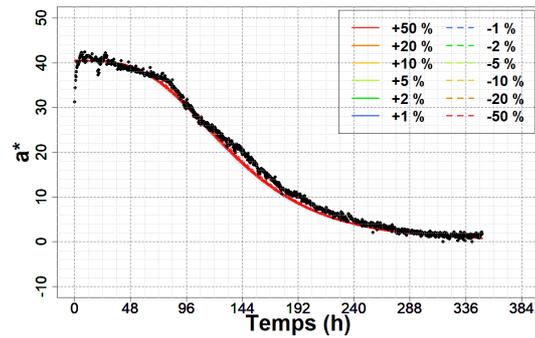
Variation du coefficient  $c_0$



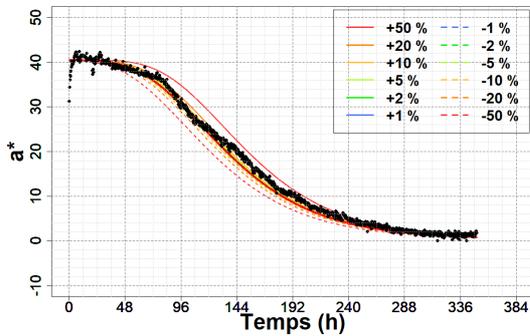
Variation du coefficient  $c_1$



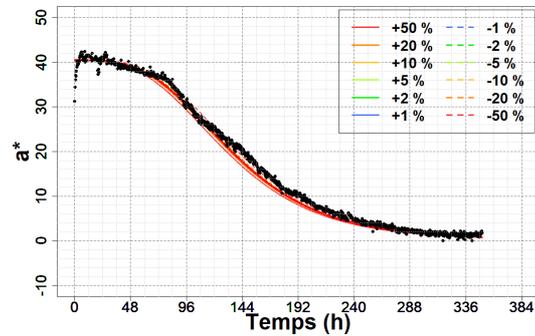
Variation du coefficient  $c_2$



Variation du coefficient  $c_3$



Variation du coefficient  $c_4$



Variation du coefficient  $c_5$

Figure 83 : Modifications des cinétiques de  $a^*$  en fonction de l'amplitude d'une perturbation sur un des coefficients du modèle de prévision (partie 2).

### 3.3.2 Intervalles de confiances sur la prévision de $a^*$

Une méthode de Monte-Carlo a été utilisée pour estimer les intervalles de confiance de prédiction sur chacune des courbes expérimentales en générant 5 000 courbes, puis en déterminant différents quantiles : 0,005 – 0,025 – 0,05 – 0,25 – 0,50 – 0,75 – 0,95 – 0,975 et

0,995 pour obtenir les intervalles de confiance à 50 %, 90 %, 95 % et 99 % ainsi que la médiane. Les résultats sont représentés sur la figure 84 et la figure 85.

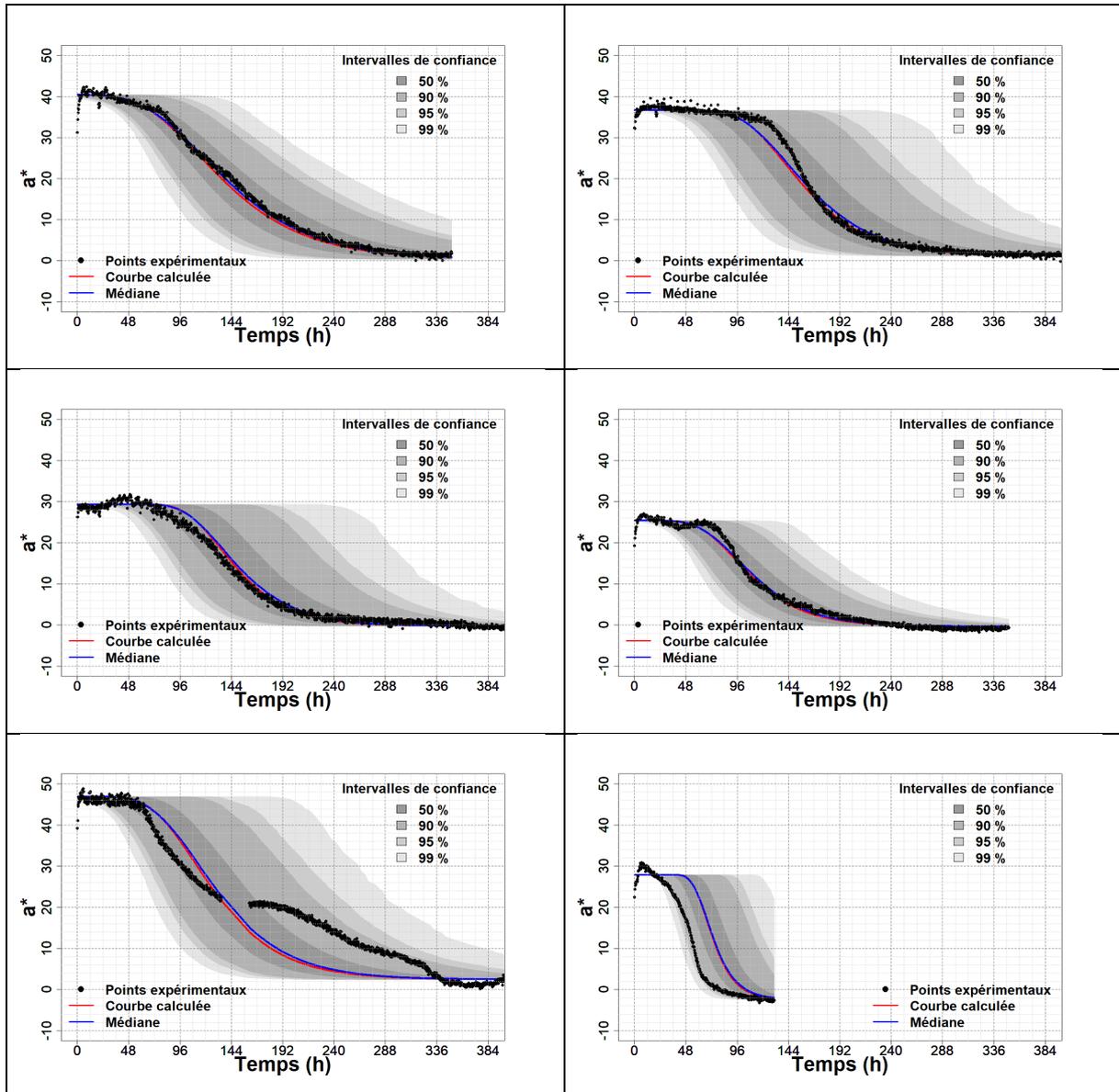


Figure 84 : Intervalles de confiance des cinétiques de  $a^*$  à partir de 5 000 cinétiques simulées par la méthode de Monte-Carlo (partie 1).

Cette étude – complémentaire de l'analyse de sensibilité – montre que la courbe calculée pour chacune des cinétiques de  $a^*$  et la médiane des 5000 courbes simulées sont quasiment superposées. De plus, les dispersions pour 50 % des cas sont de l'ordre de  $\pm 24$  h et  $\pm 48$  h pour 95 % des cas. Ce résultat peut être considéré comme satisfaisant pour une application du modèle en milieu industriel.

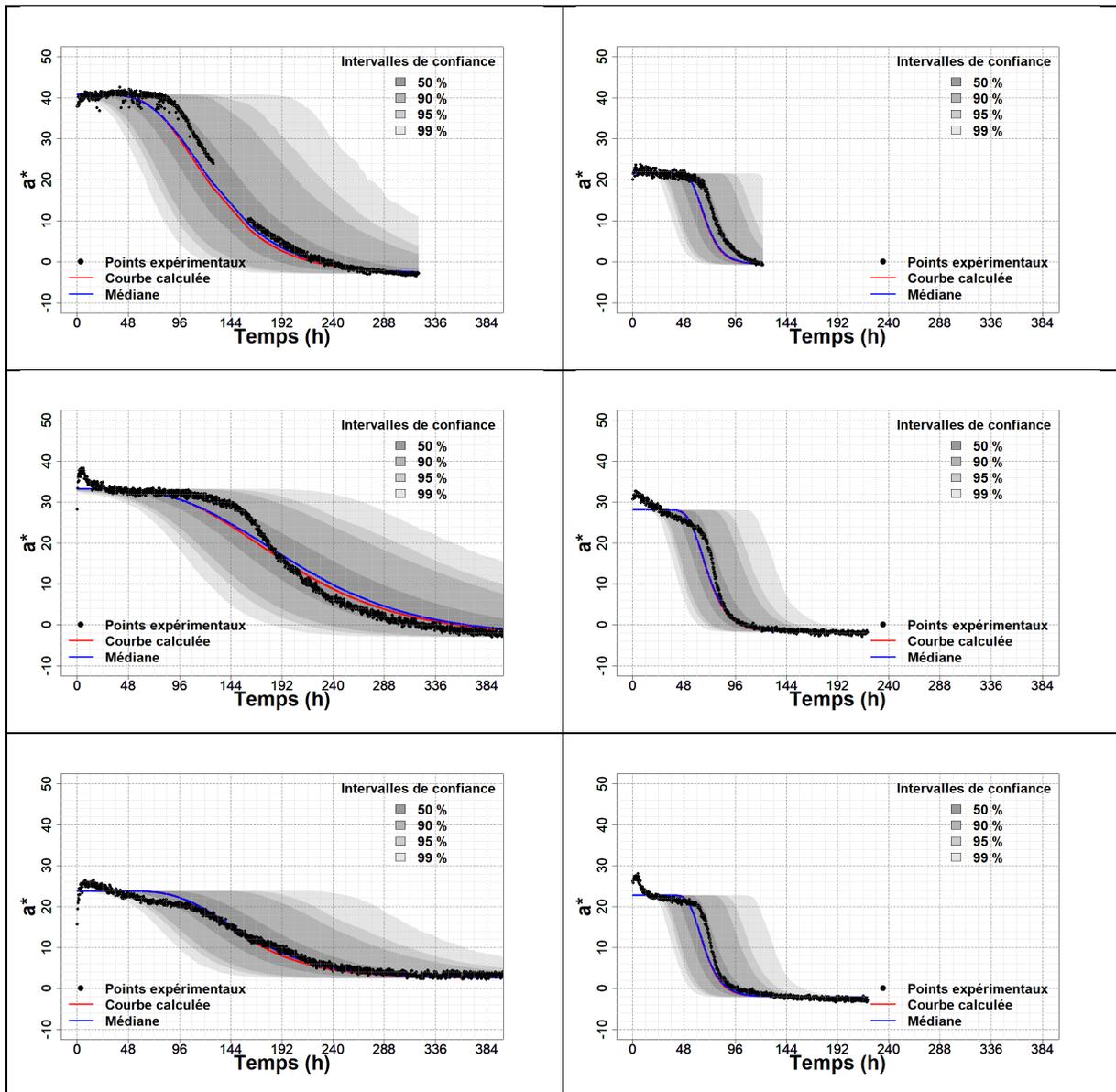


Figure 85 : Intervalles de confiance des cinétiques de  $a^*$  à partir de 5 000 cinétiques simulées par la méthode de Monte-Carlo (partie 2).

### 3.4 Résultats des facteurs impactant le temps de virement de couleur

#### 3.4.1 Données initiales

Les temps de virement ont été déterminés à partir des courbes de valeurs de  $a^*$  expérimentales comme il a été indiqué dans le chapitre II Matériel et Méthodes (3.4). Les temps de virement sont récapitulés dans le tableau 20.

*Tableau 20 : Synthèse du plan d'expérience de Jones et Nachtsheim avec les conditions expérimentales (Température de stockage,  $pO_2$  soit la pression partielle en dioxygène, le temps de maturation et l'angle de découpe), le temps de virement à la fin du palier initial, le temps de virement au point d'inflexion et la moyenne entre les deux, appelé temps moyen.*

Date/Caméras	Conditions expérimentales				Virement		Virement final	
	Température	$pO_2$	Maturation	Angle	Temps onset	Temps midpoint	Temps moyen	
30/03/2018	cam0	2	0	7	90	618,75	618,75	618,75
	cam1	2	0	7	90	618,75	618,75	618,75
	cam2	2	20	0	0	77,25	151,75	114,50
	cam3	2	100	14	45	122,25	157,5	139,88
	cam4	2	100	14	45	93,75	135,25	114,50
	cam5	2	20	0	0	83,75	95,5	89,63
26/04/2018	cam0	10	100	7	0	59,5	72,25	65,88
	cam1	10	0	0	45	811	811	811
	cam2	10	20	14	90	43,75	53	48,38
	cam3	10	100	7	0	87	109,25	98,13
	cam4	10	0	0	45	811	811	811
	cam5	10	20	14	90	64,5	75,25	69,88
31/05/2018	cam0	6	0	14	0	2328,75	2328,75	2328,75
	cam1	6	100	0	90	133	176,25	154,63
	cam2	6	20	7	45	58,5	76	67,25
	cam3	6	0	14	0	2328,75	2328,75	2328,75
	cam4	6	100	0	90	107,5	140	123,75
	cam5	6	20	7	45	58,25	72,25	65,25

La fonction logarithme base 10 a été appliquée à toutes les valeurs de ce tableau. Les valeurs du temps de virement reportées pour les expériences sous azote ( $pO_2 = 0\%$ ) correspondent au temps total de l'expérience et non pas au temps de virement car aucune des viandes sous azote n'a viré.

#### 3.4.2 Régression linéaire

La même stratégie que précédemment a été suivie : régression linéaire suivie d'une régression linéaire descendante, régression linéaire ascendante ou sélection des variables par l'algorithme de Furnival et Wilson (1974). Le tableau 21 récapitule les résultats de la régression. Les temps de virement prédits sont proches des temps de virement expérimentaux (figure 86).



Il n'y a pas de points hors-limites détectés par l'analyse des résidus studentisés ou le graphique quantile-quantile ni de points leviers. De même, les tests statistiques sur les résidus (normalité, indépendance et homoscedasticité) sont satisfaisants. L'analyse des graphiques Variable + Résidu montre une bonne adéquation du modèle. Enfin, tous les Facteurs d'Inflation de Variance (FIV) sont inférieurs ou égaux à 4. Enfin, comme pour le temps de latence ou la pente,  $pO_2$  est le facteur prépondérant (> 80 %) dans la régression.

### 3.4.3 Représentation des facteurs impactant le temps de virement

L'impact des facteurs étudiés sont représentés sur la figure 87 (a et b) et la figure 88. Afin de mieux comprendre leurs impacts, un exemple de ce que l'on retrouve en industrie peut être utilisé. Le graphique 3D rouge (figure 87) représente les valeurs du temps de virement (axe Y) pour une entrecôte maturée 14 jours ( $\log_{10}(14) = 1,146$ ) et stockée à 2 °C ( $\log_{10}(2) = 0,3$ ). La pression partielle en dioxygène est représentée sur l'axe des X et l'angle de découpe sur l'axe des Z. En ce qui concerne la  $pO_2$ , deux impacts différents sont observables sur le temps de virement de couleur, une première phase de diminution du temps de virement de couleur puis une phase d'augmentation du temps de virement de couleur. Pour une valeur de  $pO_2$  proche de 0 % ( $\log_{10}(0,001) = -3,0$ ), le temps de virement est supérieur à 1000 heures ( $\log_{10}(1000) = 3,0$ ). Puis, plus la  $pO_2$  augmente plus le temps de virement diminue jusqu'à atteindre un minimum de  $pO_2$  égal à environ 4 % ( $\log_{10}(4) = 0,6$ ) correspondant à un temps de virement minimum d'environ 50 heures ( $\log_{10}(50) = 1,7$ ), ce qui correspond à la phase de diminution. Enfin, plus la  $pO_2$  continue à augmenter plus le temps de virement augmente. En effet, pour une  $pO_2$  de 100 % ( $\log_{10}(100) = 2,0$ ), le temps de virement est d'environ 141 heures ce qui correspond à la phase d'augmentation (figure 87 (a)). Cela signifie que si la viande est sous vide ( $pO_2$  proche de 0 %), le virement de couleur apparaît très tardivement. Si la viande est exposée à une  $pO_2$  proche de 4 %, le virement apparaît très rapidement. Enfin, plus la  $pO_2$  augmente (de 4 % à 100 %) plus le virement de la viande sera retardé cependant pas aussi longtemps qu'avec une  $pO_2$  proche de 0. Dans l'industrie de la viande, la différence entre  $pO_2 = 0,001$  % et  $pO_2 = 0,1$  % ne sera pas réalisable ; de même pour une découpe avec un angle de  $0,001^\circ$  ou de  $0,1^\circ$ . De ce fait, une modification des bornes des axes X et Z ont été réalisées. La figure 87 (b) et la figure 88 ont donc des valeurs de  $pO_2$  et Angle comprises entre -1 et 2. Ces figures permettent de visualiser l'impact de Angle, Temp et Mat sur le temps de virement de couleur. En ce qui concerne l'angle de découpe (figure 87 (a)), quand l'angle augmente, le temps de virement de

couleur augmente. En effet, pour une  $pO_2$  de 100 % ( $\log_{10}(100) = 2$ ) et pour un angle allant de 0,1 à 90 ( $\log_{10}(0,1) = -1,0$  et  $\log_{10}(90) = 1,9$ ) le temps de virement augmente de 100 à 126 heures environ ( $\log_{10}(100) = 2$  à  $\log_{10}(126) = 2,1$ ). Donc plus on se rapproche d'une coupe transversale par rapport aux fibres ( $90^\circ$ ), plus le virement de couleur est retardé. En ce qui concerne la température (figure 87 (a)), quand la température augmente ( $\log_{10}(2) = 0,3$  ;  $\log_{10}(6) = 0,778$  ;  $\log_{10}(10) = 1$ , représentées par les graphiques 3D rouge, cyan et orange respectivement), le temps de virement de couleur diminue. En effet, pour une  $pO_2$  de 100 % ( $\log_{10}(100) = 2$ ) et pour un angle de 0,1 ( $\log_{10}(0,1) = -1,0$ ), le temps de virement diminue de 100 à 63 heures environ ( $\log_{10}(100) = 2,0$  et  $\log_{10}(63) = 1,8$ ). Donc plus la température augmente, plus le virement de couleur est précoce. Enfin, les valeurs des facteurs correspondant au minimum du temps de virement soit 38 heures (soit 1,6 jours), sont  $pO_2 = 4\%$  ; Angle =  $0,1^\circ$  ; Temp =  $10^\circ\text{C}$  et Mat = 14 jours. Pour le maximum du temps de virement soit environ 145 heures (soit 6,0 jours), les valeurs sont  $pO_2 = 100\%$  (si le sous-vide c'est-à-dire  $pO_2 = 0,001\%$ , n'est pas pris en compte ; Angle =  $90^\circ$  ; Temp =  $2^\circ\text{C}$  et Mat = 0,1 jour.

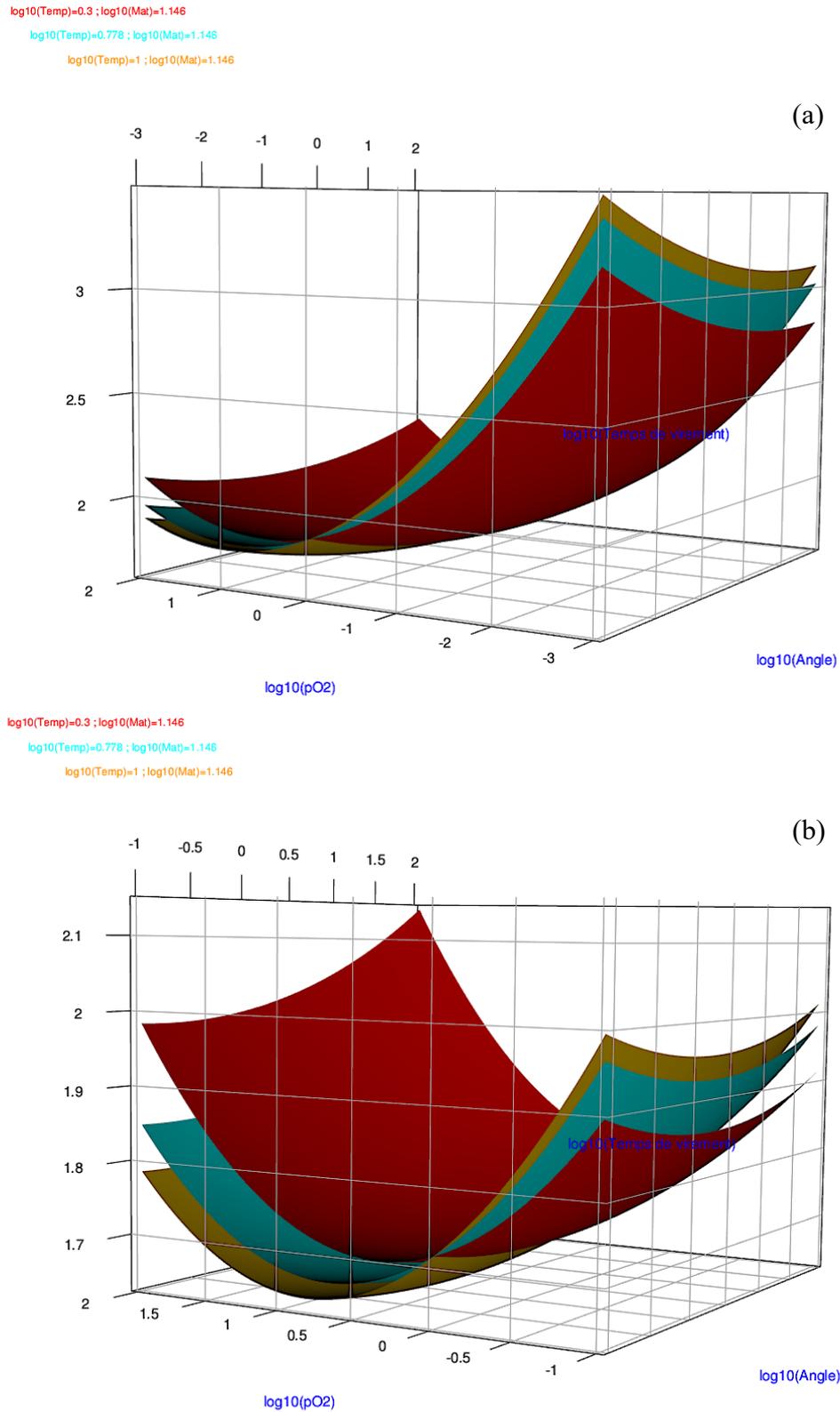


Figure 87 : Représentation en graphique 3D de l'impact des facteurs ( $pO_2$ , Angle, Temp, Mat) sur le temps de virement de couleur (avec les valeurs exprimées en logarithme de base 10). Sur la figure (a), la  $pO_2$  et Angle varient de (-3 à 2), Temp est représentée selon trois valeurs (0,3 ; 0,778 et 1) et Mat est fixée à 1,146. La figure (b) est un zoom avec des valeurs  $pO_2$  et Angle allant de -1 à 2.

Enfin en ce qui concerne le temps de maturation (figure 88), quand le temps de maturation augmente ( $\log_{10}(0,1) = -1$  ;  $\log_{10}(7) = 0,845$  ;  $\log_{10}(14) = 1,146$ , représentées par les graphiques 3D vert, bleu et rouge respectivement), le temps de virement de couleur diminue légèrement. En effet, pour une  $pO_2$  de 100 % ( $\log_{10}(100) = 2$ ) et pour un angle de 0,1 ( $\log_{10}(0,1) = -1,0$ ), le temps de virement diminue de 112 à 100 heures environ ( $\log_{10}(112) = 2,05$  et  $\log_{10}(100) = 2,0$ ). Donc plus le temps de maturation augmente, plus le virement de couleur est légèrement précoce.

