

RELATIONS ENTRE LE METABOLISME *POST MORTEM* ET LES QUALITES DES VIANDES : APPORTS DE LA PROTEOMIQUE

MORZEL M., TERLOUW C., LAVILLE E.

Qualité des Produits Animaux, INRA, Theix, 63122 St-Genès-Champanelle, France

Introduction

Le métabolisme musculaire *post mortem* peut être défini comme l'ensemble des réactions biochimiques survenant dans le muscle au cours de la période allant de la mort de l'animal jusqu'à la préparation de la viande avant consommation. Les événements *post mortem* les plus décrits sont la glycolyse, entraînant notamment accumulation de lactate et baisse de pH, l'oxydation des lipides mais aussi les modifications touchant les protéines: dénaturation, protéolyse, oxydation. De nombreux facteurs peuvent faire varier l'amplitude ou la nature du métabolisme *post mortem*, dépendants de l'animal (génétique, mode d'élevage et alimentation, réactivité au stress d'abattage etc...) ou technologiques (mode d'étourdissement, refroidissement des carcasses, emballages etc..) (Lebret et al., 1999 et 2002 ; Terlouw et al., 2005).

L'approche classique pour étudier le métabolisme *post mortem* est souvent dirigée envers un type de réaction et se fonde sur la quantification d'un ou plusieurs effecteurs ou produits de cette réaction. Ainsi, la glycolyse est étudiée en quantifiant une ou plusieurs enzymes clés de cette voie métabolique, ou en observant le résultat (mesures de pH, quantité de lactate...). La protéolyse est abordée en quantifiant les protéases et leurs inhibiteurs, ou en observant les profils protéolytiques résultants. Or, tous les événements interagissent étroitement entre eux et c'est le résultat de ces interactions qui conditionne les propriétés technologiques (ex : pouvoir de rétention en eau), sensorielles (flaveur, tendreté, jutosité) voire nutritionnelles des viandes. Ceci justifie en partie d'avoir recours à des méthodes d'étude dites globales, du type protéomique, métabolomique etc...

Au centre du métabolisme *post mortem* se trouvent les protéines, qui constituent en premier lieu une cible de modifications chimiques (ex : coupures, oxydations) ou structurales (ex : dénaturation) mais également qui sont les médiateurs des réactions biochimiques par l'intermédiaire des enzymes, inhibiteurs et protéines régulatrices. Ainsi, dans cette communication, nous présenterons le rôle de la composition en protéines de la cellule musculaire au moment de l'abattage, et celui des modifications des protéines *post mortem* sur les qualités des viandes crues avant préparation. Nous illustrerons notre propos par des exemples d'études que notre groupe de recherche a récemment réalisées en s'appuyant sur un outil privilégié, l'analyse protéomique.

Expression des protéines et qualités des viandes

Ce que nous appelons ici expression des protéines est la composition en protéines de la cellule musculaire au moment de la mise à mort. Celle-ci dépend du patrimoine génétique de l'animal (race, mutations, gènes majeurs) et des facteurs modulateurs à long terme, c'est à dire tout au long de la vie de l'animal ou à plus court terme, en particulier au cours des étapes de pré-abattage, que l'on sait perturbatrices de la physiologie musculaire. En prenant en compte le niveau d'expression des protéines et leur fonction biologique, il est possible de formuler des hypothèses sur la façon dont elles interagissent et de proposer des mécanismes explicatifs sur l'origine d'un défaut ou d'une particularité qualitative de la viande. Dans ce but, nous nous sommes attachés à étudier la fraction la plus soluble du protéome (fraction sarcoplasmique) parce qu'elle contient les principaux médiateurs des réactions biochimiques de la cellule musculaire.

Facteurs génétiques

Les différences intermusculaires sont des caractéristiques intrinsèques liées à la fonction spécifique du muscle. La comparaison des protéomes de muscles de mouton de type rapide glycolytique (*tensor fasciae latae*) avec un muscle plutôt lent oxydatif (*vastus medialis*) et avec un muscle de type intermédiaire tel le *semimembranosus* a montré que les muscles se différencient par des protéines liées au métabolisme oxydatif (Hamelin et al., en cours d'évaluation). L'expression des protéines du métabolisme glycolytique était relativement constante entre ces muscles. En relation avec le métabolisme oxydatif, nous avons mis en évidence des différences d'expression des protéines associées au 'stress oxydant': des protéines impliquées dans la détoxification cellulaire, le repliement des protéines dénaturées, la dégradation des protéines altérées et enfin, la synthèse protéique. Ces protéines confirment que le métabolisme oxydatif est générateur de composés toxiques, notamment les ROS (espèces réactives de l'oxygène), conduisant à un important turnover protéique. Par conséquent, les fibres dont le métabolisme est plus oxydatif sont dotées d'un équipement protéique spécifique qui leur permettra de résister à ce stress. Cette particularité des muscles rouges pourrait expliquer pourquoi ils sont moins susceptibles que les muscles blancs aux phénomènes de dénaturation, indépendamment du fait que la glycogénolyse *post mortem* y est moins intense.

La mutation conduisant à l'hypertrophie musculaire dans la race ovine 'Texel' belge implique le gène de la myostatine (Cloup et al., 2006). Les animaux présentant la mutation ont davantage de muscle et moins de gras. Les qualités sensorielles de leur viande ne sont a priori pas altérées. Les protéines mise en évidence lors de la comparaison d'animaux porteurs et non porteurs de la mutation (Hamelin et al., 2006a), montrent une sur-expression des enzymes

des métabolismes énergétiques, à la fois oxydatif et glycolytique. Certaines protéines chaperones sont aussi sur-exprimées probablement en relation avec l'augmentation du métabolisme énergétique. Enfin, deux protéines, la transferrine et l'alpha-1-antitrypsine sont respectivement, sur-exprimée et sous-exprimée dans tous les muscles des animaux porteurs de la mutation, qu'ils montrent ou non l'hypertrophie. Par exemple, ces protéines sont aussi modifiées dans le *vastus medialis* du génotype muté bien qu'il ne présente pas l'hypertrophie. Ces deux protéines dont les gènes sont fortement exprimés au stade fœtal (ARNm), interagissent probablement pour renforcer le signal de prolifération lors de la myogénèse (Hamelin et al., 2006b). Dans cette étude, la protéine myostatine codée par le gène porteur de la mutation n'a pas été mise en évidence. En revanche, l'analyse du protéome révèle des protéines qui pourraient être impliquées dans les mécanismes de régulation de la myostatine et contribuer à l'augmentation de la muscularité.

Chez le porc, une mutation sur le gène du canal calcique RyR bien connue, est à l'origine de graves bouleversements métaboliques conduisant à des défauts qualitatifs très importants de la viande. Entre les porcs sensibles et les porcs non sensibles les différences d'expression protéique peuvent se résumer à une simple opposition dans l'expression des protéines impliquées dans les métabolismes énergétiques (oxydatif vs glycolytique). Les protéines sur-exprimées chez les porcs sensibles relèvent du métabolisme glycolytique (Sayd, communication personnelle).

Dans une population porcine à forte variabilité génétique, l'outil protéomique a également été utilisé pour comprendre les mécanismes d'apparition d'un défaut de viande (Sayd et al., 2006). Le défaut de déstructuration du jambon se manifeste d'abord par une décoloration des muscles situés à l'intérieur du jambon frais. Après la cuisson, cette zone se délite lors du tranchage et occasionne des pertes économiques considérables. Nous avons donc comparé le protéome de deux lots de jambons (clairs et foncés, choisis au sein de 12 familles d'une population F2 présentant une forte variabilité génétique). Cette étude a montré que les muscles foncés ont un métabolisme plus oxydatif associé à davantage de protéines chaperones. Cette composition protéique atténuerait la vitesse de chute du pH et la dénaturation des protéines. Les muscles clairs associent un métabolisme glycolytique prononcé à une sur-expression d'un transporteur de fer (transferrine). Cette protéine, révélatrice d'une hypoxie, montrerait une déficience en oxygénation du muscle (moindre vascularisation, incapacité de l'animal à adapter son flux sanguin au stress de l'abattage). Dans les muscles clairs, la surexpression de la glutathion S-transferase omega (GSTO) pourrait contribuer à une constante augmentation du calcium sarcoplasmique et donc à la production de composés oxydants. Associée au métabolisme glycolytique, cette protéine peut accélérer la déplétion d'ATP, la vitesse de chute du pH et par conséquent la dénaturation des protéines, ce qui a pour conséquence une décoloration de la viande et une déstructuration après la cuisson. Ces résultats permettent de comprendre pourquoi les conditions d'abattage ont un effet important sur le développement du défaut Sayd et al., 2006).