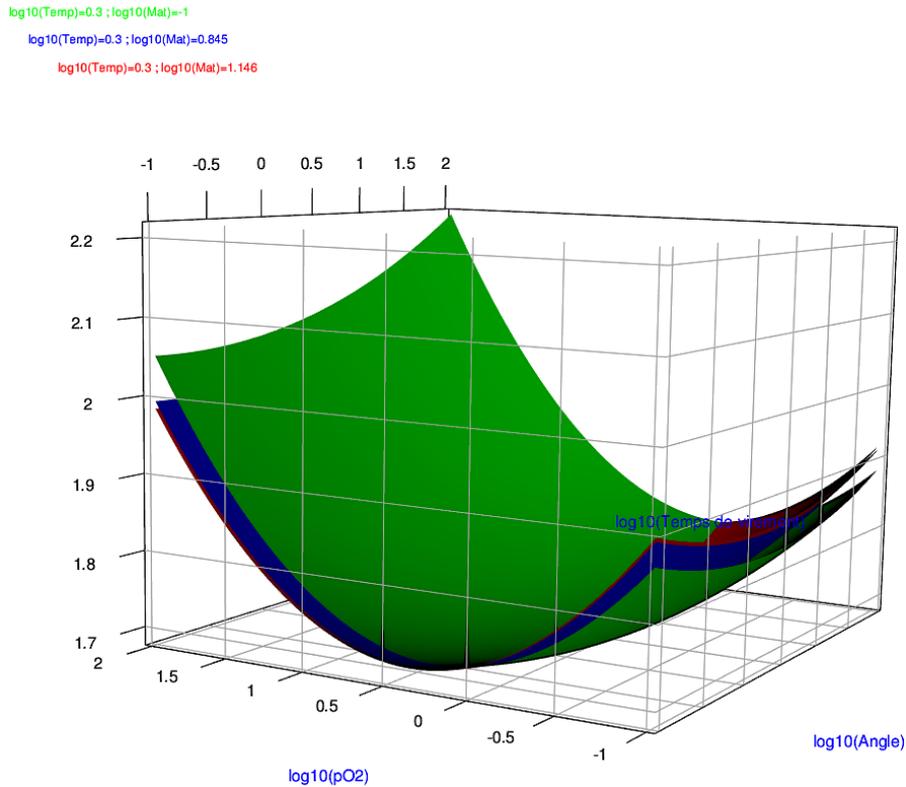


Figure 88 : Représentation en graphique 3D de l'impact des facteurs ( $pO_2$ , Angle, Temp, Mat) sur le temps de virement de couleur (avec les valeurs exprimées en logarithme de base 10).  $pO_2$  et Angle varient de (-1 à 2), Mat est représentée selon trois valeurs (-1 ; 0,845 et 1,146) et Temp est fixée à 0,3.

### 3.4.4 Analyse de sensibilité du modèle de prévision du temps de virement

Le modèle du temps de virement peut s'écrire sous la forme :

$$\text{Temps de virement} = 10^{d_0 + d_1 * pO_2^2 + d_2 * pO_2 * \text{Angle} + d_3 * \text{Temp} * pO_2 + d_4 * \text{Angle}^2 + d_5 * pO_2} \quad (\text{Eq. 10})$$

De la même façon que pour la cinétique de décroissance de  $a^*$ , le seul paramètre influençant réellement la valeur du temps de virement est la constante du modèle (figure 89) avec des

variations supérieures à  $\pm 20\%$ , valeur à comparer au coefficient de variation de cette constante (écart-type/moyenne) qui est égal à  $3,4\%$ . Des variations de  $\pm 50\%$  sur les autres coefficients du modèle entraîne des perturbations faibles. Le modèle du temps de virement peut être considéré lui aussi comme robuste.

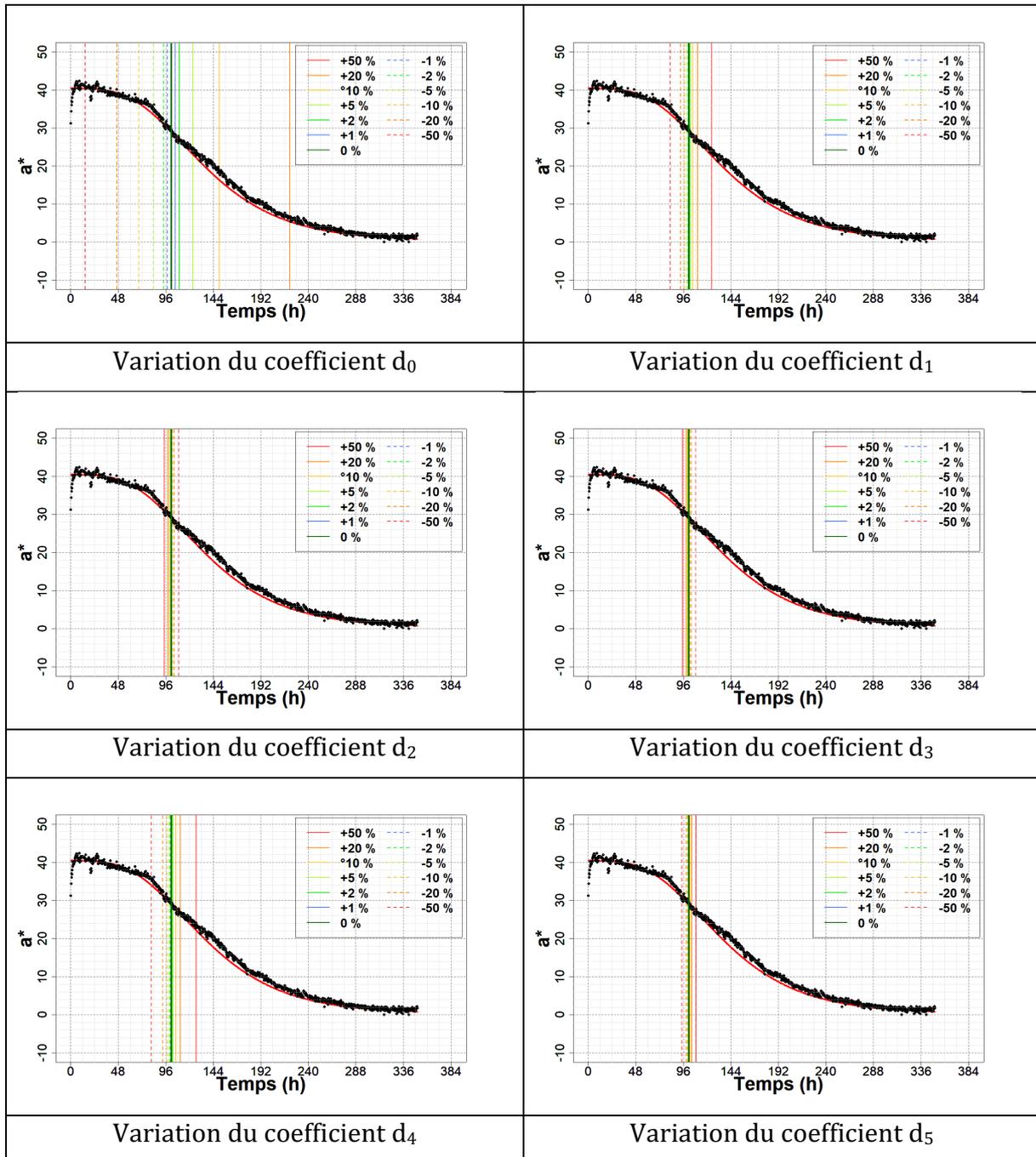


Figure 89 : Modifications du temps de virement de couleur en fonction de l'amplitude d'une perturbation sur un des coefficients du modèle de prévision.

### 3.4.5 Intervalles de confiance pour la prévision du temps de virement

À nouveau, une technique de Monte-Carlo a été utilisée (5 000 courbes simulées) pour tracer les intervalles de confiance (figure 90 et figure 91). Comme pour l'analyse de sensibilité, il n'y a pas de grande dispersion : pour 50 % des cas sont de l'ordre de  $\pm 24$  h et  $\pm 48$  h pour 95 % des cas. Ce résultat peut être considéré comme satisfaisant pour une application du modèle en milieu industriel.

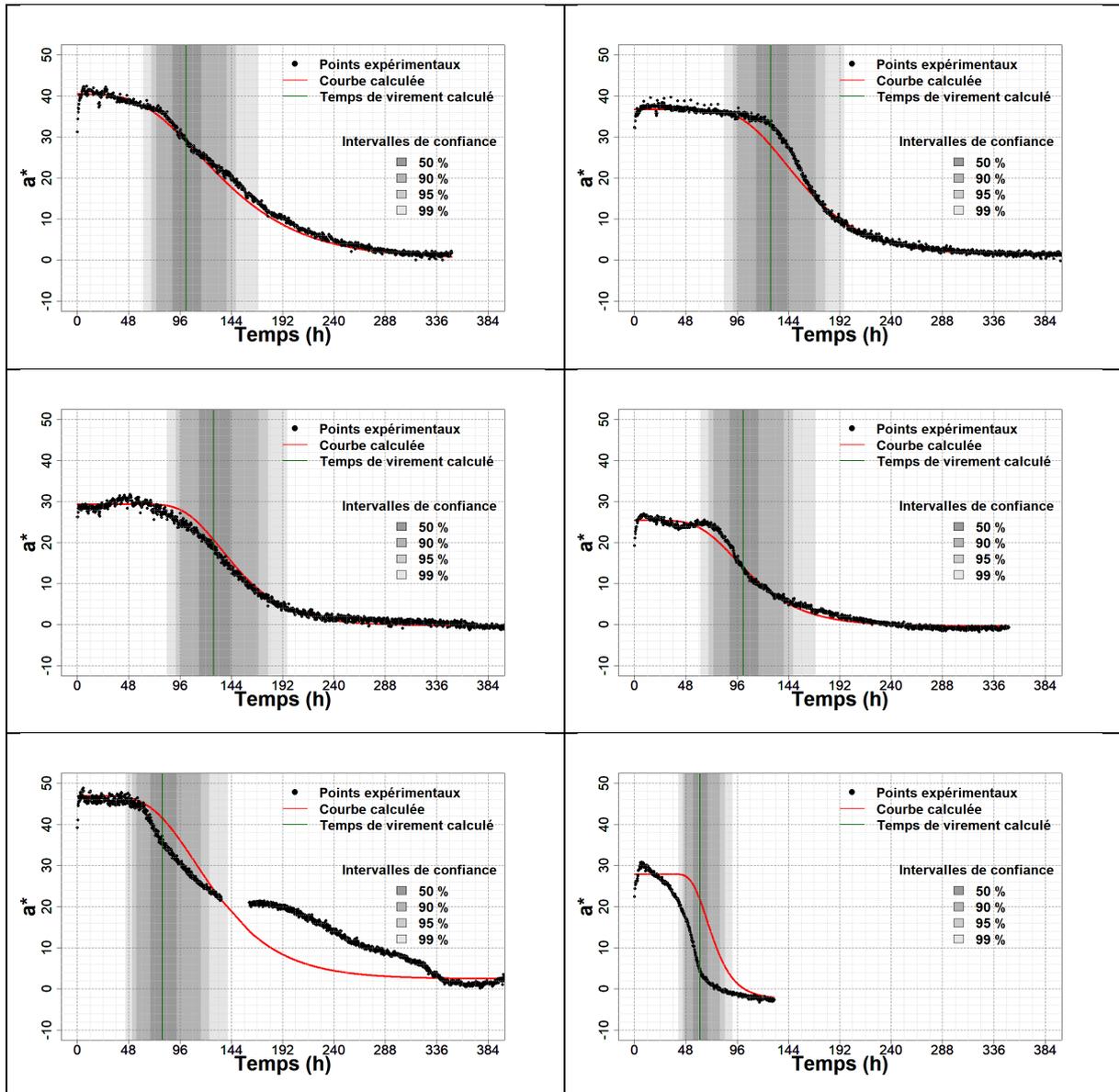


Figure 90 : Intervalles de confiance sur les temps de virement de couleur à partir de 5 000 cinétiques simulées par la méthode de Monte-Carlo (partie 1).

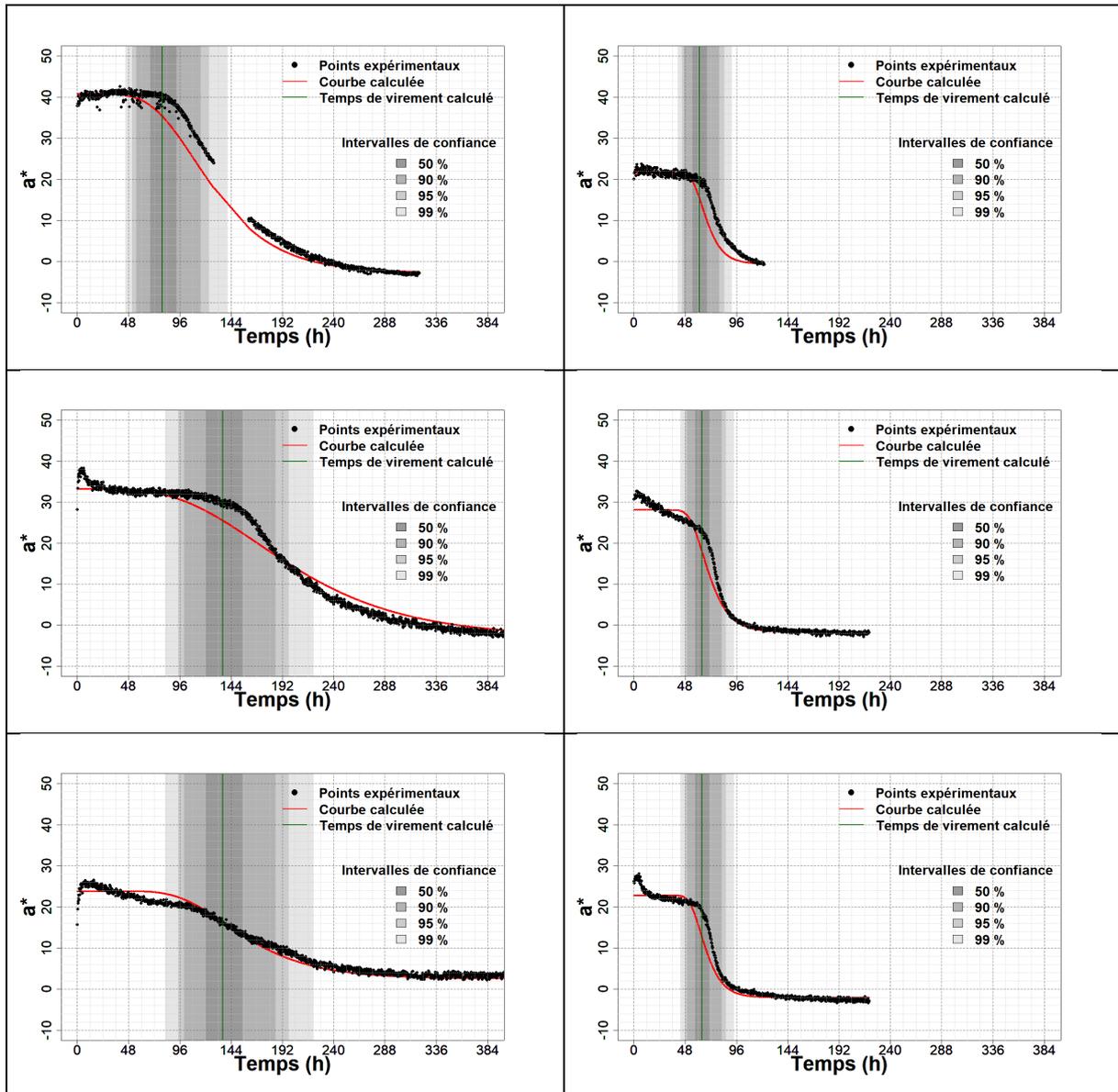


Figure 91 : Intervalles de confiance sur les temps de virement de couleur à partir de 5 000 cinétiques simulées par la méthode de Monte-Carlo (partie 2).

### 3.5 Utilisation des modèles pour faire des prévisions

Grâce aux modèles et à l'étude de l'impact des facteurs sur le temps de latence et la pente, des prévisions des cinétiques de  $a^*$  et des temps de virement sont possibles.

Par exemple : quelle serait la cinétique et le temps de virement d'une entrecôte maturée 5 jours après abattage, découpée verticalement (0,1°), emballée sous une atmosphère modifiée avec un mélange composé de 80 % de dioxygène et 20 % d'azote et qui serait exposée à 5 °C dans le rayon boucherie libre-service d'une GMS ? La réponse est représentée sur la figure 92 et est de 72 heures soit 3 jours.

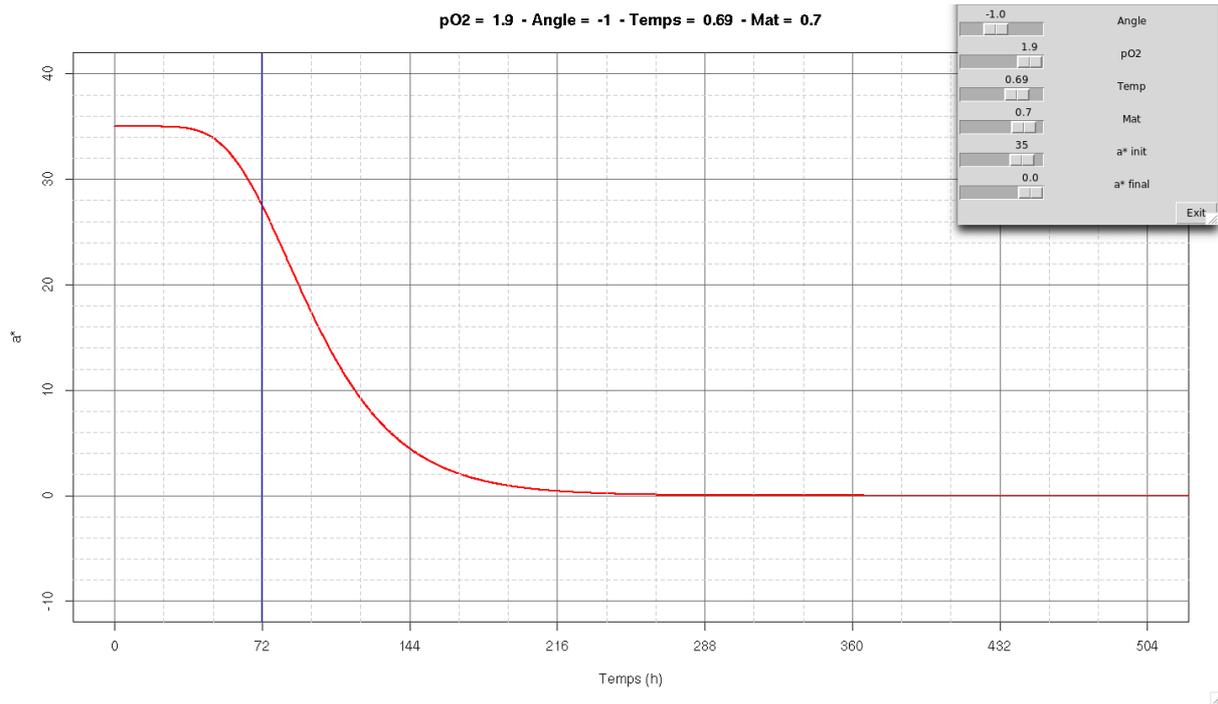


Figure 92 : Prédiction de la cinétique de la valeur de  $a^*$  avec des valeurs de logarithme de base 10 des facteurs Angle = -1 ;  $pO_2 = 1,9$  ; Temp = 0,69 ; Mat = 0,7 et avec des valeurs de  $a^*$  initiale et  $a^*$  finale égales à 35 et 0 respectivement.

### 3.6 Discussion

Les résultats ont permis de mettre en évidence que parmi les 5 modèles testés celui de Gompertz permet de modéliser au mieux les cinétiques du paramètre colorimétrique  $a^*$ . Pour cela, une optimisation non linéaire, un examen de la matrice des corrélations et l'étude des points levier et des résidus ont été réalisés. Après vérification du modèle établi avec les données expérimentales, une régression linéaire a été effectuée afin de déterminer l'impact des facteurs (pression partielle en dioxygène, température de stockage de la viande, temps de maturation sous vide du muscle et angle de découpe du muscle en tranches) sur le temps de virement de couleur. Les résultats montrent que la pression partielle en dioxygène joue un rôle prépondérant sur le temps de virement de couleur. En effet, si la  $pO_2$  est quasi nulle (100 % d'azote dans notre cas), aucun virement n'a été observé après plus de 600 heures d'expérimentation (et même plus de 2328 heures). Il a été observé qu'en début de l'expérience, la viande est de couleur rouge (après quelques minutes après la découpe de la tranche) et devient rapidement de couleur violacée, puis, plus aucun changement de couleur n'est observé (figure 93). Ce phénomène s'explique par le fait qu'en absence de dioxygène, la myoglobine présente dans la viande est sous une seule forme, la forme désoxymyoglobine, et est de couleur violacée. De plus, la fine

couche de metmyoglobine à la limite entre oxymyoglobine et désoxymyoglobine n'existe pas puisqu'il n'existe aucun gradient de pression partielle en dioxygène en profondeur de la viande. En revanche, quand la pression partielle augmente légèrement et atteint environ 4 %, le temps de virement est alors très faible. En effet, un faible gradient se crée et la fine couche de metmyoglobine apparaît. De plus, du fait de la faible pression partielle en dioxygène la couche d'oxymyoglobine en surface est fine. La progression de la couche de metmyoglobine est alors très rapide et atteint rapidement la surface, ce qui engendre un virement de couleur très précoce (Ledward, 1970 ; Mancini and Hunt, 2005). Enfin cette valeur critique dépassée, plus la  $pO_2$  augmente plus le temps de virement est élevé donc plus le virement de couleur apparaît tardivement. En effet, plus la  $pO_2$  est élevée plus la couche d'oxymyoglobine sera profonde donc plus la couche de metmyoglobine mettra de temps à remonter à la surface (MacDougall and Taylor, 1975 ; O'Keeffe and Hood, 1982).



Figure 93 : Passage d'une couleur rouge à violacée d'une entrecôte emballée sous 100 % d'azote au bout d'une heure.