Au travers de ces exemples, on constate qu'une mutation a le plus souvent des conséquences indirectes sur l'expression différentielle des protéines. Le différentiel d'expression protéique n'indique pas nécessairement la mutation causale mais il peut être utilisé comme marqueur d'un caractère phénotypique que l'on souhaite retenir ou éliminer par la sélection ou les conditions d'élevage ou d'abattage. Dans certains cas, l'analyse différentielle du protéome ouvre des pistes pour expliquer les mécanismes sous-jacents aux propriétés des muscles et de la viande.

Enfin, la protéomique peut aussi contribuer à la compréhension des différences des qualités des viandes entre des porcs de différentes origines génétiques. Un dispositif expérimental a été mis en place dans le cadre du programme européen Susporqual. Il vise à déterminer la contribution relative du type génétique (pères Duroc ou Large White, mères Large White x Landrace), du mode d'élevage (intérieur, extérieur) et des conditions d'abattage (mélange ou non des groupes, attente ou non à l'abattoir) sur les qualités technologiques de la viande de porc. Une analyse des protéines de la fraction sarcoplasmique, effectuée sur le muscle *longissimus lumborum* de 24 animaux, a mis en évidence que 10 protéines étaient influencées par la race du père uniquement. De ces protéines, une Ca²⁺ binding protein (CBP), impliquée dans la régulation de la concentration du Ca²⁺ intra-cellulaire, était corrélée négativement avec l'exsudat des porcs de père Large White, expliquant 50% de la variabilité. L'effet est probablement indirect et lié à la relation entre le pH ultime (également corrélé avec l'exsudat) et la CBP. L'intensité des spots du CBP était plus élevée chez les porcs de père Duroc mais pas corrélée avec l'exsudat. L'approche permet également l'identification des protéines discriminantes pour l'origine raciale du père. Ainsi, une analyse par composante principale utilisant les 10 protéines permettait la classification correcte de 22 des 24 porcs par rapport à leur origine raciale. Après exclusion des 8 protéines ayant les contributions les moins élevées, 20 porcs étaient toujours correctement classés. Les protéines permettant cette classification étaient la heat shock protein 70 (HSP70) et la pyruvate kinase M2 (PK2). Toutes deux étaient fortement influencées par l'origine génétique, mais seulement la HSP70 était corrélée avec un indicateur de qualité de viande : la perte à la cuisson. Cette étude montre que les liens entre l'expression de protéines et les qualités des viandes dépendent du type génétique de l'animal.

Conditions de l'environnement de l'animal

Elevage

Il est bien connu que les conditions d'élevage peuvent modifier les propriétés contractiles musculaires et la teneur du muscle en certaines protéines telles que la myoglobine (Bidner et al, 1986), certaines enzymes anti-oxydantes (Gatellier et al., 2004) ou encore les enzymes des métabolismes énergétiques (Bee et al., 2004). Ceci a été particulièrement étudié dans le cadre de comparaisons élevage conventionnel vs élevage en plein air. Ceci résulte de plusieurs composantes des

conditions d'élevage, en particulier l'alimentation (accès à l'herbe par exemple) et l'exercice musculaire rendu possible par l'espace dont dispose l'animal.

A titre d'exemple, le dispositif expérimental du programme européen Susporkqual a mis en évidence que 18 spots protéiques étaient influencées significativement que par le mode d'élevage (Kwasiborski et al., 2006). Comparé aux porcs intérieurs, les porcs extérieurs avaient des intensités de myoglobine plus élevées et de glycerol-3-phosphate dehydrogenase (G3PDH, impliquée dans la phosphorylation de glycerol-3-phosphate qui permet la synthèse de NADH) plus bas, indiquant un métabolisme plus oxydatif. Les deux protéines étaient négativement corrélées avec le L* du même muscle (*longissimus lumborum*). Comparé à l'origine génétique (cf ci-dessus), les conditions d'élevage influencent l'expression de plus de protéines et l'utilisation de plus de protéines était également nécessaire pour classer correctement les porcs selon leur mode d'élevage : les 18 protéines permettaient la classification correcte de 22 porcs. Les 10 protéines avec les contributions les plus élevées étaient nécessaires pour une classification correcte de 18 porcs.

Stress d'abattage

Le stress d'abattage, avec ses composantes émotionnelle et physique, induit de nombreuses perturbations de la physiologie musculaire, qui peuvent se répercuter sur la qualité de la viande. Ceci a été largement documenté dans la plupart des espèces de rente, et plus encore chez le porc, la volaille et les poissons d'élevage.

Chez le porc et la volaille, une des conséquences d'une activité musculaire exacerbée immédiatement avant la mise à mort est la baisse de pouvoir de rétention en eau. Ce phénomène passe notamment par l'augmentation de la température des muscles et l'accélération de la glycolyse *post mortem*, la combinaison résultante de pH bas et température élevée favorisant la dénaturation des protéines (Bendall et Wismer-Pedersen, 1962) et notamment de la myosine. Ceci a été reporté comme étant la cause majeure d'exsudation excessive (Offer, 1991).

Un autre exemple de conséquences néfastes du stress d'abattage est l'amollissement de la chair chez plusieurs espèces de poissons (Sigholt et al., 1997; Morzel et al., 2003). Afin d'étudier les mécanismes sous-jacents, nous avons mené une étude comparative du protéome musculaire de deux lots de truites arc-en-ciel. Un lot était abattu dans des conditions limitant l'activité musculaire (pêche immédiatement suivie d'une anesthésie chimique et saignée pendant cette phase de conscience altérée), le deuxième lot étant soumis à un abaissement du niveau d'eau dans le bassin pendant quinze minutes, ce qui entraîne une forte agitation du groupe, avant d'engager la même procédure de pêche, anesthésie puis saignée. L'activité musculaire intense de 15 minutes suffit à modifier la proportion relative de plusieurs enzymes du métabolisme énergétique mais aussi de protéines de structure, très tôt (45 minutes) après la mort. Après 24h, les différences entre les deux groupes de truites sont très atténuées mais la desmine, une des protéines de structure, demeure sous-représentée chez les truites soumises à activité musculaire. Cette protéine a été proposée à plusieurs reprises comme un marqueur de fraîcheur chez le poisson. Ainsi, l'activité physique engendrée par un serrage prolongé des poissons influencerait la texture et la fraîcheur de la chair en affectant le cytosquelette de la cellule musculaire (Morzel et al., 2006a).

Etat des protéines et qualités des viandes

Post mortem, un ensemble de phénomènes de natures physico-chimique et enzymatique conduisent à une altération des structures musculaires. On parle de maturation pour le muscle de mammifères et d'oiseaux, où ces phénomènes contribuent notamment à l'attendrissement de la viande. Pendant cette période, les protéines musculaires sont modifiées par trois phénomènes principaux, interagissant entre eux: dénaturation, oxydation, protéolyse.

Dénaturation

La dénaturation peut être définie par le réarrangement spatial des protéines sans hydrolyse des liaisons peptidiques. Elle est provoquée par l'acidification du muscle, la dessiccation, l'exposition à des concentrations en sels élevées ou à des températures très basses (<0°C) ou élevées (Lawrie, 1998). Plusieurs mesures peuvent rendre compte de la dénaturation, les plus utilisées étant la solubilité (mesures de concentrations protéiques de la fraction du muscle solubilisée dans un tampon phosphate) ou la mesure du degré d'hydrophobicité.