Les résultats montrent aussi que l'angle de découpe de la tranche a un impact sur le temps de virement de couleur. En effet, plus la coupe est transversale (90 °), plus le temps de virement est élevé donc plus le virement est tardif. Deux hypothèses pourraient expliquer cet impact. La première hypothèse serait que l'orientation des fibres musculaires joueraient un rôle dans le virement de couleur. En effet, dans l'étude de Mohan *et al.* (2010), il a été montré que pour une découpe perpendiculaire aux fibres du muscle, la quantité d'oxymyoglobine mesurée par spectroscopie par réflectance était plus élevée et la stabilité de la couleur était plus stable que pour une découpe parallèle aux fibres musculaires pour le muscle *Longissimus lumborum*. En effet, une des conclusions de l'étude est que le dioxygène pénétrerait plus dans le muscle suite

à une découpe perpendiculaire ce qui entrainerait une couche d'oxymyoglobine plus épaisse. Cependant dans notre étude, les résultats ont tendance à montrer l'inverse dans le cas du muscle entrecôte. De plus, l'entrecôte est composée de différents muscles d'un point de vue anatomique présentant ainsi plusieurs orientations de fibres différentes pour une même tranche. La deuxième hypothèse serait le taux de matières grasses. En effet, il a été observé que lorsque le muscle entrecôte est coupé perpendiculairement aux fibres musculaires, la quantité de gras visible est plus important sur la tranche que pour une découpe parallèle aux fibres (figure 94). Cette hypothèse est basée sur des constatations visuelles car la quantité de gras visible n'a pas été évaluée. Des études sur les interactions entre oxydation des lipides et oxydation de la myoglobine ont été menées et les conclusions sont que les radicaux libres produits par l'oxydation des lipides peuvent oxyder la myoglobine et engendrer un virement de couleur (Faustman *et al.*, 1989, 1992 ; Bekhit *et al.*, 2013). Donc si l'entrecôte est coupée de façon parallèle aux fibres musculaires (90 °), il y aurait alors moins de quantité de gras visible sur la tranche et donc moins de risque d'oxydation lipidique qui entraînerait un virement de couleur. Finalement, ce ne serait donc pas l'angle de découpe mais peut-être l'impact de l'orientation des fibres et du taux de matières grasses qui auraient été étudiés indirectement. A noter que les résultats sur l'impact de l'angle de découpe obtenus sont pour un muscle entrecôte et qu'une découpe perpendiculaire ou parallèle aux fibres pourrait avoir un impact différent sur un autre muscle dû aux différences d'orientation de fibres et de taux de matières grasses entre les muscles.



Figure 94 : Tranches d'entrecôte (même muscle) selon une découpe perpendiculaire aux fibres musculaires, à gauche et selon une découpe parallèle aux fibres musculaires, à droite.

En ce qui concerne la température de stockage, les résultats ont montré que plus la température augmente, plus le temps de virement est faible donc plus le virement de couleur apparaît précocement. Comme le montrent les résultats de l'impact de la température dans le jus, l'augmentation de la température entraîne une augmentation des cinétiques des réactions entraînant le virement de couleur. Cette influence de la température de stockage sur le virement de couleur a été étudiée à de nombreuses reprises et les résultats vont tous dans le même sens (Hood, 1975 ; Taylor, 1981 ; Faustman and Cassens, 1990a). Enfin, les résultats montrent un faible impact du temps de maturation sur le temps de virement de couleur. En effet, plus le temps de maturation augmente, plus le temps de virement est faible donc plus le virement apparaît précocement. Les résultats obtenus sont en adéquation avec les résultats de Gill and Jones (1994). Il a été montré que la vitesse de changement de couleur d'une viande précédemment emballée sous vide est supérieure à celle d'une viande non emballée sous vide. Dans notre étude, le type de maturation utilisée est une maturation sous vide. Donc une hypothèse pourrait être que plus la viande est maturée donc privée de dioxygène plus la viande virera vite quand elle sera exposée de nouveau au dioxygène (effet de manque). Une autre hypothèse serait que plus la viande est maturée longtemps moins elle aurait de molécules internes disponibles comme des antioxydants naturellement présents pour limiter l'apparition du virement de couleur. Bien que les autres facteurs aient un impact, la majeure partie des hypothèses proposées comme la pénétration du dioxygène en fonction de l'orientation des fibres (facteur Angle), l'augmentation des vitesses des réactions d'oxydoréductions (facteur Temp), ou encore la privation en dioxygène du muscle sous vide (facteur Mat) ont comme point commun la  $pO_2$ . Cette dernière hypothèse générale expliquerait pourquoi la  $pO_2$  est le facteur prédominant dans la régression (> 80 %) et pourquoi les interactions obtenues après la régression sont composées de la  $pO_2$  (tableau 21).

# Conclusion et perspectives

En vue de leur contrôle, en particulier à l'échelle industrielle, les processus impliqués dans les changements de couleur de la viande fraîche bovine sont étudiés depuis plusieurs années, aussi bien par les industriels que par les universitaires. La présente étude financée par la région Auvergne, le FEDER et l'ADIV, se place dans ce cadre, et avait pour objectif de développer un modèle prédictif capable d'orienter une carcasse, dès la chaîne d'abattage, via la mesure de son potentiel d'oxydoréduction (pOR) et/ou de sa couleur. Ces deux paramètres ont été choisis car la couleur de la viande repose sur l'état d'oxydation de la myoglobine. Pour cela, les sondes rédox pour milieux semi-solides n'existant pas, il a été décidé de commencer notre étude en utilisant le jus de viande comme milieu mimétique de la viande et d'utiliser la mesure du potentiel d'oxydoréduction comme indicateur des virements de couleur. Afin de récupérer un maximum de jus, la viande préalablement a été congelée puis décongelée. Les résultats de cette partie ont montré que le jus pur est trop concentré pour en suivre le virement de couleur. Il a donc été dilué afin de pouvoir l'utiliser. Cependant, pour éviter des biais lors de l'analyse de la couleur, l'étude du volume et de la dilution appliquée au jus a été réalisée. Les étapes de préparation du jus ont été vérifiées afin de s'assurer qu'elles impactaient le moins possible le virement de couleur. Pour cela, le type d'eau pour la dilution (physiologique ou milliQ), la taille des morceaux avant congélation/décongélation, les conditions d'emballage de la viande et la centrifugation du jus ont été étudiés. Concernant le type d'eau utilisée, eau milliQ ou eau physiologique, il a été démontré que le virement de couleur du jus est ralenti avec l'eau physiologique comparativement à l'eau milliQ. La différence de taille des morceaux de viande (petits morceaux ou muscle entier) avant congélation/décongélation n'a pas eu d'impact sur les virements de couleur du jus. En ce qui concerne les conditions d'emballage de la viande, sous air ou sous vide, il a été montré que le jus issu de la viande congelée sous air présente une valeur de rouge  $a^*$  supérieure à celle de la viande congelée sous vide. Cependant, aucune différence n'a été observée sur le virement de couleur en lui-même. Enfin, l'étape de centrifugation n'a pas impacté le virement de couleur mais uniquement la valeur initiale de  $a^*$  du jus avec une valeur de  $a^*$  supérieure pour le jus non centrifugé. Un protocole de standardisation du jus a donc été mis en place : utilisation d'un volume de 50 mL avec une dilution au cinquième effectuée avec de l'eau milliQ. Ces conditions ont permis de suivre les virements de couleur du jus de façon pertinente et reproductible.

Une expérience de comparaison du virement de couleur entre la viande et son jus a mis en évidence que le jus et la viande ont un début de virement de couleur simultané, mais avec une cinétique du virement plus rapide dans le jus. Comme attendu, il a aussi été confirmé que la température a une influence sur cette cinétique de virement de couleur, avec un virement de couleur plus précoce à 20 °C qu'à 4 °C.

Durant les expériences sur les jus filtrés (pour s'affranchir des phénomènes microbiologiques et n'étudier que les réactions d'oxydoréduction) ou non filtrés à 4 et 20 °C, mais aussi sur la viande à 4 °C, il a été observé que le pH n'est pas ressorti comme un bon indicateur du virement de couleur. En revanche, il a été montré que le pOR a permis de suivre les virements de couleur. En effet, une certaine « symétrie » a été mise en évidence entre cette grandeur thermodynamique et les virements de couleur (le pOR augmente quand la valeur de rouge  $a^*$  diminue). Malheureusement, même si la sonde redox développée en interne mesure bien les variations de pOR de la viande, le virement de couleur a systématiquement été initié à l'endroit où elle a été insérée, faussant ainsi les mesures et leurs interprétations.

Dans certaines conditions de mesures, la présence de deux virements de couleur a été observée au cours du temps, aussi bien pour les valeurs de  $a^*$  que pour celles du pOR. Le premier virement correspond au passage de rouge vif à jaune/marron et le second virement de jaune/marron à rouge foncé. Il est à noter que ce second virement n'a jamais été observé dans les jus filtrés. La seule différence entre les jus filtrés ou non est la présence de microorganismes. Il y a donc deux changements de couleurs dans les jus non filtrés alors qu'il n'y en a qu'un dans les jus filtrés. Un fois marron, le jus ne redevient pas rouge sans la présence de microorganismes. Ces deux changements de couleur sont influencés par les microorganismes, mais pas de la même façon. Il a été montré que la présence de microorganismes ne fait qu'accélérer une réaction existante (oxydoréduction) lors du premier changement de couleur (de rouge à marron) alors qu'elle est essentielle pour l'obtention d'un second changement de couleur (de marron à rouge). De plus, il a aussi été montré qu'un certain temps de latence est nécessaire avant que la microbiologie entre en jeu (entre 4 et 7 jours). La quantité initiale de microorganismes semble avoir un impact sur la vitesse avec laquelle la chute de pOR et le changement de couleur s'opèrent. En effet, plus il y a de microorganismes dénombrés au début du suivi, plus le pOR chute tôt. Les différentes phases observables sur les dénombrements de microorganismes correspondent à une succession de deux courbes de croissance liées aux deux virements de couleur. La population causant le changement prématuré de couleur de rouge à jaune/marron serait dominée par des *Pseudomonas* et/ou des *Brochothrix*. En revanche, pour le virement de couleur de jaune/marron à rouge, les bactéries lactiques en seraient responsables.

La quantification des différents consortia a permis d'observer leur évolution au cours du temps et de faire le lien entre les chutes de pOR et les variations entre les différentes formes de myoglobine. De plus, la microbiologie a aussi un impact sur le milieu viande, puisqu'un excès de microorganismes accélérerait le premier virement de couleur (virement au bout de 2 jours) tandis que l'absence de microorganismes implique un virement de couleur beaucoup plus tardif (virement au bout de 13 jours). Dans des conditions dites « normales », le virement de couleur arrive aux alentours du 9<sup>ème</sup> jour, soit après la date limite de consommation qui est de 5 jours pour une viande fraîche vendue en barquette filmée. La microbiologie naturellement présente sur la viande est donc une variable inhérente liée au process impliquant une certaine variabilité entre les échantillons.

Enfin, un modèle de prédiction du virement de couleur a été établi à l'aide d'un plan d'expériences de type Jones Nachtsheim. Il a été mis en évidence que l'équation de Gompertz était celle qui, en moyenne, permettait de mieux représenter les variations du paramètre  $a^*$ . L'optimisation non linéaire a montré que la pression partielle en dioxygène joue un rôle prépondérant sur le temps de virement de couleur. En effet, si la  $pO_2$  est quasi nulle, aucun virement n'a été observé, même après plus de 2328 heures d'expérimentation. En revanche, une valeur critique a été constatée, aux alentours de 4%, où le temps de virement est très faible. Une fois cette valeur critique dépassée, plus la  $pO_2$  augmente plus le temps de virement est long. Les résultats ont aussi montré qu'une coupe perpendiculaire au sens des fibres de la viande permet de retarder le virement de couleur. En ce qui concerne la température de stockage, plus elle augmente, plus le temps de virement est faible. Enfin, plus le temps de maturation augmente, plus le temps de virement est court. Bien que les autres facteurs ont un impact, la majeure partie des hypothèses proposées comme la pénétration du dioxygène en fonction de l'orientation des fibres (facteur Angle), l'augmentation des vitesses des réactions d'oxydoréduction (facteur Temp), ou encore le temps de maturation du muscle sous vide (facteur Mat) ont comme point commun la  $pO_2$ . Cette dernière hypothèse générale expliquerait pourquoi la  $pO_2$  est le facteur prédominant dans la régression (> 80 %) et pourquoi les interactions croisées obtenues après la régression sont composées de la  $pO_2$ . Malgré ces conclusions, des points restent encore à éclaircir ou à améliorer, en particulier sur la compréhension des relations entre la valeur de  $a^*$ , les pourcentages des formes redox de la myoglobine et le pOR. Pour cela, le jus de viande reste un excellent milieu modèle.

Il serait intéressant de mettre en évidence une relation entre le temps de virement de couleur d'une viande à 4 °C, de son jus à 4 °C et de son jus à 20 °C. En effet, si cela n'est qu'une question de cinétique, la possibilité de pouvoir extrapoler des résultats obtenus sur du jus à

20 °C à la viande à 4 °C dont il est issu permettrait, grâce à une courbe maitresse, de réduire les temps d'expérimentation et d'obtenir une réponse plus rapidement.

En ce qui concerne la partie microbiologie, des recherches plus approfondies pourraient aussi être faites pour identifier précisément les souches responsables des deux virements de couleur. Une fois les souches et leurs mécanismes impliqués sur le deuxième virement de couleur connus, leur utilisation pourrait avoir un fort potentiel pour effectuer de la biopréservation. En effet, si ces souches sont effectivement des bactéries lactiques, il serait intéressant de les utiliser pour ne pas avoir l'apparition du premier virement de couleur et donc garder la viande rouge plus longtemps. De plus, ces souches pourraient également inhiber le développement de souches pathogènes comme dans le cas de la viande ultra maturée (supérieur à 14 jours de maturation).

Pour la partie modélisation et prédiction du virement de couleur, des améliorations peuvent aussi être apportées. Il serait intéressant de faire de nouveau un plan d'expériences mais avec des niveaux différents pour les facteurs actuels ou avec d'autres facteurs afin d'alimenter le modèle. L'impact de différentes sources lumineuses ou l'impact d'autres gaz comme le dioxyde de carbone peuvent être investigués. De plus, les facteurs post abattage n'ont pas été testés. En effet, le sexe, l'âge, le type d'alimentation ou encore la race de l'animal sont des facteurs peu étudiés dans la littérature. Un des premiers facteurs à vérifier serait le type de muscle utilisé. En effet, dans cette thèse, seul le muscle entrecôte a été étudié, il faudrait donc vérifier que ce modèle s'applique aux autres pièces bouchères. Finalement, une corrélation devra être établie entre la viande découpée et la carcasse dont elle est issue.

Enfin, l'orientation des carcasses en amont de la ligne de découpe n'est actuellement pas encore possible. Même si l'utilisation de la mesure du pOR a montré toute son efficacité pour suivre les virements de couleurs, la sonde développée en interne pour les milieux semi-solides déclenche systématiquement le virement de couleur à l'endroit où elle a été insérée. Cet inconvénient, couplé au fait que le temps de réponse devra être très court, rend cette mesure totalement inefficace. Par contre, il serait envisageable d'utiliser le fait que couleur et pOR sont reliés et de mesurer non plus le pOR mais la couleur selon un protocole standardisé. En effet, une photo de la carcasse pourrait être prise avec une caméra CCD sur la ligne d'abattage au niveau de la ligne de découpe de la carcasse, l'image serait alors automatiquement traitée, et en fonction des paramètres du modèle préalablement entrés, une application type excel donnerait un temps de virement calculé, permettant ainsi l'orientation instantanée de la carcasse.

# Références bibliographiques

Adams P.A., 1976. The kinetics and mechanism of the recombination between apomyoglobin and haemin. *Biochemical Journal*, 159, 371–376.

Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Énergie (ADEME), 2016. Pertes et gaspillages alimentaires : l'état des lieux et leur gestion par étapes de la chaîne alimentaire. INCOME Consulting, AK2C, 0–164.

Albert I. and Mafart P., 2005. A modified Weibull model for bacterial inactivation. *International Journal of Food Microbiology*, 100, 197–211.

American Meat Science Association (AMSA), 2012. Meat color measurement guidelines, 201 West Springfield Avenue, Suite 1202, Champaign, Illinois USA 61820. Available from: <http://www.meatscience.org/publications-resources/printed-publications/amsa-meat-color-measurement-guidelines>.

Anderson H.J., Bertelsen G., Skibsted L.H., 1989. Colour stability of minced meat. Ultraviolet barrier in packaging material reduces light-induced discolouration of frozen products during display. *Meat Science*, 25, 155–159.

Arihara K., Kushida H., Kondo Y., Itoh M., Luchansky J. B., Cassens R. G., 1993. Conversion of Metmyoglobin to Bright Red Myoglobin Derivatives by *Chromobacterium violaceum*, *Kurthia sp.*, and *Lactobacillus fermentum* JCM1 173. *Journal of Food Science*, 58, 38–42.

Asghar A., Torres E., Gray J.I., Pearson A.M., 1990. Effect of salt on myoglobin derivatives in the sarcoplasmic extract from *pre-* and *post-rigor* beef in the presence or absence of mitochondria and microsomes. *Meat Science*, 27, 197–209.

Association pour le Développement de l'Institut de la Viande (ADIV), 2010. Viandes, découpe et transformation (guide d'aide à l'application des meilleures technologies disponibles). Réseau Mixte Technologique Eco-conception et valorisation (RMT Ecoval, septembre 2010).

- Atkinson J.L. and Follett M.J., 1973. Biochemical studies on the discoloration of fresh meat. *Journal of Food Technology*, 8, 51–58.
- Bailey A.J. and Light N.D., 1989. *Connective tissue in meat and meat products*. Elsevier Applied Science Editions, 356.
- Bailey J.R., Sephton D.H., Driedzic W.R., 1990. Oxygen uptake by isolated perfused fish hearts with differing myoglobin concentrations under hypoxic conditions. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 22, 1125–1134.
- Baran W.I., Kraft A., Walker H.W., 1970. Effects of carbon dioxide and vacuum packaging on color and bacterial count of meat. *Journal of Milk and Food Technology*, 33, 77–82.
- Baty, F. and Delignette-Muller M.-L., 2014. nlsMicrobio: data sets and nonlinear regression models dedicated to predictive microbiology. R package 0.0-1.
- Baty F., Ritz Ch., Charles S., Brutsche M., Flandrois J.P., Delignette-Muller M.L. 2015. A Toolbox for Nonlinear Regression in R: The Package nlstools. *Journal of Statistical Software*, 66, 1–21.
- Bauchart D. et Thomas A., 2010. Facteurs d'élevage et valeur santé des acides gras des viandes. In: *Muscle et viande de ruminants*. Editions Quae, Versailles, France, 131–142.
- Bekhit A.E.D., Cassidy L., Hurst R.D., Farouk M.M., 2007. *Post-mortem* metmyoglobin reduction in fresh venison. *Meat Science*, 75, 53–60.
- Bekhit A.E.D. and Faustman C., 2005. Metmyoglobin reducing activity: a review. *Meat Science*, 71, 407–439.
- Bekhit A.E.D., Hopkins D.L., Fahri F.T., Ponnampalam E.N., 2013. Oxidative processes in muscle systems and fresh meat: sources, markers and remedies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12, 565–597.
- Behkit A.E.D., Morton J. D., Bhat Z. F., Kong L., 2019a. Meat color: factors affecting color stability. *Encyclopedia of Food Chemistry*, 202–210.

Bekhit A.E.D., Morton J.D., Bhat Z.F., Zequan X., 2019b. Meat Colour: Chemistry and Measurement Systems. *Encyclopedia of Food Chemistry*, 211–217.

Belsley D.A., Kuh E., Welsh R.E., 1980. *Regression Diagnostics: Identifying Influential Data and Sources of Collinearity*. Wiley Series in Probability and Mathematical Statistics. John Wiley & Sons, New York (USA).

Benesch R.E., Benesch R., Yung S., 1973. Equations for the spectrophotometric analysis of hemoglobin mixtures. *Analytical Biochemistry*, 55, 245–248.

Berthelsen G. and Skibsted L.H., 1987. Photooxidation of oxymyoglobin: wavelength dependence of quantum yields in relation to light discolouration of meat. *Meat Science*, 19, 243–251.

Betts G., 2006. Other spoilage bacteria. *Food Spoilage Microorganisms*. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. 668–693.

Bollen K. and Jackman R., 1990. Regression diagnostics: An expository treatment of outliers and influential cases. In : *Modern methods of data analysis*, Fox, J. and Long, J.S. Eds. Sage Edition, Newbury Park, California (USA) 257–291.

Bonnet M., Cassar-Malek I., Rescan P.Y., 2015. Comprendre le développement des muscles et des tissus adipeux pour mieux maîtriser les qualités des carcasses et des produits des animaux d'élevage. In : numéro spécial, *Le muscle et la viande*. Picard B., Lebret B. INRA Productions Animales, 28, 137–150.

Borch E., Kant-Muermans M. L., Blixt Y., 1996. Bacterial spoilage of meat and cured meat products. *International Journal of Food Microbiology*, 33, 103–120.

Box G.E.P. and Behnken D.W., 1960. Some New Three Level Designs for the Study of Quantitative Variables. *Technometrics*, 455–476.

Box G. E. P. and Hunter J. S., 1961a. The  $2^{k-p}$  fractional factorial designs, Part 1. *Technometrics*, 3, 311–351.

Box G. E. P. and Hunter J. S., 1961b. The  $2^{k-p}$  fractional factorial designs, Part 2, 4.449–458.

Box. G. E. P. and Wilson. K. B., 1951. On the experimental attainment of optimum conditions. *Journal of the Royal Statistical Society, Series B*, 13, 1–45.

Brewer M.S., Zhu L.G., McKeith F.K., 2001. Marbling effects on quality characteristics of pork loin chops: consumer purchase intent, visual and sensory characteristics. *Meat Science*, 59, 153–163.

Brooks J., 1935. The oxidation of haemoglobin to methaemoglobin by oxygen. II. The relation between the rate of oxidation and the partial pressure of oxygen. *Proceedings Royal Society, London, Series.B*, 118, 560–577.

Brooks J.C. and Savell J.W., 2004. Perimysium thickness as an indicator of beef tenderness. *Meat Science*, 67, 329–334.

Broumand H., Ball C.O., Stier E.F., 1958. Factors affecting the quality of prepackaged meat II. E. Determining the proportions of heme derivatives in fresh meat. *Food Technology*, 12, 65–77.

Buchanan R.L., Whiting R.C., Damert W.C., 1997. When is simple good enough: a comparison of the Gompertz, Baranyi, and three-phase linear models for fitting bacterial growth curves. *Food Microbiology*, 14, 313–326.

Cachon R. and De Coninck J., 2012. Potentiel d'oxydoréduction (Eh) des matrices alimentaires. *Techniques de l'ingénieur*, F4020, 1–10.

Cartier P. et Moevi I., 2007. Le point sur...la qualité des carcasses et des viandes de gros bovins, *Compte rendu final n°17 05 32 022*.

Castejón D., García-Segura J.M., Escudero R., Herrera A., Cambero M.I., 2015. Metabolomics of meat exudate: Its potential to evaluate beef meat conservation and aging. *Analytica Chimica Acta*, 901, 1–11.

Chambaz A., Scheeder M.R.L., Kreuzer M., Dufey P.A., 2003. Meat quality of Angus, Simmental, Charolais and Limousin steers compared at the same intramuscular fat content. *Meat Science*, 63, 491–500.

Chan W. K. M., Joo S. T., Faustman C., Sun Q., Vieth R., 1998. Effect of *Pseudomonas fluorescens* on Beef Discoloration and Oxymyoglobin Oxidation In Vitro. *Journal of Food Protection*, 61, 1341–1346.

Chriki S., Renand G., Picard B., Micol D., Journaux L., Hocquette J.F., 2013. Meta-analysis of the relationships between beef tenderness and muscle characteristics. *Livestock Science*, 155, 424–434.

Cook R. D. and Weisberg S., 1982. *Residuals and Influence in Regression*. Chapman and Hall, New York (USA).

Cornforth D.P. and Egbert W.R., 1985. Effect of rotenone and pH on the color of pre-rigor muscle. *Journal of Food Science*, 50, 34–35.

Cornforth D.P. and Jayasingh P., 2004. Chemical and physical characteristics of meat color and pigment. In: Jensen, W.K., Devine, C., Dikeman, M. (Eds.), *Encyclopedia of Meat Sciences*, vol. 1. Elsevier Science. Ltd., Oxford, UK, 249–256

Cross H.R., Durland P.R., Seideman S.C., 1986. Sensory qualities of meat. In: Bechtel, P.J. (Ed.), *Muscle as Food*. Academic Press, Orlando, 284–285.