Comme décrit précédemment, la combinaison d'un pH bas et d'une température élevée accroît le degré de dénaturation des protéines, comme c'est le cas par exemple dans la viande dite PSE (Pale Soft Exudative) chez le porc ou la volaille. Une étude récente (Laville et al., 2005) a caractérisé des muscles *semimembranosus* de porc touchés par un défaut de déstructuration, c'est à dire la présence de zones PSE dans les régions profondes du muscle. Nous avons montré la dénaturation de protéines sarcoplasmiques (solubilité réduite) et avons observé une altération de profils électrophorétiques mono-dimensionnels, sarcoplasmique et myofibrillaire, similaires à ceux décrits précédemment dans la viande PSE, par exemple par Joo et al. (1999). L'originalité de l'étude, toutefois, résidait dans l'utilisation de l'électrophorèse 2D pour la caractérisation du défaut. Nous avons notamment observé la sous-représentation d'une forme d'HSP27 dans la viande déstructurée. Etant donné le rôle de cette protéine dans la stabilisation des myofilaments d'actine, il est possible qu'une moindre quantité de cette protéine favorise la dénaturation des protéines constitutives des

filaments fins. Dans une étude ultérieure, nous avons proposé un mécanisme conduisant à cette importante dénaturation, décrit plus haut (Sayd et al., 2006).

Oxydation

L'oxydation des protéines est favorisée après la mort de l'animal par l'altération des systèmes de défense anti-oxydants, à savoir la perte d'activité des enzymes antioxydantes et la dégradation de molécules telles la vitamine C. L'oxydation se traduit par la formation de groupements carbonyles sur les acides aminés à fonctions NH₂ (R-NH₂ devenant R-CHO), l'oxydation des groupements SH et ainsi la possibilité de formation de ponts disulphures entre deux cystéines, l'oxydation des groupements OH conduisant notamment à des bityrosines, ou encore l'hydroxylation des acides aminés aromatiques (Davies, 1987, Stadtman, 1990). L'oxydation des protéines suscite un certain intérêt dans le domaine du muscle en tant qu'aliment, aussi bien la viande (Liu et Xiong, 1996 ; Martinaud et al., 1997) que la chair de poisson (Kjærsgård et Jessen, 2004) en raison notamment de son rôle dans l'insolubilisation des protéines (Decker et al., 1993) et dans la modulation de la protéolyse *post mortem*. Ainsi, des résultats ont été obtenus sur des milieux modèles (myofibrilles isolées, oxydées chimiquement par des radicaux hydroxyl OH[•] puis protéolysées par la papaïne). Dans ces conditions, l'oxydation induit la formation de ponts disulphures et de bityrosines, génère des agrégats et décroît la sensibilité des protéines myofibrillaires à la protéolyse (Morzel et al., 2006b).