Culioli J., Berri C., Mourot J., 2003. Muscle foods: consumption, composition and quality. *Science of Aliments*, 23, 13–34.

Damon M., Louveau I., Lefaucheur L., Lebret B., Vincent A., Leroy P., Sanchez M.P., Herpin P., Gondret F., 2006. Number of intramuscular adipocytes and fatty acid binding protein-4 content are significant indicators of intramuscular fat level in crossbred Large White × Duroc pigs. *Journal of Animal Science*, 84, 1083–1092.

Daniloski D., Trajkovska Petkoska A., Galic K., Scetar M., Kurek M., Kalevska T. and Nikolovska Nedelkoska D., 2018. The effect of barrier properties of polymeric films on the shelf-life of vacuum packaged fresh pork meat. *Meat science*, 158, 107880.

Darlington R.B., 1968. Multiple regression in psychological research and practice. *Psychological Bulletin* 69, 161–182.

DeVore D.P. and Solberg M., 1974. Oxygen uptake in post-rigor muscle. *Journal of Food Science*, 39, 22–28.

Di Luca, Mullen A.M., Elia G., Davey G., Hamill R.M., 2011. Centrifugal drip is an accessible source for protein indicators of pork ageing and water-holding capacity. *Meat Science*, 88, 261–270.

Doehlert D.H., 1970. Uniform shell designs. *Applied Statistics* 19, 231–239.

Doulgeraki A. I., Ercolini D., Villani F., Nychas G. J. E., 2012. Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 157, 130–141.

Durand D., Gatellier P., Parafita E., 2010. Stabilité oxydative et qualité des viandes. In: *Muscle et viande de ruminants*. Editions Quae, Versailles, France, 183–196.

Echevarne C., Renerre M., Labas R., 1990. Metmyoglobin reductase activity in bovine muscles. *Meat Science*, 27, 161–172.

Essén-Gustavsson B., Karlsson A., Lundström K., Enfält A.C., 1994. Intramuscular fat and muscle fibre lipid contents in halothane-gene-free pigs fed high or low protein diets and its relation to meat quality. *Meat Science*, 38, 269–277.

Fang S.H., Nishimura T., Takahashi K., 1999. Relationship between development of intramuscular connective tissue and toughness of pork during growth of pigs. *Journal of Animal Science*, 77, 120–130.

Farouk M.M. and Swan, J.E., 1998. Effect of rigor temperature and frozen storage on functional properties of hot-boned manufacturing beef. *Meat Science*, 49, 233–247.

Faustman C. and Cassens R.G., 1989. Strategies for improving fresh meat color. In: *Proceedings of the 35th ICoMST*, Copenhagen, 446–453.

Faustman C. and Cassens R.G., 1990a. The biochemical basis for meat discoloration in fresh meat: a review. *Journal of Muscle Foods*, 1, 217–243.

Faustman C. and Cassens R.G., 1990b. Influence of aerobic metmyoglobin reducing capacity on color stability of beef. *Journal of Food Science*, 55, 1278–1283.

Faustman C., Cassens R.G., Schaefer D.M., Buege D.R., Williams S.N., Scheller, K.K., 1989. Improvements of pigments and lipid stability in Holstein steer beef by dietary supplementation with vitamin E. *Journal of Food Science*, 54, 858–862.

Faustman C., Specht S.M., Malkus L.A., Kinsman D.M., 1992. Pigment oxidation in ground veal: influence of lipid oxidation, iron and zinc. *Meat Science*, 31, 351–362.

Faustman C., Sun Q., Mancini R., Suman S.P., 2010. Myoglobin and lipid oxidation interactions : Mechanistic bases and control. *Meat Science*, Special Issue : 56th International Congress of Meat Science and Technology (56th ICoMST), 15-20 August 2010, Jeju, Korea 86, 86–94.

Feldhusen F., Warnatz A., Erdmann R., Wenzel S., 1995. Influence of storage time on parameters of colour stability of beef. *Meat Science*, 40, 235–243.

Feldman B, 2005. Relative Importance and Value. Manuscript version 1.1, 2005-03-19, URL <http://www.prismanalytics.com/docs/RelativeImportance.pdf>.

Fernandez X., Monin G., Talmant A., Mourot J., Lebret B., 1999. Influence of intramuscular fat content on the quality of pig meat – 1. Composition of the lipid fraction and sensory characteristics of muscle *Longissimus lumborum*. *Meat Science*, 53, 59–65.

Fernandez X., Mourot J., Lebret B., Gilbert S., Monin G., 2000. Influence of intramuscular fat content on lipid composition, sensory qualities and consumer acceptability of cured cooked ham. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 705–710.

Fisher R.A., 1925. *Statistical Methods for Research Workers*. Edinburg, Oliver and Boyd, 1<sup>st</sup> Edition.

Fisher R.A., 1935. *The Design of Experiments*. Edinburg, Oliver and Boyd, 1<sup>st</sup> Edition.

Font-i-Furnols M., Tous N., Esteve-Garcia E., Gispert M., 2012. Do all the consumers accept marbling in the same way? The relationship between eating and visual acceptability of pork with different intramuscular fat content. *Meat Science*, 91, 448–453.

Foot C.S., 1968. Mechanisms of photosensitized oxidation. *Science* 162, 963.

Food and Agriculture Organization (FAO), 2012. Pertes et gaspillages alimentaires dans le monde – Ampleur, causes et prévention. Rome.

Food and Drug Administration (FDA), 2002. Agency response letter GRAS notice No. GRN 000083. US Food and Drug Administration, Washington, DC. Available at: <http://www.cfsan.fda.gov/~rdb/opa-g015.html>.

Food and Drug Administration (FDA), 2004. Agency response letter GRAS notice No. GRN 000143. US Food and Drug Administration, Washington, DC. Available at: <http://www.cfsan.fda.gov/~rdb/opa-g143.html>.

Forrest J.C., Morgan M.T., Borggaard C., Rasmussen A.J., Jespersen B.L., Andersen J.R., 2000. Development of technology for the early *post-mortem* prediction of water holding capacity and drip loss in fresh pork. *Meat Science*, 55, 115–122.

Fox J., 2002. *An R and S-Plus Companion to Applied Regression*. Ed 2002. Sage Editions, Thousand Oaks, California (USA).

Fox J. and Weisberg S., 2011. *An {R} Companion to Applied Regression*, 2nd Edition. Sage Editions, Thousand Oaks, California (USA).

France AgriMer, 2012. Les unités de vente consommateurs dans les filières carnées et aquatiques. <https://www.franceagrimer.fr/fam/content/download/19198/document/SYN-MUL-2012-UVC%20poisson%20viande.pdf>.

France AgriMer, 2016. Pesée/classement/marquage, guide technique et réglementaire. <https://www.franceagrimer.fr/filiere-viandes/Viandes-rouges/Actualites/Achives/PCM-Pesee-Classement-Marquage-Mise-a-jour-du-guide-edition-octobre-2016>.

Furnival G.M. and Wilson R.W., 1974. Regressions by Leaps and Bounds. *Technometrics*, 16, 499–511.

Gandemer G., 1997. Muscle lipids and meat quality. Phospholipids and flavor. *Oilseeds and fats, Crops and Lipids*, 4, 19–25.

Gandemer G., 1998. Lipids and meat quality-lipolysis-oxidation and flavor. In: *Proceedings of the 44th International Congress of Meat Science and Technology*, Barcelona, Spain, 106–117.

Garcia-López M. L., Prieto M., Otero A., 1998. The physiological attributes of Gram-negative bacteria associated with spoilage of meat and meat products. *The Microbiology of Meat and Poultry*, 1–34.

Geeraerd A.H., Valdramidis V.P., Van Impe J.F., 2005. GInaFiT, a freeware tool to assess non-log-linear microbial survivor curves. *International Journal of Food Microbiology*, 102, 95–105.

Geesink G.H., Bekhit A.D., Bickerstaffe R., 2000. Rigor temperature and meat quality characteristics of lamb *Longissimus* muscle. *Journal of Animal Science*, 78, 2842–2848.

Geesink G.H., Schreutelkamp F.H., Frankhuizen R., Vedder H.W., Faber N.M., Kranen R.W., Gerritzen M.A., 2003. Prediction of pork quality attributes from near infrared reflectance spectra. *Meat Science*. 65, 661–668.

Giddings G.G., 1974. Reduction of ferrimyoglobin in meat. *C R C Critical Reviews in Food Technology*, 5, 143–173.

Giddings G.G., 1977. The basis of color in muscle foods. *C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 9, 81–114.

Gill C.O. and Jones S.D.M., 1992. The storage efficiency of a commercial process for the storage and distribution of vacuum packaged beef. *Journal of Food Protection*, 55, 880–888.

Gill C.O. and Jones, T., 1994. The display life of retail-packaged beef steaks after their storage in master packs under various atmospheres. *Meat Science*, 38, 385–396.

Gilmour S.G., 1996. The interpretation of Mallows's Cp-statistic. *Journal of the Royal Statistical Society, Series D*, 45, 49–56.

Gompertz B., 1825. On the Nature of the Function Expressive of the Law of Human Mortality, and on a New Mode of Determining the Value of Life Contingencies. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 115, 513–585.

Gondret F. and Lebret B., 2002. Feeding intensity and dietary protein level affect adipocyte cellularity and lipogenic capacity of muscle homogenates in growing pigs, without modification of the expression of sterol regulatory element binding protein. *Journal of Animal Science*, 80, 3184–3193.

Gotoh T. and Shikama K., 1974. Autoxidation of native oxymyoglobin from bovine heart muscle. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 163, 476–481.

Graham S. F., Kennedy T., Chevallier O., Gordon A., Farmer L., Elliott C., Moss B., 2010. The application of NMR to study changes in polar metabolite concentrations in beef *Longissimus dorsi* stored for different periods *post-mortem*, *Metabolomics*, 6, 395–404.

Greene B.E. and Price L.G., 1975. Oxidation-induced color and flavor changes in meat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 23, 164–167.

Greer G.G. and Jeremiah L.E., 1980. Influence of retail display temperature on psychrotrophic bacterial growth and beef case-life. *Journal of Food Protection*, 43, 543–546.

Greer G.G. and Jeremiah L.E., 1981. Proper control of retail case temperature improves beef shelf life. *Journal of Food Protection*, 44, 297–299.

Grömping U., 2006. relaimpo: Relative Importance for Linear Regression in R: The Package relaimpo. *Journal of Statistical Software*, 17, 1–27.

Guignot F., Vignon X., Monin G., 1993. *Post-mortem* evolution of myofilament spacing and extracellular space in veal muscle. *Meat Science*, 33, 333–347.

Guillemin N., Cassar-Malek I., Hocquette J.F., Jurie C., Micol D., Listrat A., Levéziel H., Renand G., Picard B., 2009. La maîtrise de la tendreté de la viande bovine : un futur proche. I.

Approche biologique et identification de marqueurs. INRA Productions Animales, 22, 331–344.

Gutzke D. and Trout G.R., 2002. Temperature and pH Dependence of the Autoxidation Rate of Bovine, Ovine, Porcine, and Cervine Oxymyoglobin Isolated from Three Different Muscles *Longissimus dorsi*, *Gluteus medius*, and *Biceps femoris*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50, 2673–2678.

Harper, G.S., 1999. Trends in skeletal muscle biology and the understanding of toughness in beef. Australian Journal of Agricultural Research, 50, 1105–1129.

Henckel P., Oksbjerg N., Erlandsen E., Barton- Gade P., Bejerholm C., 1997. Histo- and biochemical characteristics of the *Longissimus dorsi* muscle in pigs and their relationships to performance and meat quality. Meat Science, 47, 311–321.

Hildrum K.I., Nilsen B.N., Mielnik M., Næs T., 1994. Prediction of sensory characteristics of beef by near-infrared spectroscopy. Meat Science, 38, 67–80.

Hocquette J.F., Gondret F., Baéza E., Médale F., Jurie C., Pethick D.W., 2010. Intramuscular fat content in meat-producing animals: development, genetic and nutritional control, and identification of putative markers. Animal, 4, 303–319.

Holzappel W. H., 1998. The gram-positive bacteria associated with meat and meat products. The Microbiology of Meat and Poultry, 35–74.

Honikel K.O., 2004. Water-holding capacity of meat, in: M.F.W. te Pas, M.E. Everts, H.P. Haagsman (Eds.), Muscle Development of Livestock Animals: Physiology, Genetics and Meat Quality, CABI Publishing, Cambridge, 389–400.

Hood D.E., 1975. Pre-slaughter injection of sodium ascorbate as a method of inhibiting metmyoglobin formation in fresh beef. Journal of the Science of Food and Agriculture, 26, 85–90.

Hopkins D.L., Safari E., Thompson J.M., Smith C.R., 2004. Video image analysis in the Australian meat industry-precision and accuracy of predicting lean meat yield in lamb carcasses. *Meat Science*, 67, 269–274.

Hunt M. C., Mancini R. A., Hachmeister K. A., Kropf D. H., Merriman M., DelDuca G., 2004. Carbon monoxide in modified atmosphere packaging affects color, shelf life, and microorganisms of beef steaks and ground beef. *Journal of Food Science*, 69, 45–52.

Hunt M.C., Smith R.A., Kropf D.H., Tuma H.J., 1975. Factors affecting showcase color stability of frozen lamb in transparent film. *Journal of Food Science*. 40, 637–640.

Jay J.M., 1992. *Modern Food Microbiology*, fourth ed. Chapman and Hall, New York.

Jeyamkondan S., Jayas D.S., Holley R.A., 2000. Review of centralized packaging systems for distribution of retail-ready meat. *Journal of Food Protection*, 63, 796–804.

Jones B. and Nachtsheim C. J., 2011. A class of three-level designs for definitive screening in the presence of second-order effects. *Journal of Quality Technology*, 43, 1–15.

Joseph P., Suman S.P., Mancini R.A., Beach C.M., 2009. Mass spectrometric evidence for aldehyde adduction in carboxymyoglobin. *Meat Science*, 83, 339–344.

Kandi V., Palange P., Vaish R., Bhatti A. B., Kale V., Kandi M. R., Bhoomagiri M. R., 2016. Emerging Bacterial Infection: Identification and Clinical Significance of *Kocuria* Species. *Cureus*, 8, 1–6.

Karlsson A.H., Klont R.E., Fernandez X., Zjalic M., 1999. Skeletal muscle fibres as factors for pork quality. *Livestock Production Science*, 60, 255–269.

Kaschnitz R.M. and Hatefi, T., 1975. Lipid oxidation in biological membranes. Electron transfer proteins as initiators of lipid oxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 171, 292–304.

Ke, Y., Mitacek, R.M., Abraham, A., Mafi, G.G., VanOverbeke, D.L., DeSilva, U., Ramanathan, R., 2017. Effects of Muscle-Specific Oxidative Stress on Cytochrome c Release and Oxidation–Reduction Potential Properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65, 7749–7755.

Killinger K.M., Calkins C.R., Umberger W.J., Feuz D.M., Eskridge K.M., 2004. Consumer visual preference and value for beef steaks differing in marbling level and color. *Journal of Animal Science*, 82, 3288–3293.

Kim G.-D., Jeong J.-Y., Hur S.-J., Yang H.-S., Jeon J.-T., Joo S.-T., 2010. The relationship between meat color (CIE L\* and a\*), myoglobin content, and their influence on muscle fiber characteristics and pork quality. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 30, 626–633.

Kim G.-D., Jeong T.-C., Yang H.-S., Joo S.-T., Hur S.-J., JeongKim J.-Y., 2015. Proteomic analysis of meat exudates to discriminate fresh and freeze-thawed porcine *Longissimus thoracis* muscle. *LWT-Food Science and Technology*, 62, 1235–1238.

Kim G.-D., Jung E.-Y., Lim H.-J., Yang H.-S., Joo S.-T., Jeong J.-Y., 2013. Influence of meat exudates on the quality characteristics of fresh and freeze-thawed pork. *Meat Science*, 95, 323–329.

Kijowski J., 2001. Muscle proteins. In: *Chemical and functional properties of food proteins*. S.Z.E. Lancaster, PE, Technomic Publishing Co. Inc, 233–269.

Klont R.E., Brocks L., Eikelenboom G., 1998. Muscle type and meat quality. *Meat Science*, 49, 219–229.

Koizumi C. and Nanaka J., Brown, W.D., 1973. Oxidative changes in oxymyoglobin during discolouration with arginine linoleate. *Journal of Food Science*, 38, 813–815.

Koizumi C. and Nonaka J., 1975. Comparison of catalytic functions of oxymyoglobin and metmyoglobin for the oxidation of linoleate in aqueous dispersion. *Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish*, 41, 1053.

Kramer A. and Twigg B.A., 1970. Color and gloss. In: *Quality Control for the Food Industry Volume 1-fundamentals*, third edition. The AVI Publishing Company, Westport, Connecticut, 19–42.

Krzywicki K., 1979. Assessment of relative content of myoglobin, oxymyoglobin and metmyoglobin at the surface of beef meat. *Meat Science*, 3, 1–10.

Krzywicki K., 1982. The determination of haem pigments in meat. *Meat Science*, 7, 29–36.

L'Institut de l'Élevage (IDELE) et la Confédération Nationale de l'Élevage (CNE), 2017. Les chiffres clés du Groupe Économique du Bétail (GBE) : Bovins 2017 Production lait et viande. <http://idele.fr/linstitut-de-lelevage/implantations/publication/idelesolr/recommends/chiffres-cles-des-filieres-bovine-ovine-et-caprine-2017.html>.

L'Institut de l'Élevage (IDELE) et le Centre d'Informations des Viandes (CIV), 2012. Fiche alimentation des bovins. <http://idele.fr/recherche/publication/idelesolr/recommends/alimentation-des-bovins-rations-moyennes-et-autonomie-alimentaire.html>.

Lanari M.C. and Cassens R.G., 1991. Mitochondrial activity and beef muscle color stability. *Journal of Food Science*, 56, 1476–1479.

Lanari M.C., Cassens R.G., Schaefer D.M., Scheller K.K., 1994. Effect of dietary vitamin E on pigment and lipid stability of frozen beef: a kinetic analysis. *Meat Science*, 38, 3–15.

Lawrie R.A., 1998. The eating quality of meat. *Meat Science*, Woodhead Publishing Ltd, Cambridge, England, 212–257.

Lawrie R.A., 1998. *Lawrie's Meat Science*, sixth ed. Woodhead Publishing, Cambridge.

Lawrie R. A. and Ledward D. A., 2006. *Lawrie's meat science book*, Seventh Edition. Elsevier.

Lebret B. and Guillard A.S., 2005. Outdoor rearing of cull sows: Effects on carcass, tissue composition and meat quality. *Meat Science*, 70, 247–257.

Ledward D.A., 1970. Metmyoglobin formation in beef stored in carbon dioxide enriched and oxygen depleted atmospheres. *Journal of Food Science*, 35, 33–37.

Ledward D.A., 1985. Post-slaughter influences on the formation of metmyoglobin in beef muscles. *Meat Science*, 15, 149–171.

Ledward D.A., 1992. Colour of raw and cooked meat. In: Ledward, D.A., Johnston, D.E., Knight, M.K. (Eds.), *The Chemistry of Muscle-based Foods*. The Royal Society of chemistry, Thomas Graham House, Science Park, Cambridge, 33–68.

Ledward D.A., Dickinson R.F., Powell V.H., Shorthose W.R., 1986. The colour and colour stability of beef *Longissimus dorsi* and *Semimembranosus* muscles after effective electrical stimulation. *Meat Science*, 16, 245–265.

Ledward, D.A., Smith, C.G., Clarke, H.M., Nickolson, M., 1977. Relative role of catalysts and reductants in the formation of metmyoglobin in aerobically stored beef. *Meat Science*, 1, 149–156.

Lee B.J. and Hendricks D.G., 1997. Antioxidant effect of L-carnosine on liposomes and beef homogenates. *Journal of Food Science*, 62, 241–244.

Lee S. A., Kim J. M., Cho H., Kim S. J., Ahn J. M., Hamada M., Kwon S. W., Weon H. Y., 2017. *Arthrobacter silviterrae* sp. nov., isolated from forest soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67, 4546–4551.

Lefaucheur L., 2010. A second look into fibre typing – Relation to meat quality. *Meat Science*, 84, 257–270.

León K., Mery D., Pedreschi F., León J., 2006. Color measurement in L\*a\*b\* units from RGB digital images. *Food Research International*, 39, 1084–1091.

Lepetit J., 2008. Collagen contribution to meat toughness: Theoretical aspects. *Meat Science*, 80, 960–967.

Li P., Luo H., Kong B., Liu Q., Chen C., 2016. Formation of red myoglobin derivatives and inhibition of spoilage bacteria in raw meat batters by lactic acid bacteria and *Staphylococcus xylosus*. *LWT-Food Science and Technology*, 68, 251–257.

Lindeman R.H., Merenda P.F. and Gold R.Z., 1980. *Introduction to Bivariate and Multivariate Analysis*. Scott Foresman, Glenview, Illinois (USA).

Listra A., Lebret B., Louveau I., Astruc T., Bonnet M., Lefaucheur L., Bugeon J., 2015. Comment la structure et la composition du muscle déterminent la qualité des viandes ou chairs. *INRA Productions Animales*, 28,125–136.

Liu C., Pan D., Ye Y., Cao J., 2013. <sup>1</sup>H NMR and multivariate data analysis of the relationship between the age and quality of duck meat, *Food Chemistry*, 141, 1281–1286.

Livingston D. J. and Brown W. D., 1981. The chemistry of myoglobin and its reactions. *Food Technology*, 35, 244–252.

Livingston D.L., Watts D.A., Brown W.D., 1986. Myoglobin interspecies structural differences: effects on autoxidation and oxygenation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 249, 106–115.

Love J.D. and Pearson A.M., 1975. Metmyoglobin and nonheme iron as prooxidants in cooked meat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 22, 1032–1034.

Lu J., Tan J., Shatadal P., Gerrard D.E., 2000. Evaluation of pork color by using computer vision. *Meat Science*, 56, 57–60.

Luno M., Roncales P., Djenane D., & Beltran J. A., 2000. Beef shelf life in low O<sub>2</sub> and high CO<sub>2</sub> atmospheres containing different low CO concentrations. *Meat Science*, 55, 413–419.

Lynch R.E., Lee G.R., Cartwright G.E., 1976. Inhibition by superoxide dismutase of methemoglobin formation from oxyhemoglobin. *Journal of Biological Chemistry*. 251, 1015–1019.

MacDougall D.B. and Powell V.H., 1997. The relative importance of temperature, wavelength and intensity of light on the colour display life of fresh and aged beef cuts. In: *Proceedings of the 43rd ICOMST, Auckland, New Zealand*, 668–669.

MacDougall D.B. and Taylor A.A., 1975. Colour retention in fresh meat stored in oxygen - a commercial scale trial. *Journal of Food Technology*, 10, 339–347.

Madhavi D.L. and Carpenter C.E., 1993. Aging and processing affect color, metmyoglobin reductase and oxygen consumption of beef muscles. *Journal of Food Science*, 58, 939–942.

Mafart P., Couvert O., Gaillard S., Leguerinel I., 2002. On calculating sterility in thermal preservation methods: application of the Weibull frequency distribution model. *International Journal of Food Microbiology*, 72, 107–113.

Mallows C. L., 1973. Some Comments on CP. *Technometrics*, 15, 661–675.

Malthus Th., 1798. *An Essay on the Principle of Population As It Affects the Future Improvement of Society, with Remarks on the Speculations of Mr. Goodwin, M. Condorcet and Other Writers*. London : J. Johnson in St Paul's Churchyard, 1st edition.

Maltin C.A., Warkup C.C., Matthews K.R., Grant C.M., Porter A.D., Delday M.I., 1997. Pig muscle fibre characteristics as a source of variation in eating quality. *Meat Science*, 47, 237–248.

Mancini R.A and Hunt M.C., 2005. Current research in meat color – a review. *Meat science*, 71, 100–121.

Mancini R.A., Suman S.P., Ramanathan R., Konda M.R., 2009. Effect of carbon monoxide packaging and lactate enhancement on the color stability of beef steaks stored at 1 °C for 9 days. *Meat Science*, 81, 71–76.

Maruitti L. R. B. and Bragagnolo N., 2017. Influence of salt on lipid oxidation in meat and seafood products : A review. *Food Research International*, 94, 90–100.

McKenna D., Mies P., Baird B., Pfeiffer K., Ellebracht J., Savell J., 2005. Biochemical and physical factors affecting discoloration characteristics of 19 bovine muscles. *Meat Science*, 70, 665–682.

Micol D., Robelin J., Geay Y., 1993. Composition corporelle et caractéristiques biologiques des muscles chez les bovins en croissance et à l'engrais. *INRA Productions Animales*, 6, 61–69.

Mitsumoto M., Ozawa S., Mitsuhashi T., Kono S., Harada T., Fujita K., Koide K., 1995. Improvements of color and lipid stability during display in Japanese black steer beef by dietary vitamin E supplementation for 4 weeks before slaughter. *Journal of Animal Science and Technology*, 66, 962–968.

- Mitsumoto M., Satoshi M., Tadayoshi M., Shinobu O., 1991. Near-infrared spectroscopy determination of physical and chemical characteristics in beef cuts. *Journal of Food Science*, 56, 1493–1496.
- Mohan A., Hunt M. C.,\*, Barstow T. J., Houser T. A., Bopp C., Hueber D. M., 2010. Effects of fibre orientation, myoglobin redox form, and postmortem storage on NIR tissue oximeter measurements of beef longissimus muscle. *Meat Science*, 84, 79–85.
- Morrissey P.A., Sheehy P.J.A., Galvin K., Kerry J.P., Buckley D.J., 1998. Lipid stability in meat and meat products. *Meat Science*, 49, 73–86.
- Motoyama M., Kobayashi M., Sasaki K., Nomura M., Mitsumoto M., 2010. *Pseudomonas spp.* convert metmyoglobin into deoxymyoglobin. *Meat Science*, 84, 202–207.
- Mourot J. and Hermier D., 2001. Lipids in monogastric animal meat. *Reproduction Nutrition Development*, 41, 109–118.
- Nishimura T., 2010. The role of intramuscular connective tissue in meat texture. *Animal Science Journal*, 81, 21–27.
- Nychas G. J. E., Skandamis P. N., Tassou C. C., Koutsoumanis K. P., 2008. Meat spoilage during distribution. *Meat Science*, 78, 77–89.
- O’Halloran G.R., Tory D.J., Buckley D.J., Reville W.I., 1997. The role of endogenous proteases in the tenderisation of fast glycolytic muscle. *Meat Science*, 47, 187–210.
- O’Keeffe M. and Hood D.E., 1980–1981a. Anoxic storage of fresh beef. I: Nitrogen and carbon dioxide storage atmospheres. *Meat Science*, 5, 27–39.
- O’Keeffe M. and Hood D.E., 1980–1981b. Anoxic storage of fresh beef. II: colour stability and weight loss. *Meat Science*, 5, 267–281.
- O’Keeffe M. and Hood D.E., 1982. Biochemical factors influencing metmyoglobin formation in beef from muscles of differing colour stability. *Meat Science*, 7, 209–228.

O'Sullivan M.G., Byrne D.V., Martens H., Gidskehaug L.H., Andersen H.J., Martens M., 2003. Evaluation of pork colour: prediction of visual sensory quality of meat from instrumental and computer vision methods of colour analysis. *Meat Science*, 65, 909–918.

Offer G., 1991. Modelling of the formation of pale, soft and exudative meat: effects of chilling regime and rate and extent of glycolysis, *Meat Science*, 30, 157–184.

Onyango C.A., Izumimoto M., Kutima P.M., 1998. Comparison of some physical and chemical properties of selected game meats. *Meat Science*, 49, 117–125.

Otto G., Roehe R., Looft H., Thoelking L., Knap P.W., Rothschild M.F., Plastow G.S., Kalm E., 2007. Associations of DNA markers with meat quality traits in pigs with emphasis on drip loss. *Meat Science*, 75, 185–195.

Ouali A. and Talmant A., 1990. Calpains and calpastatin distribution in bovine, porcine and ovine skeletal muscles. *Meat Science*, 28, 331–348.

Owen J.E. and Lawrie R.A., 1975. The effect of an artificially induced high pH (hydrogen-ion concentration) on the susceptibility of minced porcine muscle undergo oxidative rancidity under frozen storage. *Journal of Food Technology*, 10, 169–180.

Owen J.E., Hewlett J., Lawrie R.A., 1976. A note on the discoloration of frozen porcine muscle, stored under fluorescent illumination, as influenced by an artificially induced high pH in the meat. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 27, 477–482.

Piñeiro M., Gymnich S., Knura S., Piñeiro C., Petersen B., 2009. Meat juice: An alternative matrix for assessing animal health by measuring acute phase proteins. Correlations of pig-MAP and haptoglobin concentrations in pig meat juice and plasma. *Veterinary Science*, 87, 273–276.

Possani L.D., Banerjee R., Balny C., Douzou P., 1970. Oxidation of haemoglobin by oxygen in light: possible role of singlet oxygen. *Nature*, 226, 861–862.

Purchas R.W., Yan I., Hartley D.G., 1999. The influence of a period of aging on the relationship between ultimate pH and shear values of beef *M. Longissimus thoracis*. *Meat Science*, 51, 135–141.

Purslow P.P., 2005. Intramuscular connective tissue and its role in meat quality. *Meat Science*, 70, 435–447.

Quevedo R., Valencia E., Cuevas G., Ronceros B., Pedreschi F., Bastías J.M., 2013. Color changes in the surface of fresh cut meat: A fractal kinetic application. *Food Research International*, 54, 1430–1436

R Development Core Team, 2019. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Reddy I.M. and Carpenter C.E., 1991. Determination of metmyoglobin reductase activity in bovine skeletal muscles. *Journal of Food Science*, 56, 1161–1164.

Rennerre M., 1984. Variabilité entre muscles et entre animaux de la stabilité de la couleur des viandes bovines. *Sciences des aliments*, 4, 567–584.

Rennerre M., 1990. Factors involved in the discoloration of beef meat. *International Journal of Food Science & Technology*, 25, 613-630.

Rennerre M., 1999. Biochemical basis of fresh meat colour. In: *Proceedings of the 45th International Conference of Meat Science and Technology (ICoMST)*, Yokohama, Japan, 344–353.

Rennerre M., Anton M., Gatellier P., 1992. Autoxidation of purified myoglobin from two bovine muscles. *Meat Science*, 32, 331–342.

Rennerre M. and Labas R., 1987. Biochemical factors influencing metmyoglobin formation in beef muscles. *Meat Science*, 19, 151–165.

Rincker P.J., Killefer J., Ellis M., Brewer M.S., McKeith F.K., 2008. Intramuscular fat content has little influence on the eating quality of fresh pork loin chops. *Journal of Animal Science*, 86, 730–737.

Ringkob T.P., 2001. Image analysis to quantify color deterioration on fresh retail beef. In *Proceedings 54th Reciprocal Meat Conference*, 24–28 July 2001, Indianapolis, Indiana.

- Robach D.L. and Costilow R.N., 1961. Role of bacteria in the oxidation of myoglobin. *Journal of Applied Microbiology*, 9, 529–533.
- Santé V.S, A. Lebert., Le Pottier G., Ouali A., 1996. Comparison between two statistical models for prediction of turkey breast meat colour. *Meat Science*, 43, 283–290.
- Satterlee L.D. and Hansmeyer W., 1974. The role of light and surface bacteria in the color stability of prepackaged beef. *Journal of Food Science*, 39, 305–308.
- Savage A.W.J, Warriss P.D, Jolley P.D., 1990. The amount and composition of the proteins in drip from stored pig meat. *Meat Science*. 27, 289–303.
- Schwarz G. E., 1978. Estimating the dimension of a model. *Annals of Statistics*, 6, 461–464.
- Schwimmer S., 1981. *Source Book of Food Enzymology*. The AVI Publishing Company, INC, Westport, Connecticut, USA, 315–326.
- Sifre L., Berge P., Engel E., Martin J.-F., Bonny J.-M., Listrat A., Taylor R., Culioli J., 2005. Influence of the spatial organization of the perimysium on beef tenderness. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 8390–8399.
- Sørheim O., Nissen H., Aune T., Nesbakken T., 2001. Use of carbon monoxide in retail meat packaging. In *54th Proceedings Reciprocal Meat Conference*, Indianapolis IN, USA, 47–51.
- Soulata J., Picarda B., Légerb S., Monteilsa V., 2018. Prediction of beef carcass and meat quality traits from factors characterising the rearing management system applied during the whole life of heifers. *Meat Science*, 140, 88–100.
- Stanford K., Richmond R.J., Jones S.D.M., Robertson W.M., Price M.A., Gordon, A.J., 1998. Video image analysis for online classification of lamb carcasses. *Animal Science*, 67, 311–316.
- Stavropoulou A. D., Panagiota F., De Smet S., De Vuyst L., Leroy F., 2018. Effect of temperature and pH on the community dynamics of coagulase-negative staphylococci during spontaneous meat fermentation in a model system. *Food microbiology*, 76, 180–188.

Stewart M.R., Zipser M.W., Watts B.M., 1965. The use of reflectance spectrophotometry for the assay of raw meat pigments. *Journal of Food Science*, 30, 464–469.

Suman S.P. and Joseph P., 2013. Myoglobin chemistry and meat color. *Annual Review of Food Science and Technology*, 4, 79–99.

Syndicat National de l'Industrie des Viandes (SNIV) et Syndicat National du Commerce du Porc (SCNP), 2014. Dossier de presse : Palmarès des critères d'achat de viande des français. <http://www.cultureviande.fr/wp-content/uploads/2014/06/dossier-de-presse-2014.pdf>.

Tang J., Faustman C., Hoagland T.A., 2004. Krzywicki Revisited: Equations for Spectrophotometric Determination of Myoglobin Redox Forms in Aqueous Meat Extracts. *Food Chemistry and Toxicology*, 69, 717–720.

Taylor A.A., 1981. Packaging fresh meat. In: Lawrie, R. (Ed.), *Developments in Meat Science*. Elsevier Applied Science, London, 89–113.

Thiem I., Lüpke M., Seifert H., 2005. Extraction of meat juices for isotopic analysis. *Meat Science*, 71, 334–341.

Tofteskov J., Hansen J.S., Bailey N.P., 2017. Modelling the autoxidation of myoglobin in fresh meat under modified atmosphere packing conditions. *Journal of Food Engineering*, 214, 129–136.

Topel D.G., Merkel R.A., Mackintosh D.L., Hall J.L., 1966. Variation of some physical and biochemical properties within and among selected porcine muscles. *Journal of Animal Science*, 25, 277–282.

Tornberg E., Wahlgren M., Brondum J., Englesen S.B., 2000. Pre-rigor conditions in beef under varying temperature and pH falls studied with rigometer, NMR and NIR. *Food Chemistry*, 69, 407–418.

Totland G.K., Kryvi H., Slinde E., 1988. Composition of muscle fibre types and connective tissue in bovine *M. Semitendinosus* and its relation to tenderness. *Meat Science*, 23, 303–315.

Urbin, M.C. and Wilson G.D., 1958. Proceedings of the 10th Research Conference. American Meat Institute Foundation.

Valin C., Touraille C., Vigneron P., Ashmore C.R., 1982. Prediction of lamb meat quality traits based on muscle biopsy fibre typing. *Meat Science*, 6, 257–263.

Ventanas S., Ruiz J., García C., Ventanas J., 2007. Preference and juiciness of Iberian dry-cured loin as affected by intramuscular fat content, crossbreeding and rearing system. *Meat Science*, 77, 324–330.

Verhulst P.F., 1838. Notice sur la loi que la population suit dans son accroissement. *Correspondance mathématique et physique*, 10, 113–121.

Wallace W. J., Houtchens R. A., Maxwell J. C., Caughey S., 1982. Mechanism of autoxidation for hemoglobins and myoglobins. *Journal of Biological Chemistry*, 257, 4966–4977.

Wang J.H., 1962. Hemoglobin and myoglobin. In: Hayaishi, O. (Ed.), *Oxygenase*. Academic Press, New York, p.469. Cited by O’Keeffe and Hood (1982).

Warner R.D., 1989. Objective description of meat and fat colour in beef carcasses. In: *Proceedings of AMLC Workshop on Automated Measurements of Beef*, 145–154.

Warner R.D., Kearney G., Hopkins D.L. Jacob R.H., 2017. Retail colour stability of lamb meat is influenced by breed type, muscle, packaging and iron concentration. *Meat Science*, 129, 28–37.

Warriss P.D., 2000a. *Meat Science: An Introductory Text*. CABI Publications, New York.

Warriss P.D., 2000b. *Post-mortem* changes in muscle and its conversion into meat. In: *Meat Science*. 2nd edition, an Introductory text, Wallingford, UK, 65–76. CABI.

Wittenberg J.B. and Wittenberg B.A., 2003. Myoglobin function reassessed. *Journal of Experimental Biology*, 206, 2011–2020.

Wood J.D., Nute G.R., Richardson R.I., Whittington F.M., Southwood O., Plastow G., Mansbridge R., da Costa N., Chang K.C., 2004. Effects of breed, diet and muscle on fat deposition and eating quality in pigs. *Meat Science*, 67, 651–667.

Yang X., Zhu L., Zhang Y., Liang R., Luo X., 2018. Microbial community dynamics analysis by high-throughput sequencing in chilled beef *Longissimus* steaks packaged under modified atmospheres. *Meat Science*, 141, 94–102.

Yasui T., 1956-1957. Studies on myoglobin II Spectro photometric observations and distribution of myoglobin in muscles of domestic animals. *Nihon Chikusan Gakkaiho* 27, 325–328.

Young O.A., Prioli A., Simmon N.J., West J., 1999. Effects of rigor attainment temperature on meat blooming and colour on display. *Meat Science*, 52, 47–56.

Zagorec M. and Champomier-Vergès M. C., 2017. Meat Microbiology and spoilage. Lawrie's *Meat Science* Eight edition. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, 187–203.

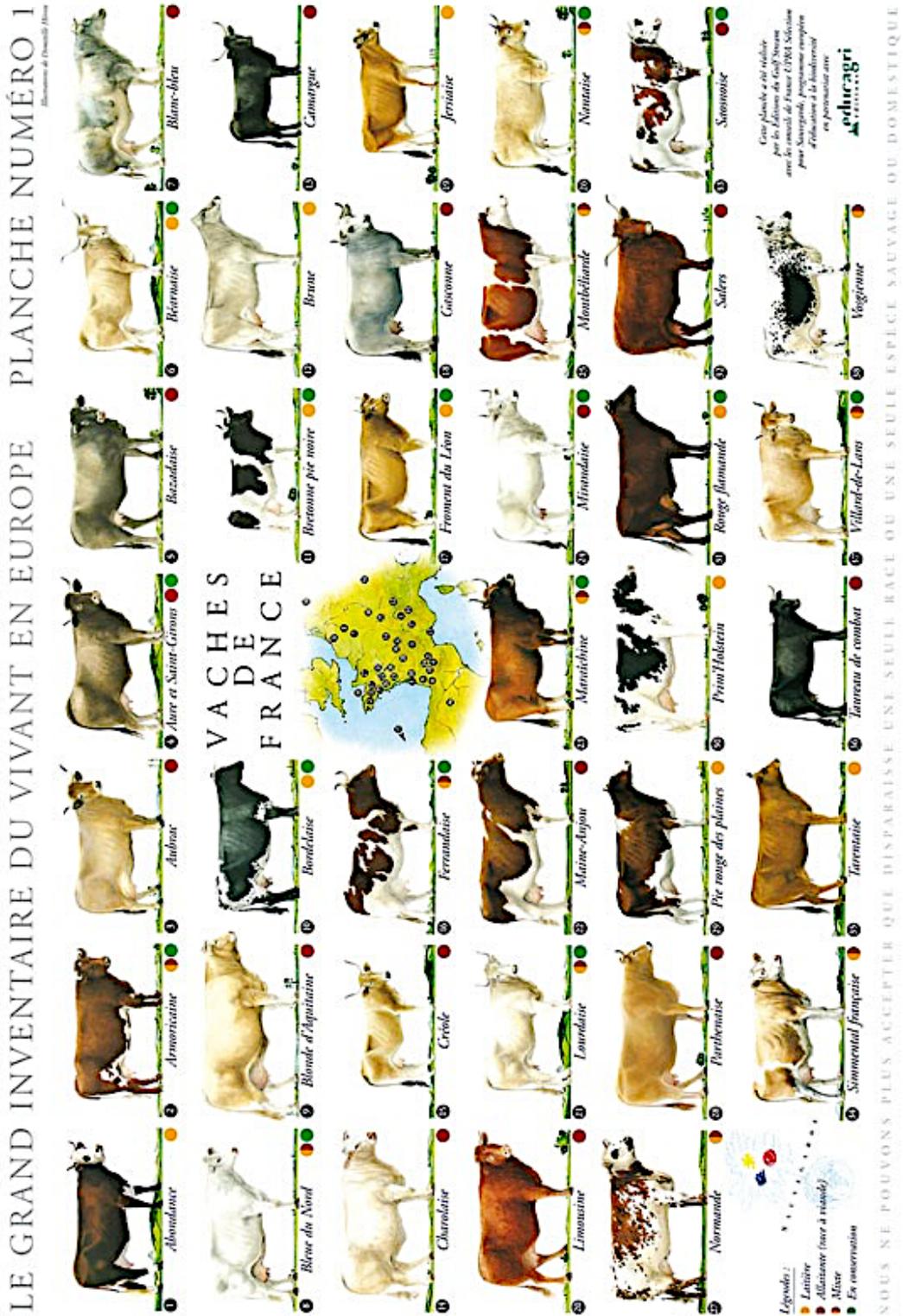
Zamora F., Debiton E., Lepetit J., Lebert A., Dransfield E., Ouali A., 1996. Predicting variability of ageing and toughness in beef *M. Longissimus lumborum et thoracis*. *Meat Science*, 43, 321–333.

Zhu L.G. and Brewer M.S., 1998. Metmyoglobin reducing capacity of fresh normal, PSE, and DFD pork during retail display. *Journal of Food Science*, 63, 390–393.

Zhu L.G. and Brewer M.S., 2003. Effects of urea denaturation and pH on the ability of porcine myoglobin to undergo reduction. *Meat Science*, 63, 427–432.

# Annexes

Annexe 1 : Inventaire de 38 races bovines en Europe (<https://sites.google.com/site/infobouche-riecharcuterie/race-bovine>).



Annexe 2 : Répartition de différentes races bovines en France (<http://www.la-viande.fr/animal-elevage/boeuf/races-bovines>).



Annexe 3 : Exemple de passeport du bovin.

TOUTE MENTION MANUSCRITE AUTRE QUE CELLE ASSOCIÉE AUX MOUVEMENTS ANNULERA LA VALIDITÉ DU DOCUMENT.

## PASSEPORT DU BOVIN

N° 10824\*01 **cejfa**

N° DE TRAVAIL **2757** CODE PAYS **FR** N° NATIONAL **71 2134 2757** SEXE **F** TYPE RACIAL **Charolaise** DATE DE NAISSANCE **21.12.2002**

N° EXPLOITATION DE NAISSANCE **FR 71 542 508** N° EXPLOITATION D'ÉDITON **FR 71 542 508** CODES TYPES RACIAUX DES PARENTS **38 38** DATE D'ÉDITON **14.01.03** N° NATIONAL DE LA MÈRE **FR 71 2134 9048**

Nom bovin : **TRINITE**

**ATTESTATION SANITAIRE**

Le Directeur Départemental des Services Vétérinaires atteste que le bovin

**cejfa** n° 50 - 4577

N° travail **2757** N° identification **FR7121342757 F** Sexe **F** Race **Charolaise** Date naissance **21.12.02** N° de cheptel **71542508** Vétérinaire **71662**

Provient d'un cheptel :  
 OFFICIELLEMENT INDEMNÉ DE LEUCOSE  
 OFFICIELLEMENT INDEMNÉ DE BRUCELLOSE  
 OFFICIELLEMENT INDEMNÉ DE TUBERCULOSE

Varron : zone assainie  
 Cheptel indemne en IBR

**UTILISABLE JUSQU'AU**  
**DECES DU BOVIN**  
 Lorsque le bovin ne quitte pas son cheptel

**VALABLE**  
**30 JOURS A COMPTER**  
**DE LA DATE DE**  
**DEPART DU BOVIN**

Jour	Mois	Année
Signature de l'éleveur (1)		

CETTE ATTESTATION N'EST VALABLE QU'AVEC LA DATE DE DÉPART DU BOVIN ET LA SIGNATURE DE L'ÉLEVEUR

(1) = Éleveur détenteur du cheptel ci-dessus qui engage sa responsabilité dans la bonne utilisation du présent document

### Prime Spéciale aux Bovins Mâles

oui = perforation	yes = perforation	ja = Durchlöcherung
si = perforación	si = perforazione	Ναι = Διάτρηση
* * * * *	* * * * *	* * * * *
1 <sup>ère</sup> tranche (demande ou octroi)	2 <sup>ème</sup> tranche (demande ou octroi)	

1155

Annexe 4 : Détails des différentes classes de conformation des gros bovins (classement E.U.R.O.P) (France AgriMer, 2016).