Protéolyse

L'altération de l'intégrité musculaire après la sortie de la *rigor mortis* est principalement le résultat de l'action des enzymes protéolytiques sur les protéines de structure. Ainsi, la dégradation de certaines protéines myofibrillaires et du cytosquelette au cours de la maturation de la viande est largement acceptée, telles que la titine (Fritz et Greaser, 1991), la nébuline (Taylor et al, 1995; Huff-Lonergan et al, 1995), la desmine (Koochmarai et al, 1991; Takahashi, 1996) et la troponine T (Ho et al, 1994). Chez le poisson, un marqueur particulier de la perte de fraîcheur est l' α -actinine (Tsuchiya et al, 1992; Papa et al, 1996). Les systèmes protéolytiques impliqués dans la maturation de la viande et dans la perte de fraîcheur du poisson sont les mêmes que ceux qui assurent la dégradation des protéines au cours des cycles de renouvellement cellulaires chez l'animal vivant (Asghar et Bhatti, 1987). Trois systèmes enzymatiques majeurs sont susceptibles d'intervenir : les calpaïnes, les cathepsines et le protéasome. On évoque aussi depuis peu l'intervention des systèmes enzymatiques impliqués dans l'apoptose, les caspases (Sentandreu et al. , 2002 ; Herrera-Mendez et al., 2006). L'utilisation de l'outil protéomique nous a apporté de nouvelles informations sur les phénomènes protéolytiques. Dans un premier temps, nous avons dans la plupart des études entreprises observé la présence de fragments dès les premiers prélèvements *post mortem*, laissant supposer que ces fragments existent dans le muscle de l'animal vivant (Morzel et al., 2004, Laville et al., 2005, Sayd et al., 2006). Dans la dernière étude, la surabondance de fragments de créatine kinase et d'énolases dans des muscles de porc prélevés très tôt après la mort et générant une viande foncée nous a conduit à formuler une hypothèse selon laquelle cette protéolyse exacerbée était liée au métabolisme plus oxydatif par ailleurs traduit par la plus grande quantité d'enzymes mitochondriales de la chaîne respiratoire. La conséquence sur la qualité de viande n'est pas ici directe, mais le degré de protéolyse nous indique que nous sommes dans des conditions métaboliques particulières.

Le deuxième type d'informations que nous avons obtenues est l'identification de cibles (protéiques et structurales) de la protéolyse *post mortem* jusqu'alors non connues, appartenant au compartiment sarcoplasmique (α -crystalline, myokinase). Il s'agit aussi de protéines de la strie Z (protéines cypher et myozénine), ce qui contribue très probablement à l'affaiblissement de la strie Z pendant la maturation de la viande (Morzel et al., 2004).

Conclusions

Ces différentes études ont montré que le métabolisme énergétique du muscle est souvent impliqué de façon plus ou moins directe dans les particularités qualitatives des viandes et notamment les aspects liés à la texture. Le type de métabolisme, son niveau et la présence de protéines « protectrices » de la cellule (HSP, chaperones...) en interaction avec les événements précédant la mort de l'animal ont une influence sur l'état des protéines et par conséquent sur les qualités de la viande. Ce schéma fonctionnel est généralement bien admis pour expliquer les qualités de la viande de porcs ou de volaille, et pourrait s'appliquer également à la viande bovine.

Références bibliographiques

- Asghar A., Bhatti A.R. 1987. Adv. Food Res., 31, 343-451.
Bee G., Guex G., Herzog W. 2004. J. Anim. Sci., 82, 1206-1213.
Bendall J.R., Wismer-Perdersen J. 1962. J. Food Sci., 27, 144-157.
Bidner T.D., Schupp A.R., Mohamad A.B., Rumore N.C., Montgomery R.E. Bagley C.P. McMillin. 1986. J. Anim. Sci., 63, 381-387.
Clou A., Marcq F., Takeda H., Pirottin D., Tordoir X., Bibé B., Bouix J., Caiment F., Elsen J-M., Eychenne F., Larzul C., Laville E., Meish F., Milenkovic D., Tobin J., Charlier C., Georges M. 2006. Nature Genetics, 38, 813-818.