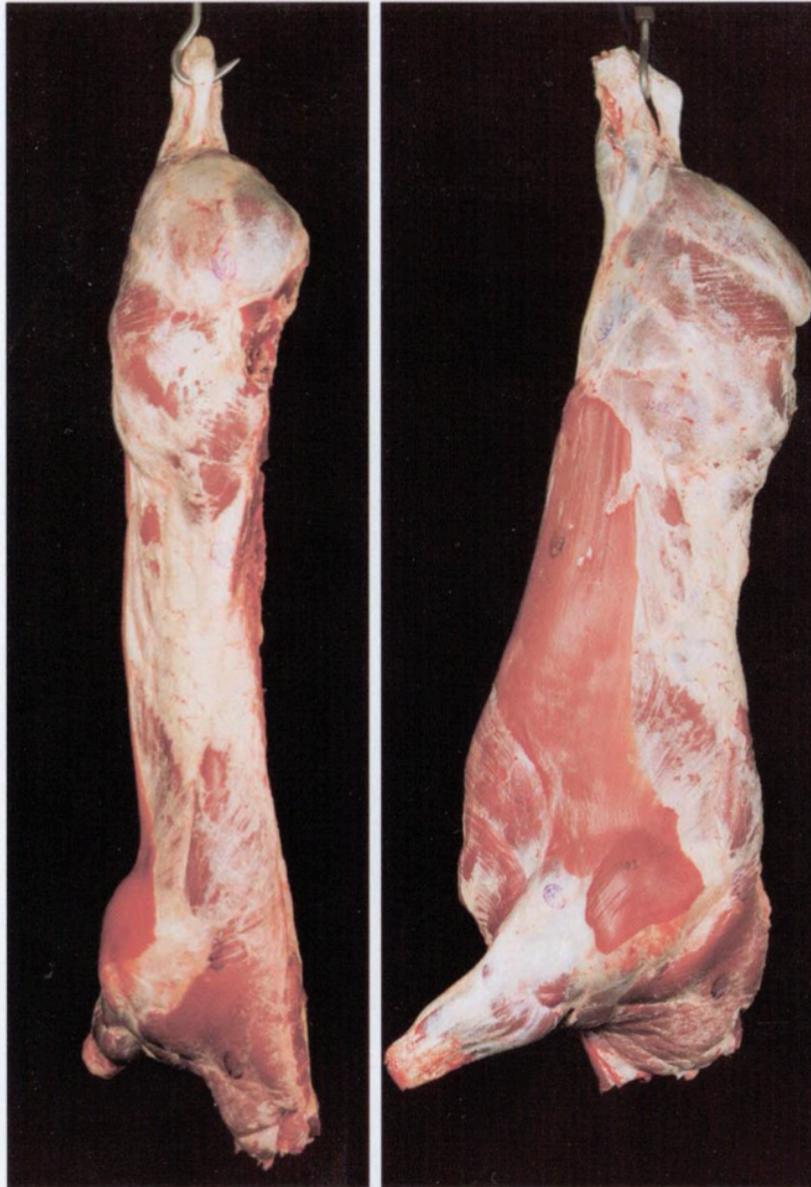
**Développement des profils de la carcasse  
et notamment des parties essentielles de celle-ci  
(Cuisse, dos, épaule) - Règlement (CE) n° 1249/2008**

Classe de conformation	Description		
<b>S</b> Supérieure	Tous les profils extrêmement convexes ; développement musculaire exceptionnel avec doubles muscles (type culard)	<i>Cuisse</i> : très fortement rebondie double musculature, rainures visiblement séparées <i>Dos</i> : très large et très épais jusqu'à la hauteur de l'épaule <i>Épaule</i> : très fortement rebondie	Le tendre de tranche déborde très largement sur la symphyse ( <i>symphysis pelvis</i> )  Le <i>rumsteck</i> est très rebondi
<b>E</b> Excellente	Tous les profils convexes à super convexes ; développement musculaire exceptionnel	<i>Cuisse</i> : très rebondie <i>Dos</i> : large et très épais, jusqu'à la hauteur de l'épaule. <i>Épaule</i> : très rebondie	Le tendre de tranche (1) déborde largement sur la symphyse ( <i>symphysis pelvis</i> )  Le <i>rumsteck</i> ( <sup>2</sup> ) est très rebondi
<b>U</b> Très bonne	Profils convexes dans l'ensemble ; fort développement musculaire	<i>Cuisse</i> : rebondie <i>Dos</i> : large et épais, jusqu'à la hauteur de l'épaule <i>Épaule</i> : rebondie	Le tendre de tranche(1) déborde sur la Symphyse ( <i>symphysis pelvis</i> )  Le <i>rumsteck</i> ( <sup>2</sup> ) est rebondi
<b>R</b> Bonne	Profils rectilignes dans l'ensemble ; bon développement musculaire	<i>Cuisse</i> : bien développée <i>Dos</i> : encore épais mais moins large à la hauteur de l'épaule <i>Épaule</i> : assez bien développée	Le tendre de tranche(1) et le <i>rumsteck</i> ( <sup>2</sup> ) sont légèrement rebondis
<b>O</b> Assez bonne	Profils rectilignes à concaves ; développement musculaire moyen	<i>Cuisse</i> : moyennement développée <i>Dos</i> : d'épaisseur moyenne <i>Épaule</i> : moyennement développée à presque plate	Le <i>rumsteck</i> ( <sup>2</sup> ) est rectiligne
<b>P</b> Médiocre	Tous les profils concaves à très concaves ; développement musculaire réduit	<i>Cuisse</i> : peu développée <i>Dos</i> : étroit avec os apparents <i>Épaule</i> : plate avec os apparents	

(1) Dénommé en Belgique « grosse cuisse »

(2) Dénommé en Belgique « petite tête »

Annexe 5 : Grille communautaire de classement des différentes classes de conformation des gros bovins (classement E.U.R.O.P).



### **E – Excellente**

Tous les profils convexes à superconvexes;  
développement musculaire exceptionnel.

Cuisse: très rebondie.

Dos: large et très épais, jusqu'à la hauteur de l'épaule.

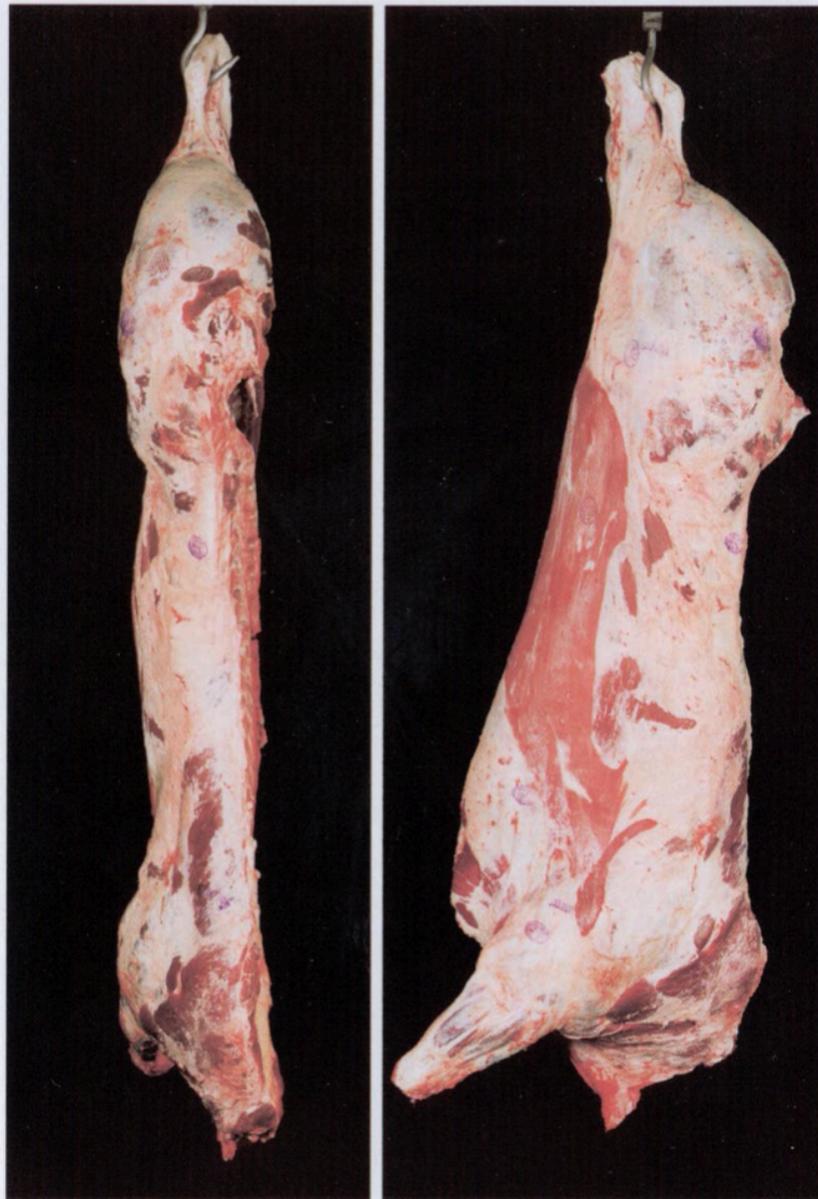
Épaule: très rebondie.

Le tendre de tranche (\*) déborde largement sur la symphyse (*Symphysis pelvis*).

Le rumsteck (†) est très rebondi.

(\*) Dénommé en Belgique «grosse cuisse».

(†) Dénommé en Belgique «petite tête».



### U – Très bonne

Profils convexes dans l'ensemble;  
fort développement musculaire.

Cuisse: rebondie.

Dos: large et épais, jusqu'à la hauteur de l'épaule.

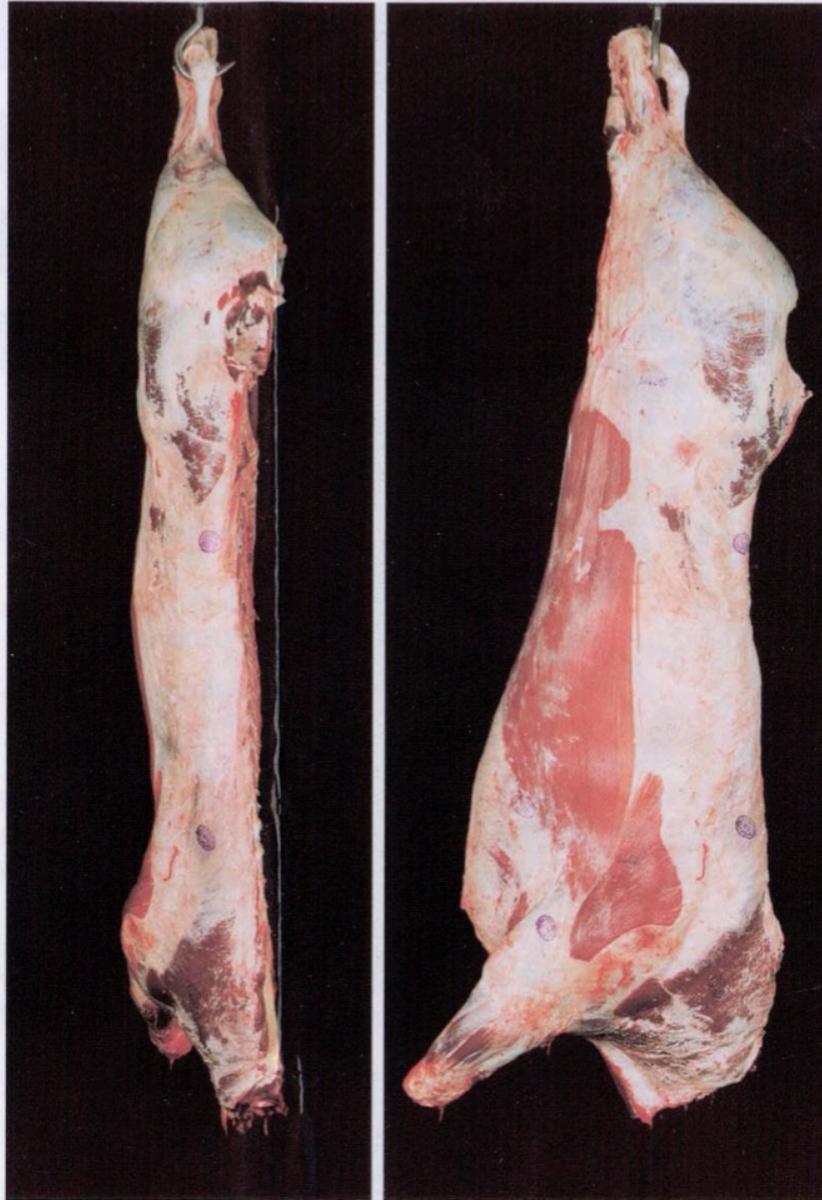
Épaule: rebondie.

Le tendre de tranche (\*) déborde sur la symphyse (*Symphysis pelvis*).

Le rumsteck (†) est rebondi.

(\*) Dénommé en Belgique «grosse cuisse».

(†) Dénommé en Belgique «petite tête».



## R – Bonne

Profils rectilignes dans l'ensemble; bon développement musculaire.

Cuisse: bien développée.

Dos: encore épais mais moins large à la hauteur de l'épaule.

Épaule: assez bien développée.

Le tendre de tranche (1) et le rumsteck (2) sont légèrement rebondis.

(1) Dénommé en Belgique «grosse cuisse».

(2) Dénommé en Belgique «petite tête».



### **O – Assez bonne**

Profils rectilignes à concaves;  
développement musculaire moyen.

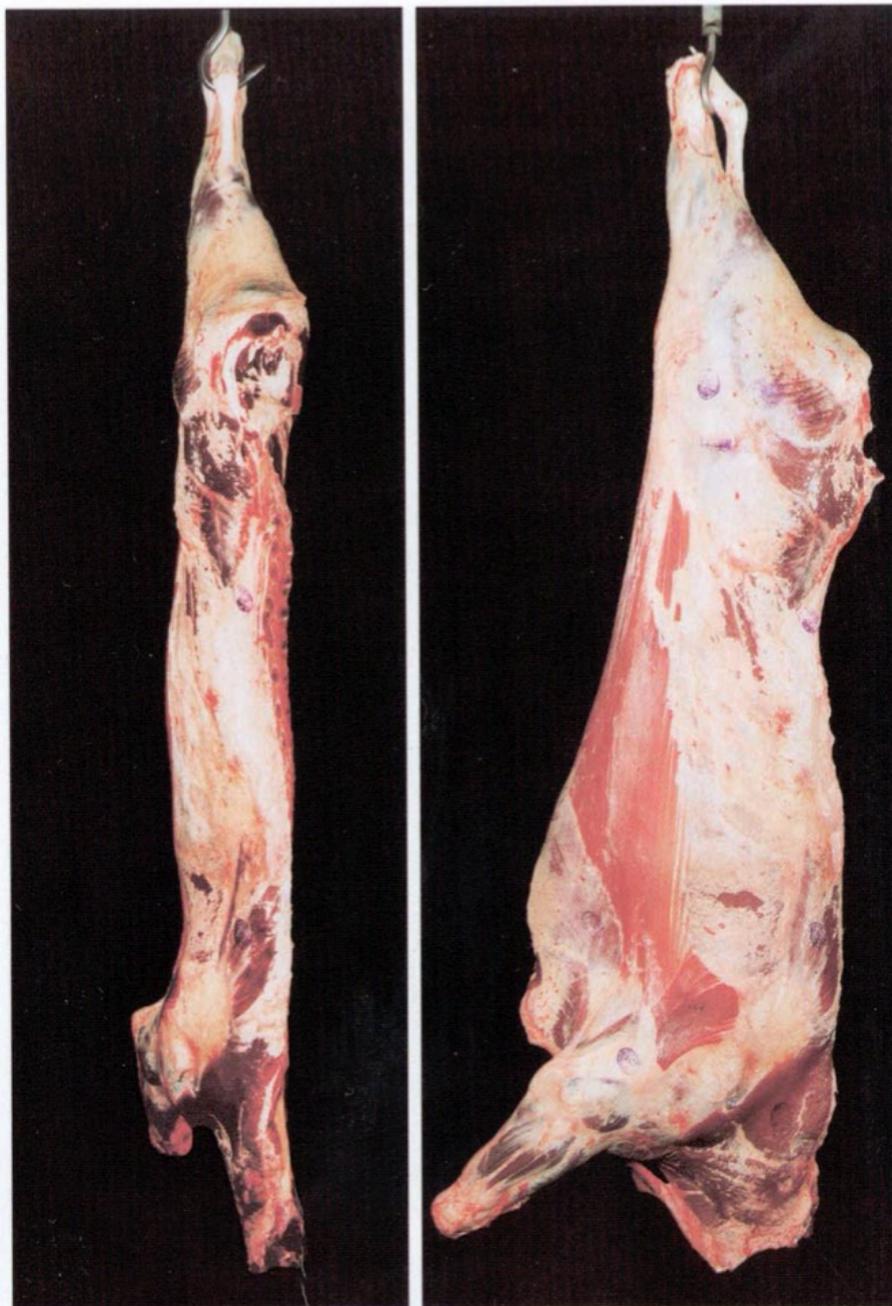
Cuisse: moyennement développée.

Dos: d'épaisseur moyenne.

Épau: moyennement développée à presque plate.

Le rumsteck (\*) est rectiligne.

(\*) Dénommé en Belgique «petite tête».



### **P – Médiocre**

Tous les profils concaves à très concaves;  
développement musculaire réduit.

Cuisse: peu développée.  
Dos: étroit avec os apparents.  
Épaule: plate avec os apparents.

Annexe 6 : Grille communautaire de classement de l'état d'engraissement des carcasses de gros bovins.



CM-84-94-711-FR-D

**1 – Très faible**

Couverture de graisse inexistante à très faible.  
Pas de graisse à l'intérieur de la cage thoracique.

Prix au Luxembourg, TVA exclue: ECU 0,50

---



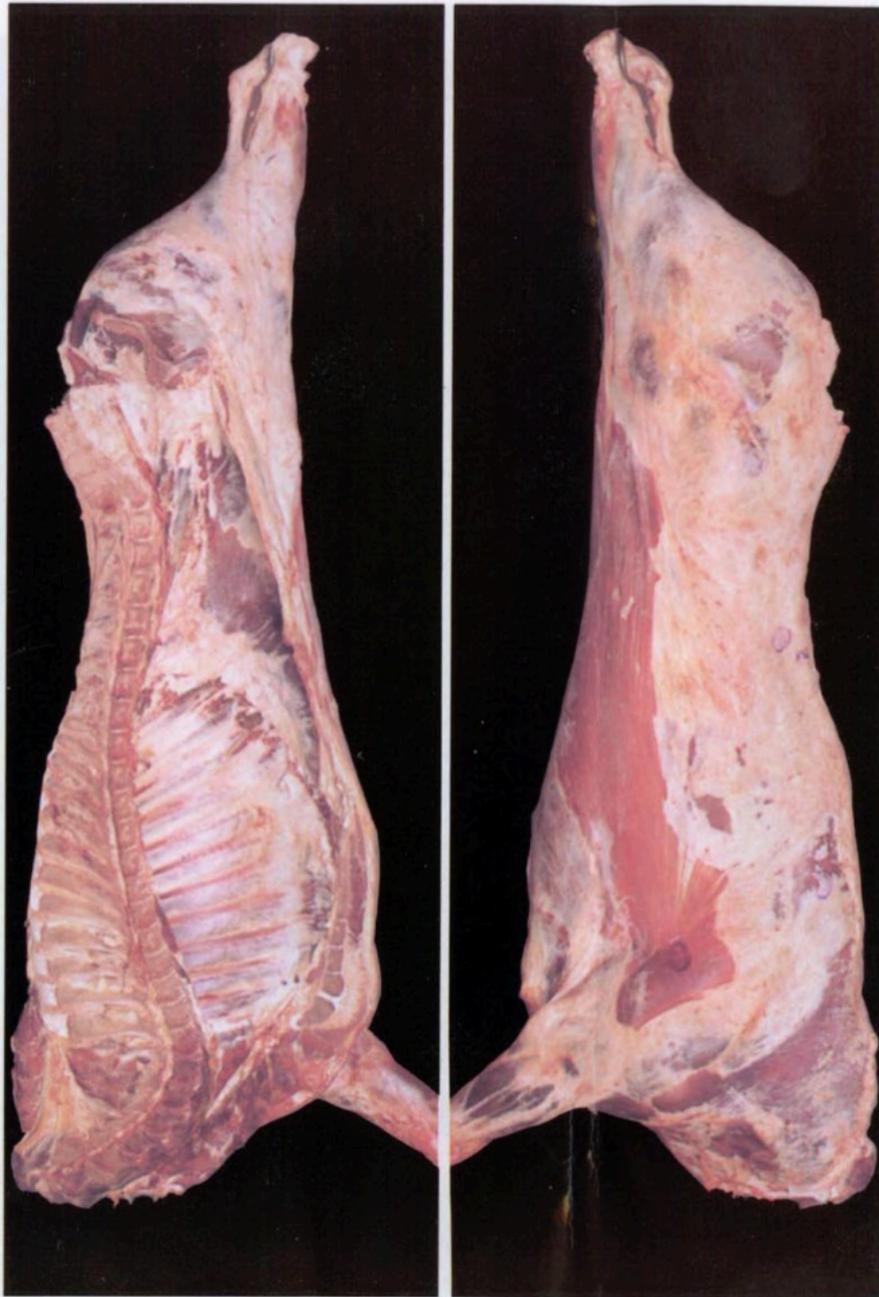
OFFICE DES PUBLICATIONS OFFICIELLES  
DES COMMUNAUTÉS EUROPÉENNES  
L-2985 Luxembourg



## 2 – Faible

Légère couverture de graisse, muscles presque partout apparents.

À l'intérieur de la cage thoracique, les muscles entre les côtes sont nettement visibles.



### 3 – Moyen

Muscles, à l'exception de la cuisse et de l'épaule, presque partout couverts de graisse; faibles dépôts de graisse à l'intérieur de la cage thoracique.

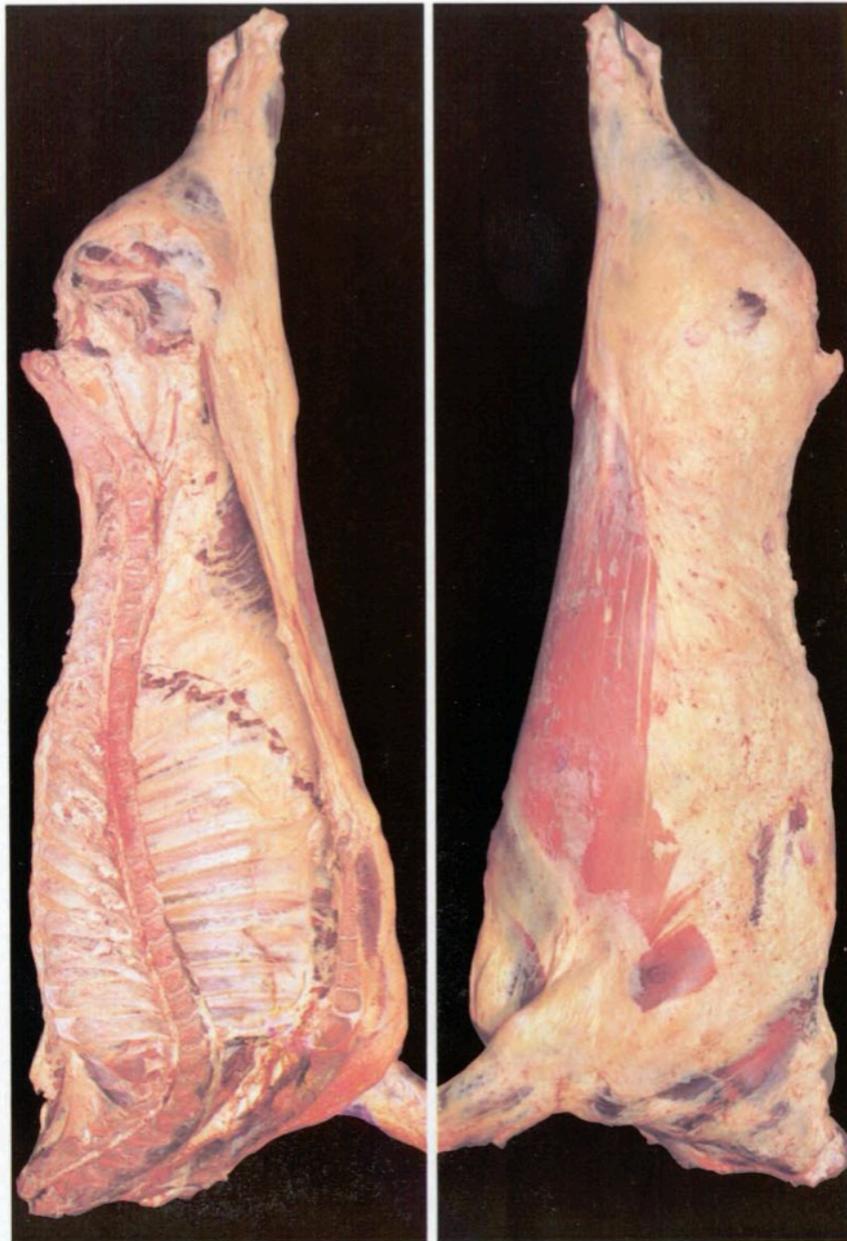
À l'intérieur de la cage thoracique, les muscles entre les côtes sont encore visibles.



#### 4 – Fort

Muscles couverts de graisse mais encore partiellement visibles au niveau de la cuisse et de l'épaule; quelques dépôts prononcés de graisse à l'intérieur de la cage thoracique.

Les veines de gras de la cuisse sont saillantes. À l'intérieur de la cage thoracique, les muscles entre les côtes peuvent être infiltrés de graisse.



### 5 – Très fort

Toute la carcasse recouverte de graisse, dépôts de graisse à l'intérieur de la cage thoracique.

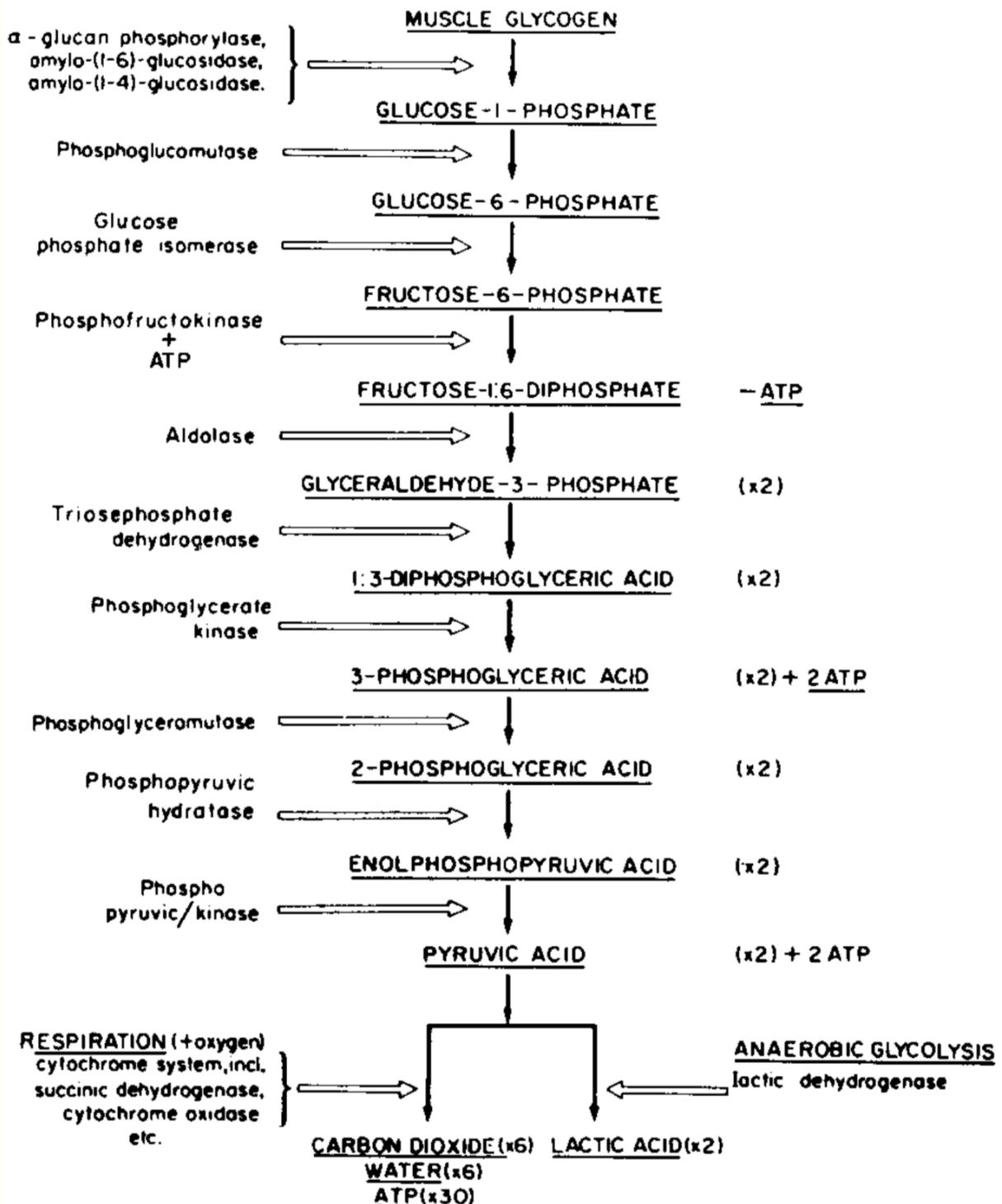
La cuisse est presque entièrement recouverte d'une couche épaisse de graisse, de sorte que les veines de gras sont très peu apparentes.

À l'intérieur de la cage thoracique, les muscles entre les côtes sont infiltrés de graisse.

Annexe 7 : Détails des différents états d'engraissements des gros bovins (France AgriMer, 2016).

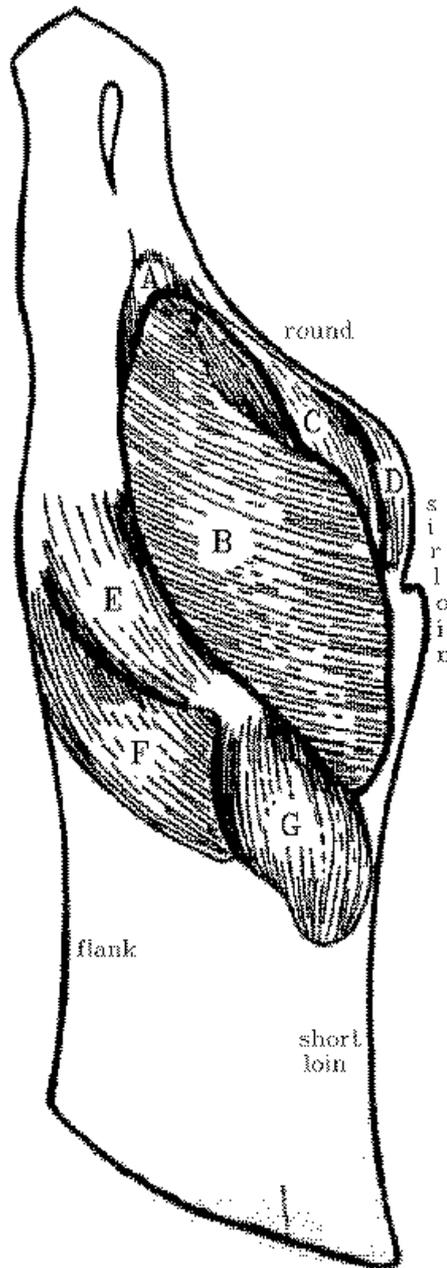
<b>Classe de conformation</b>	<b>Description</b>
<p style="text-align: center;"><b>1</b></p> <p style="text-align: center;">Très faible</p>	<p>Couverture de graisse inexistante à très faible</p> <p>Pas de graisse à l'intérieur de la cage thoracique</p>
<p style="text-align: center;"><b>2</b></p> <p style="text-align: center;">Faible</p>	<p>Légère couverture de graisse, muscles presque partout apparents</p> <p>A l'intérieur de la cage thoracique, les muscles entre les côtes sont nettement visibles</p>
<p style="text-align: center;"><b>3</b></p> <p style="text-align: center;">Moyen</p>	<p>Muscles, à l'exception de la cuisse et de l'épaule, presque partout couverts de graisse ; faibles dépôts de graisse à l'intérieur de la cage thoracique</p> <p>A l'intérieur de la cage thoracique, les muscles entre les côtes sont encore visibles</p>
<p style="text-align: center;"><b>4</b></p> <p style="text-align: center;">Fort</p>	<p>Muscles couverts de graisse mais encore partiellement visibles au niveau de la cuisse et de l'épaule ; quelques dépôts prononcés de graisse à l'intérieur de la cage thoracique</p> <p>Les veines de gras de la cuisse sont saillantes. A l'intérieur de la cage thoracique, les muscles entre les côtes peuvent être infiltrés de graisse</p>
<p style="text-align: center;"><b>5</b></p> <p style="text-align: center;">Très fort</p>	<p>Toute la carcasse recouverte de graisse, dépôts importants de graisse à l'intérieur de la cage thoracique</p> <p>La cuisse est presque entièrement recouverte d'une couche épaisse de graisse, de sorte que les veines de gras sont très peu apparentes</p> <p>A l'intérieur de la cage thoracique, les muscles entre les côtes sont infiltrés de graisse</p>

Annexe 8 : Schéma simplifié montrant les étapes de la conversion du glycogène musculaire en dioxyde de carbone et en eau, par la respiration en présence d'oxygène, et en acide lactique dans des conditions anaérobiques. Les rendements d'ATP sont indiqués. Les substrats sont écrits en lettres capitales et les enzymes en minuscules (Lawrie's meat science book, seventh edition).

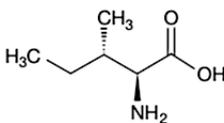
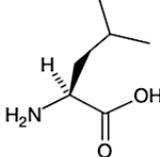
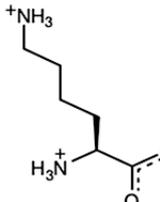
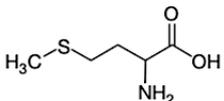
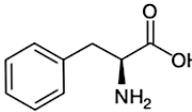
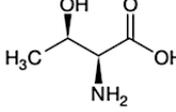
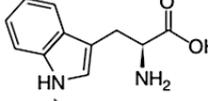
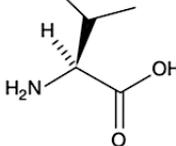
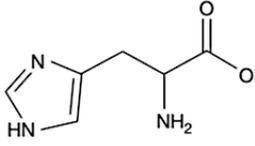
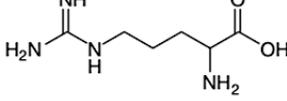




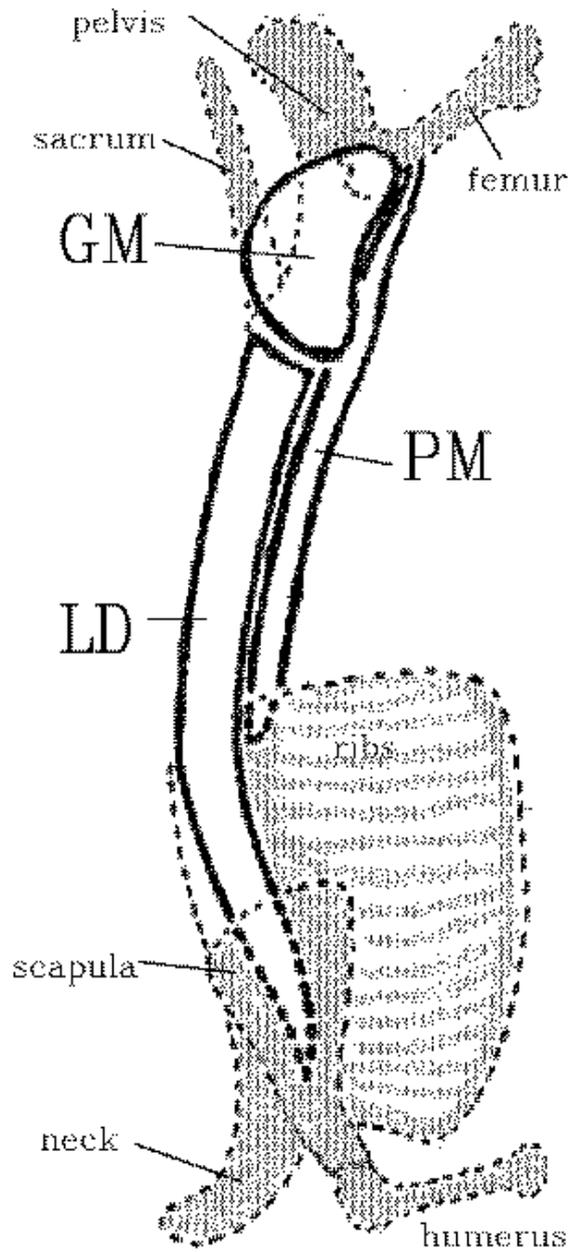
Annexe 10 : Représentation des muscles de la patte arrière chez le bovin avec A= *Gastrocnemius*, B = *Biceps femoris*, C = *Semitendinosus*, D = *Semimembranosus*, E = *Vastus lateralis*, F = *Tensor fascia lata*, and G = *Gluteus medius* ([http://animalbiosciences.uoguelph.ca/~swatland/ch4\\_1.htm](http://animalbiosciences.uoguelph.ca/~swatland/ch4_1.htm)).



Annexe 11 : Liste des acides aminés (AA) essentiels pour l'Homme (Lawrie and Ladward, 2006).

Essential amino acid	Chemical structure of amino acid	Concentration of crude protein (%)		
		Pork	Beef	Lamb
Isoleucine		7.9	5.1	4.8
Leucine		7.5	8.4	7.4
Lysine		7.8	8.4	7.6
Methionine		2.5	2.3	2.3
Phenylalanine		4.1	4.0	3.9
Threonine		5.1	4.0	4.9
Tryptophan		1.4	1.1	1.3
Valine		5.0	5.7	5.0
Histidine (essential for infants)		3.2	2.9	2.7
Arginine (essential for infants)		6.4	6.6	6.9

Annexe 12 : Représentation des muscles *Gluteus Medius* (GM), *Longissimus Dorsi* (LD) et *Psoas Major* (PM) chez le bovin ([http://animalbiosciences.uoguelph.ca/~swatland/ch4\\_1.htm](http://animalbiosciences.uoguelph.ca/~swatland/ch4_1.htm)).



Annexe 13 : Étiquette produit de la viande utilisée pour les expérimentations.

PUIGRENIER  
ALLEE GILBERT TALBOURDEAU  
03100 MONTLUCON

FR  
03.185.038  
CE

VIANDE  
BOVINE  
MARIAGE

L5

(240)004952(37)001(3103)004150996242(10)2907380997

Lot : 2907380997  
Code Produit : 004952

ENTRECOTE ENTIERE SP JB CHAROL VBF

Origine : FRANCE  
Race : CHAROLAIS  
Type racial : VIANDE  
Categorie : JEUNE BOVIN

Poids Net : 4.150 kg

Lieu découpe : FR 03.185.038 CE Pays de découpe : FRANCE  
Lieu abattage : FR 03.185.002 CE Pays d'abattage : FRANCE

A CONSERVER ENTRE 0 ET +4°C Abattu le : 11/02/19

Conditionne le : 12/02/19 A consommer jusqu'au : 29/03/19

(01)93423319035004(3103)004150(10)2907380997

(01)93423319035004(10)2907380997

2 117959 041508

2 117959 041508

(01)93423319035004(3103)004150(10)2907380997

ip0103057 - DE057 - 202\_GP\_MUSCLE

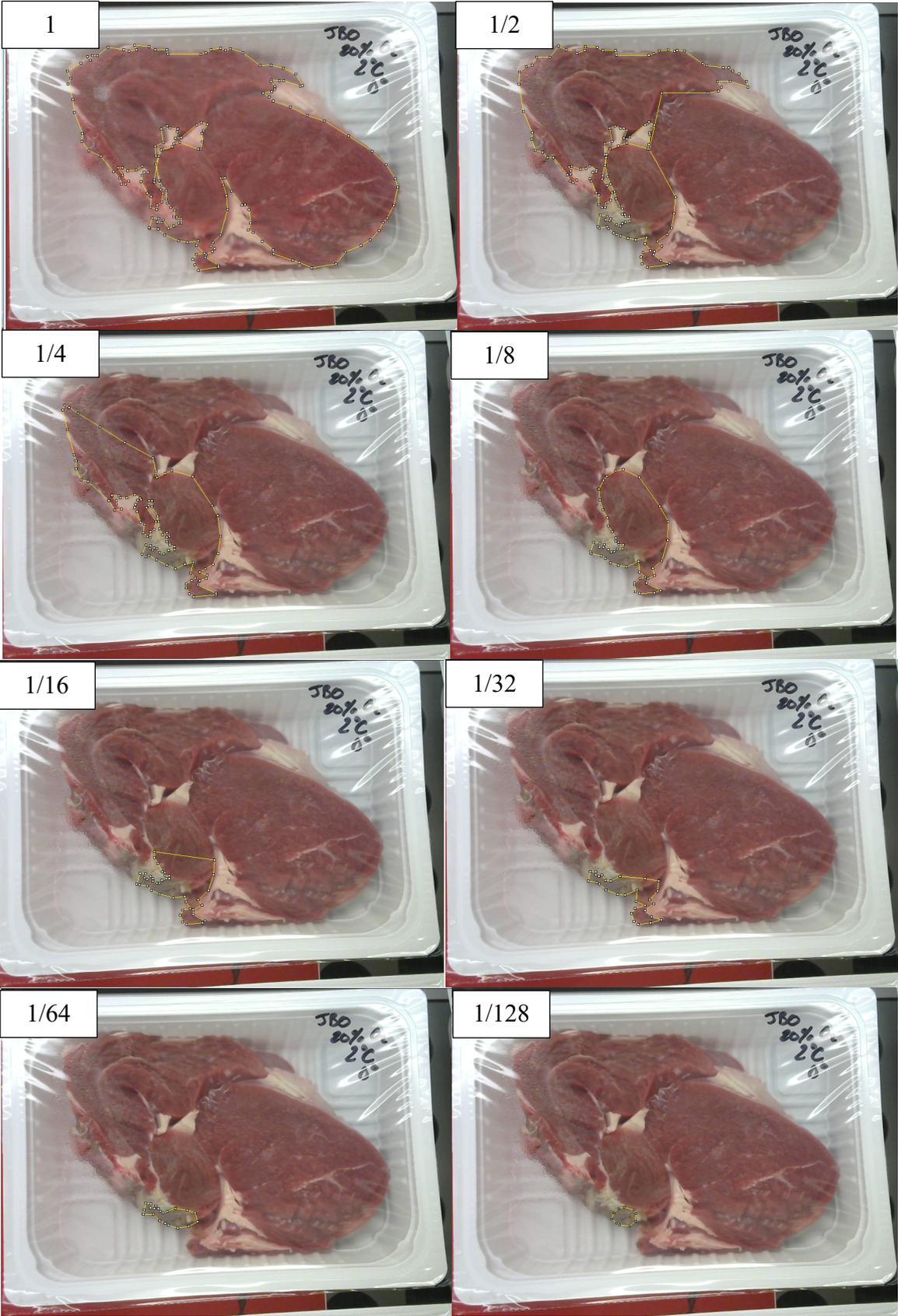
Annexe 14 : Machine à double cloche Multivac permettant de conditionner les échantillons sous vide ou demi vide.



Annexe 15 : Operculeuse semi-automatique Multivac T20 permettant de conditionner les tranches de viande sous atmosphère modifiée (O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> et CO<sub>2</sub>).



Annexe 16 : Découpe de la surface de la viande pour déterminer la limite de détection des virements de couleurs de la viande.



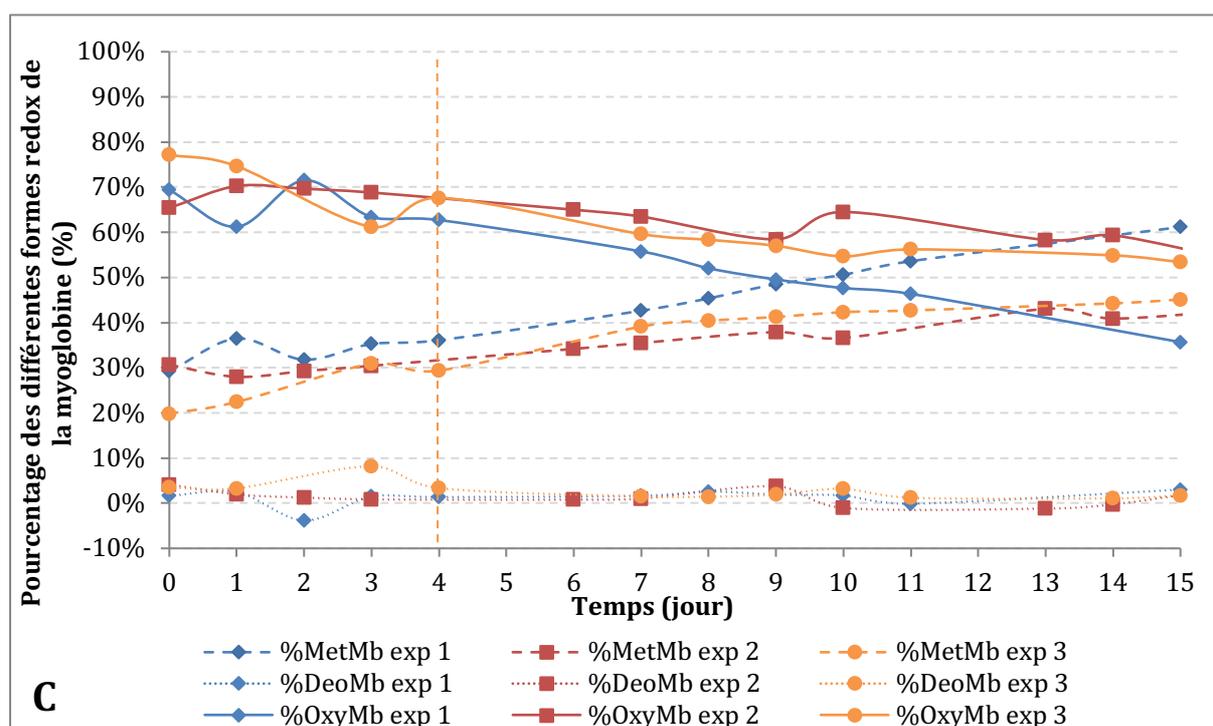
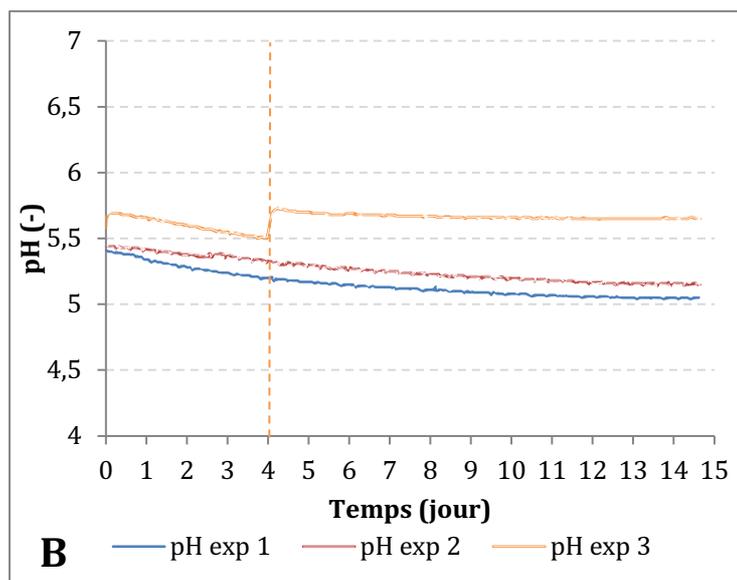
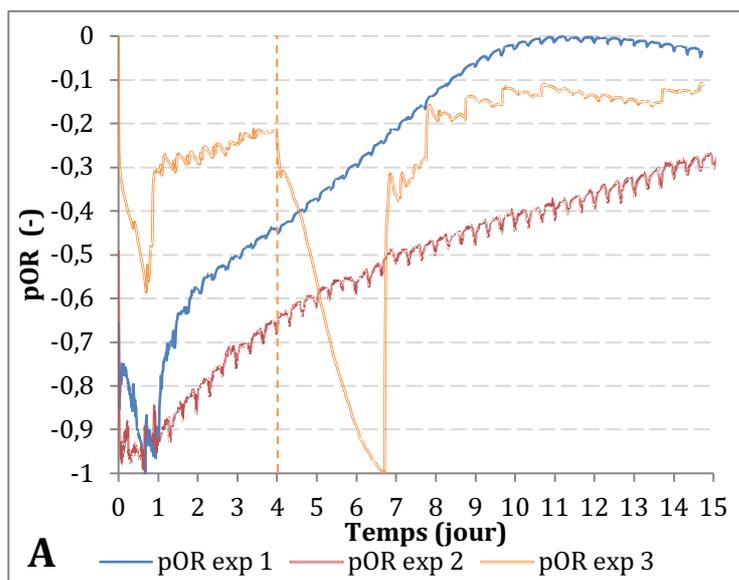
Annexe 17 : Cycles seuils (Ct) obtenus lors de la vérification des biais d'extraction d'ADN et de dépôts.