- Davies K.J.A. 1987. *J. Biol. Chem.*, 262, 9895-9901.
- Decker E.A., Xiong Y.L., Calvert J.T., Cru A.D., Blanchard S.P. 1993. *J. Agric. Food Chem.*, 41, 186-189.
- Fritz J.D., Greaser M.L. 1991. *J. Food Sci.*, 56, 607-610.
- Gatellier P., Mercier Y., Renner M. 2004. *Meat Sci.*, 67, 385-394.
- Hamelin M., Sayd T., Chambon C., Bouix J., Bibé B., Milenkovic D., Leveziel H., Georges M., Clop A., Marinova P., Laville E. Proteomics, en cours d'évaluation.
- Hamelin M., Sayd T., Chambon C., Bouix J., Bibé B., Milenkovic D., Leveziel H., Georges M., Clop A., Marinova P., Laville E. 2006a. *J. Anim. Sci.*, accepté pour publication.
- Hamelin M., Forestier L., Milenkovic D., Laville E. 2006b. 11èmes JSMTV, Clermont-Ferrand, 4-5 octobre 2006.
- Herrera-Mendez C.H., Becila S., Boudjellal A., Ouali, A. 2006. *Trends Food Sci. Technol.*, 17, 394-405.
- Ho C.Y., Stromer M.H., Robson, R.M. 1994. *Biochimie*, 76, 369-375.
- Huff-Lonergan E., Parrish F.C., Robson R.M. 1995. *J. Anim. Sci.*, 73, 1064-1073.
- Joo S., Kaufmann R.G., Kim B.C., Park G.B. 1999. *Meat Sci.* 52, 291-297.
- Kjærsgård I.V.H., Jessen F. 2004. 34th WEFTA meeting, Lübeck, Germany, 12th-15th September.
- Kwasiborski A., Sayd T., Chambon C., Santé-Lhoutellier V., Rocha D., Terlouw C. 2006. 52nd ICoMST, Dublin, Ireland, 13th-18th August 2006.
- Laville E., Sayd T., Santé-Lhoutellier V., Morzel M., Labas R., Franck M., Chambon C., Monin G. 2005. *Meat Sci.*, 70, 167-172.
- Lawrie R.A. 1998. The conversion of muscle to meat. Ch 5. (p. 96-118) In "*Lawrie's meat science*", 6th edition, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England. Lebret, B., P. LeRoy, G. Monin, L. Lefaucheur, J. C. Caritez, A. Talmant, J. M. Elsen, and P. Sellier. 1999. *J. Anim. Sci.* 77:1482-1489.
- Lebret, B., P. Massabie, R. Granier, H. Juin, J. Mourot, and P. Chevillon. 2002. *Meat Science* 62:447-455.
- Liu G., Xiong Y.L. 1996. *J. Agric. Food Chem.*, 44, 779-784.
- Martinaud A., Mercier Y., Marinova P., Tassy C., Gatellier P., Renner M. 1997. *J. Agric. Food Chem.*, 45, 2481-2487.
- Morzel M., Chambon C., Hamelin M., Santé-Lhoutellier V., Sayd T., Monin G. 2004. *Meat Sci.*, 67, 589-696.
- Morzel M., Chambon C., Lefèvre F., Paboeuf G et Laville E. 2006a. *J. Agric. Food Chem.*, 54, 2997-3001.
- Morzel M., Gatellier P., Sayd T., Renner M., Laville E. 2006b. *Meat Sci.*, 73, 536-543.
- Morzel M., Sohier D., Van de Vis, H. 2003. *J. Sci. Food Agric.* 83: 19-28
- Offer G.W. 1991. *Meat Sci.*, 30, 157-184.
- Papa I., Alvarez C., Verrez-Bagnis V., Fleurence J., Benyamin Y. 1996. *J. Sci. Food Agric.*, 72, 63-70.
- Sayd T., Morzel M., Chambon C., Franck M., Figwer P., Larzul C., Le Roy P., Monin G., Chérel P., Laville E. 2006. *J. Agric. Food Chem.*, 54, 2732-2737.
- Sentandreu M.A., Coulis G., Ouali A. 2002. *Trends Food Sci. Technol.*, 13, 400-421.
- Sigholt T., Erikson T., Rustad T., Johansen S., Nordvedt T.S. Seland A. 1997. *J. Food Sci.* 62, 898-905.
- Stadtman ER. 1990. *Free Radic Biol Med.*, 9, 315-325.
- Takahashi K. 1996. *Meat Sci.*, 43, S67-S80.
- Taylor R.G., Geesink G.H., Thompson V.F., Koohmaraie M., Goll D.E. 1995. *J. Anim. Sci.*, 73, 1351-1367.
- Terlouw, E.M.C., Porcher J., Fernandez X. 2005. *J. Anim. Sci.* 83:1664-1672.
- Tsuchiya H., Kita S., Seki N. 1992. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58, 793-798.