			Ct	Moyennes		Ecart-types	
Extraction 1	Réplica 1	Dépôt 1	7,45	7,61	7,72	0,13	0,39
		Dépôt 2	7,68				
		Dépôt 3	7,68				
	Réplica 2	Dépôt 1	7,41	7,98	7,72	0,65	0,39
		Dépôt 2	7,85				
		Dépôt 3*	8,69				
	Réplica 3	Dépôt 1	7,56	7,58	7,72	0,11	0,39
		Dépôt 2	7,71				
		Dépôt 3	7,48				
Négatif			24,91				
Extraction 2	Réplica 1	Dépôt 1	9,07	9,10	9,16	0,08	0,19
		Dépôt 2	9,05				
		Dépôt 3	9,19				
	Réplica 2	Dépôt 1	8,93	9,26	9,16	0,33	0,19
		Dépôt 2	9,59				
		Dépôt 3	9,26				
	Réplica 3	Dépôt 1	9,25	9,12	9,16	0,11	0,19
		Dépôt 2	9,03				
		Dépôt 3	9,07				
Negatif			24,23				
Extraction 3	Réplica 1	Dépôt 1	9,42	9,57	9,98	0,13	0,72
		Dépôt 2	9,68				
		Dépôt 3	9,62				
	Réplica 2	Dépôt 1*	10,99	10,93	9,98	0,08	0,72
		Dépôt 2*	10,95				
		Dépôt 3*	10,84				
	Réplica 3	Dépôt 1	9,39	9,43	9,98	0,07	0,72
		Dépôt 2	9,38				
		Dépôt 3	9,51				
Negatif			24,89				

Annexe 18 : Évolution dans les différents jus filtrés ( $\phi$ ) du potentiel hydrogène (pH), du potentiel d'oxydoréduction (pOR) et des différentes formes de myoglobine au cours de 15 jours de suivi.

exp n : expérience n. %MetMb, %OxyMb et %DéoMb sont respectivement les pourcentages de MetMyoglobine, d'OxyMyoglobine et de DésoxyMyoglobine. Une seconde filtration du jus 3 est indiquée au jour 4 par un trait pointillé jaune

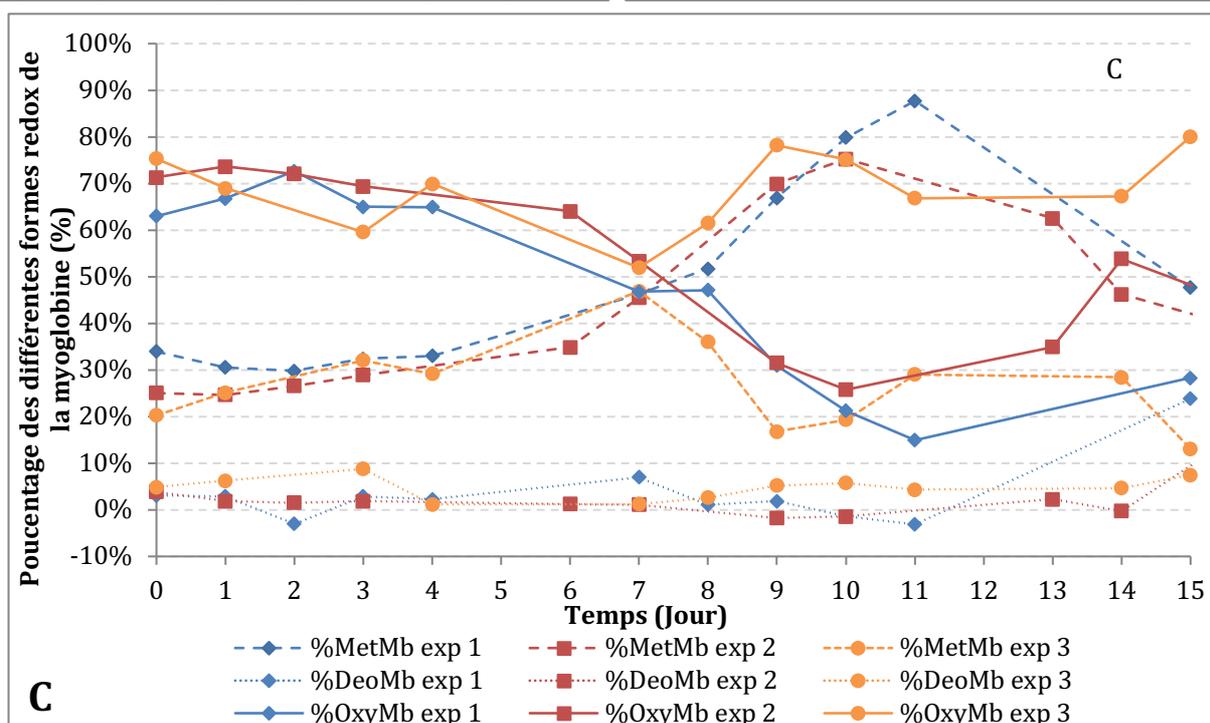
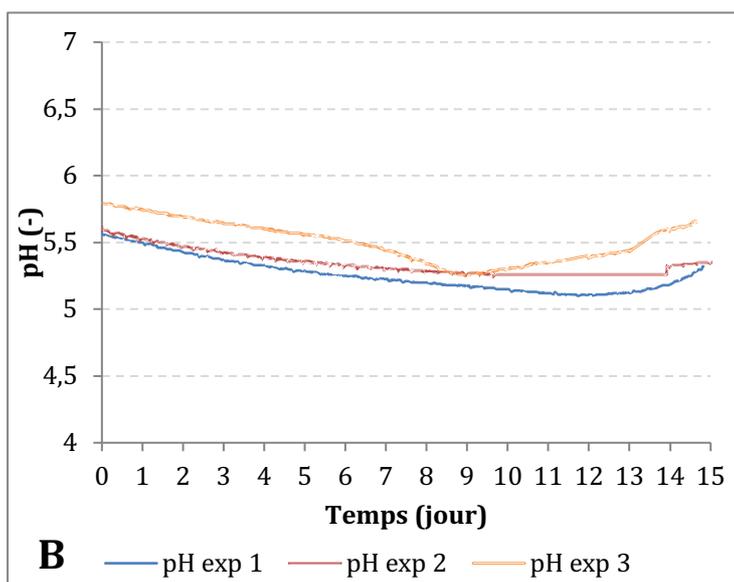
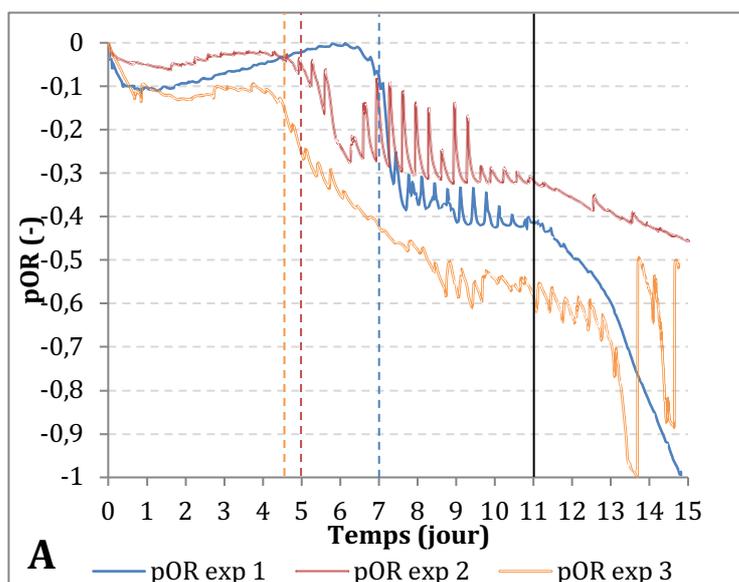
A : Variations du pOR dans les jus ( $\phi$ ). B : Variations du pH dans les jus ( $\phi$ ). C : Variations des différentes formes de myoglobine dans les jus ( $\phi$ ).



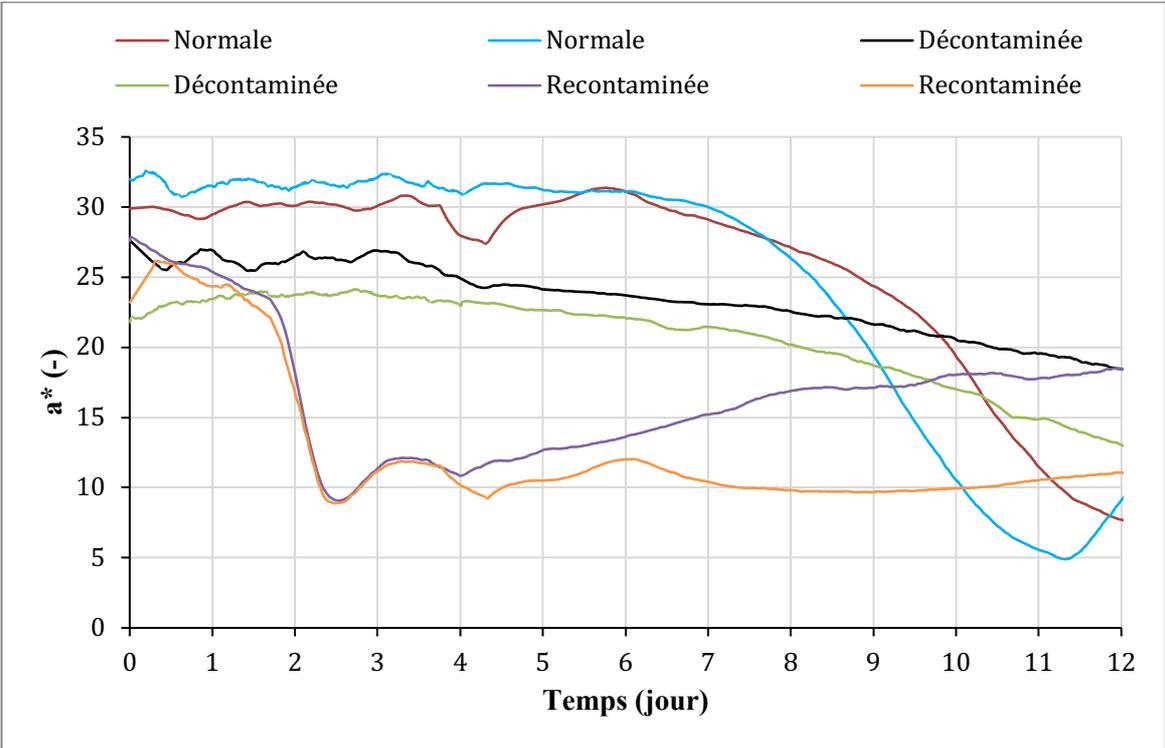
Annexe 19 : Évolution dans les différents jus non filtrés ( $\pi$ ) du potentiel hydrogène (pH), du potentiel d'oxydoréduction (pOR) et des différentes formes de myoglobine au cours de 15 jours de suivi.

exp n : expérience n. %MetMb, %OxyMb et %DéoMb sont respectivement les pourcentages de MetMyoglobine, d'OxyMyoglobine et de DésoxyMyoglobine.

A : Variations du pOR dans les jus ( $\pi$ ). Les traits discontinus indiquent le début de la chute de pOR de chaque expérience. En noir se situe la seconde chute de pOR commune aux trois expériences. B : Variations du pH dans les jus ( $\pi$ ). C : Variations des différentes formes de myoglobine dans les jus ( $\pi$ ).

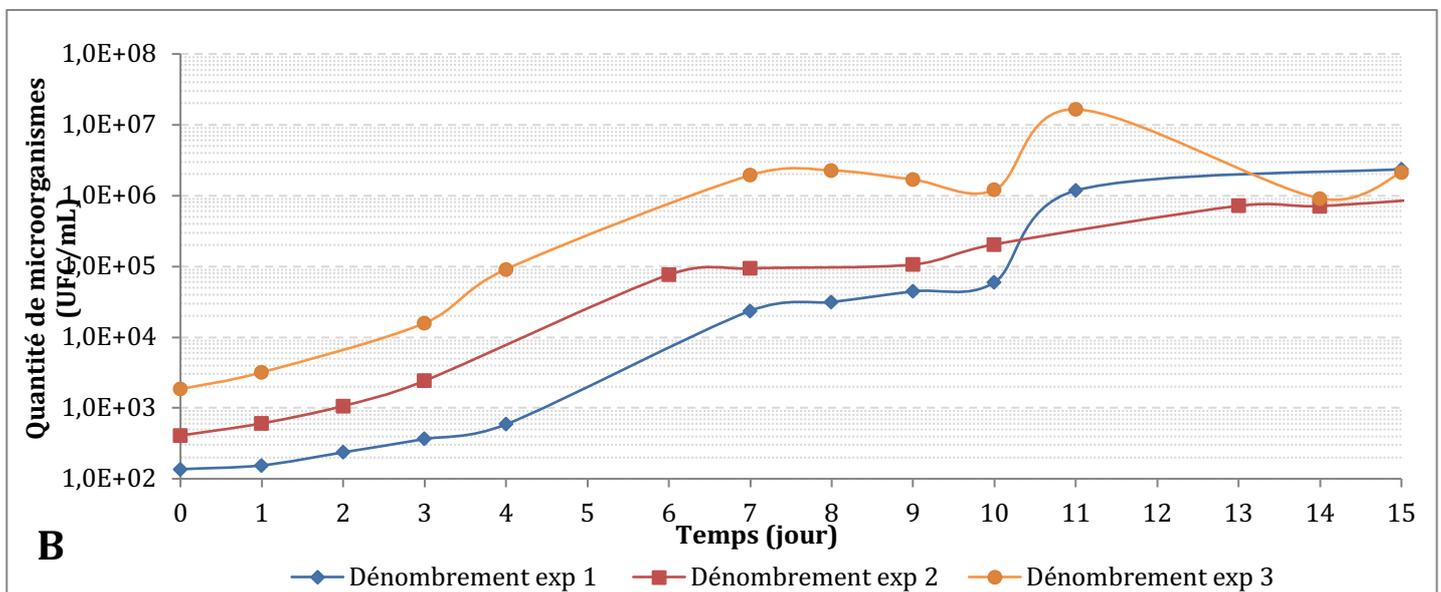
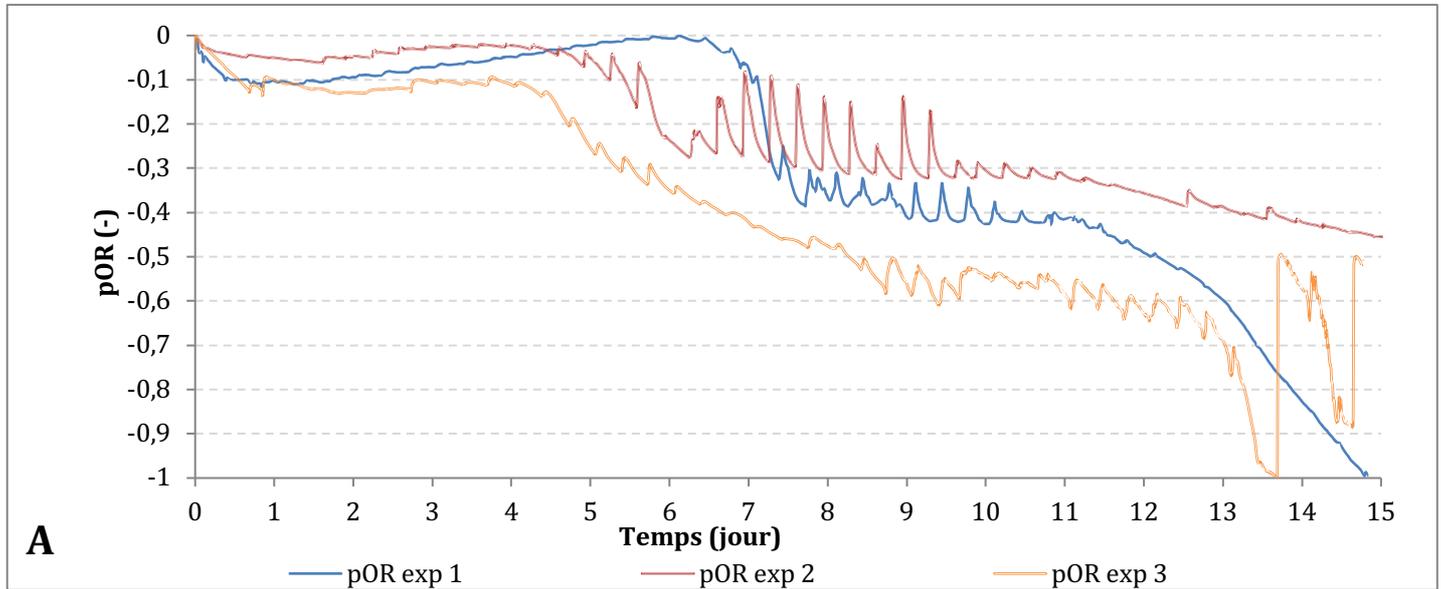


Annexe 20 : Suivi du virement de couleur ( $a^*$ ) de noix d'entrecôte mises en barquette sous air à 4 °C selon différentes conditions microbiologiques en fonction du temps. (normale : aucune modification n'a été faite par rapport à une viande découpée en abattoir ; décontaminée : la viande a subi un protocole de décontamination ; recontaminée : la noix a subi une décontamination puis une recontamination avec un consortium bactérien).



Annexe 21 : Détermination graphique de la quantité de microorganismes en unité formant des colonies (UFC/mL) associée à la chute de potentiel d'oxydoréduction (pOR) dans chaque jus non filtré ( $\pi$ ).

A : Variations du pOR dans les jus ( $\pi$ ). B : Évolution des microorganismes dans les jus ( $\pi$ ).



Annexe 22 : Liste des équations testées sur l'ensemble des cinétiques expérimentales.

<p>Équation de Verhulst.</p>	$y = \frac{A}{1 + \exp\left(\frac{4 \times \mu}{A}(L - t) + 2\right)}$ <p>t : temps - A : <math>y_0 - y_{fin}</math>  <math>y_0</math> : valeur initiale de y - <math>y_{fin}</math> = valeur finale de y  <math>\mu</math> : vitesse maximale - L : temps de latence</p>
<p>Équation de Gompertz</p>	$y = A \times \exp\left[-\exp\left(\frac{\mu \times e}{A}(L - t) + 1\right)\right]$ <p>t : temps - A : <math>y_0 - y_{fin}</math>  <math>y_0</math> : valeur initiale de y - <math>y_{fin}</math> = valeur finale de y  <math>\mu</math> : vitesse maximale - L : temps de latence</p>
<p>Équation de Buchanan</p>	$y = \begin{cases} y_0 & \text{si } t \leq L \\ y_0 + \mu \times (t - L) & \text{si } L \leq t \leq t_{Palier} \\ y_{fin} & t \geq t_{Palier} \end{cases}$ <p>t : temps - <math>t_{Palier}</math> : temps nécessaire pour atteindre <math>y_{fin}</math>  <math>y_0</math> : valeur initiale de y - <math>y_{fin}</math> = valeur finale de y  <math>\mu</math> : vitesse maximale - L : temps de latence</p>
<p>Équation d'Albert</p>	$y = (y_0 - y_{Palier}) \times 10^{-(t/\delta)^p}$ <p>t : temps - <math>\delta</math> : temps pour diviser par 10 y  <math>y_0</math> : valeur initiale de y - <math>y_{fin}</math> = valeur finale de y  p : coefficient de forme</p>
<p>Équation de Geeraerd</p>	$y = (y_0 - y_{Palier}) \times \exp(-\mu \times t) \times \left[ \frac{\exp(\mu \times L)}{1 + (\exp(\mu \times L) - 1) \times \exp(-\mu \times t)} \right] + y_{Palier}$ <p>t : temps - <math>t_{Palier}</math> : temps nécessaire pour atteindre <math>y_{fin}</math>  <math>y_0</math> : valeur initiale de y - <math>y_{fin}</math> = valeur finale de y  <math>\mu</math> : vitesse maximale - L : temps de latence</p>

## **Résumé**

Cette thèse avait pour but de (1) développer une nouvelle méthode de mesure du potentiel d'oxydoréduction (pOR) comme indicateur des virements de couleurs dans la viande fraîche bovine, (2) modéliser l'impact des facteurs influençant ces virements et (3) développer un outil de prédiction de ces virements. Il a été mis en évidence que le jus de viande est un bon milieu mimétique de la viande pour l'étude des virements de couleur. Le virement de couleur est plus rapide dans le jus que dans la viande et plus rapide à 20 °C qu'à 4 °C. Le pOR permet de suivre les virements de couleur et une symétrie a été mise en évidence entre cette grandeur thermodynamique et les virements de couleur. Deux virements de couleur ont été observés, un de rouge vif à jaune/marron et l'autre de jaune/marron à rouge foncé. La présence de microorganismes ne fait qu'accélérer une réaction existante lors du premier changement de couleur alors qu'elle est essentielle pour l'obtention d'un second changement de couleur. La population causant le premier virement serait dominée par des *Pseudomonas* et/ou des *Brochothrix* alors que les bactéries lactiques seraient responsables du second. Un modèle de prédiction du virement de couleur ( $a^*$ ) a été développé à l'aide du plan d'expériences de Jones Nachtsheim et de l'équation de Gompertz. L'optimisation non linéaire a montré que la pression partielle en dioxygène est le facteur prédominant dans la régression (> 80 %) devant la température de stockage, le temps de maturation sous vide et l'angle de découpe de la viande.

## **Abstract**

The purpose of this thesis was (1) to develop a new method for measuring the redox potential as an indicator of color changes in fresh beef, (2) to model the impact of the factors influencing these changes and (3) to develop a tool to predict these changes. Meat juice has been shown to be a good mimetic medium for the study of color changes. Color change is faster in the juice than in the meat and faster at 20 °C than at 4 °C. Redox potential allows following color changes and a symmetry has been highlighted between this thermodynamic measure and color changes. Two color changes were observed, one from bright red to yellow/brown and the other from yellow/brown to dark red. The presence of microorganisms only accelerates an existing reaction during the first color change while it is essential for obtaining the second color change. The population causing the first change would be dominated by *Pseudomonas* and/or *Brochothrix* while lactic bacteria would be responsible for the second one. A predictive model of color changes ( $a^*$ ) was developed using the Jones Nachtsheim experimental design and the Gompertz equation. Non-linear optimization has shown that partial pressure of oxygen is the predominant factor in the regression (> 80%) before the storage temperature, the time of maturation under vacuum and the cutting angle of the meat.