

Table des matières

Résumé	iii
Abstract.....	v
Table des matières	vii
Liste des tableaux	xi
Liste des figures.....	xiii
Remerciements	xv
Avant-propos	xvii
Introduction	1
Chapitre 1 Revue des travaux antérieurs	3
1.1 <i>Le muscle</i>	3
1.1.1 Structure générale	3
1.1.2 La fibre musculaire	4
1.1.3 La transformation du muscle en viande.....	11
1.2 <i>La tendreté de la viande : une caractéristique complexe</i>	12
1.2.1 Dureté de base et collagène.....	13
1.2.2 Contraction musculaire lors de l'établissement du rigor mortis	16
1.2.3 L'attendrissement de la viande.....	30
1.3 <i>La stimulation électrique et l'amélioration de la tendreté</i>	51
1.3.1 Prévention du « cold shortening »	52
1.3.2 Altération physique des fibres musculaires	53
1.3.3 Impact sur la protéolyse	54
1.3.4 Importance majeure du couplage pH-température	55
1.3.5 Impacts sur les autres paramètres de qualité.....	56
1.3.6 Différentes méthodes de stimulation	57
1.4 <i>Conclusion générale, objectifs et hypothèses de recherche</i>	58
1.4.1 Conclusion générale.....	58
1.4.2 Objectifs	59
1.4.3 Hypothèses	60
1.5 <i>Références</i>	60
Chapitre 2 Effects of low voltage electrical stimulation and aging on heavy lamb meat quality	83
2.1 <i>Résumé</i>	84
2.2 <i>Abstract</i>	84

2.3	<i>Introduction</i>	85
2.4	<i>Materials and methods</i>	87
2.4.1	Animal management	87
2.4.2	Laboratory analyses	88
2.4.3	Statistical analysis	90
2.5	<i>Results and discussions</i>	91
2.5.1	Animals.....	91
2.5.2	Temperature and pH decline	91
2.5.3	Color and drip loss.....	92
2.5.4	Cooking loss, tenderness and sensory analysis	94
2.6	<i>Conclusions and implications</i>	100
2.7	<i>Acknowledgements</i>	100
2.8	<i>References</i>	100
Chapitre 3	Use of electrical stimulation and chilling to enhance heavy lamb meat tenderness	105
3.1	<i>Résumé</i>	106
3.2	<i>Abstracts</i>	106
3.3	<i>Introduction</i>	107
3.4	<i>Materials and methods</i>	109
3.4.1	Treatments and samplings	109
3.4.2	Laboratory analyses	110
3.4.3	Statistical analysis	111
3.5	<i>Results and discussion</i>	112
3.5.1	Carcasses.....	112
3.5.2	Temperature and pH decline	113
3.5.3	Color	116
3.5.4	Cooking loss and tenderness	117
3.5.5	Temperature at pH 6.0.....	122
3.6	<i>Conclusions and implications</i>	124
3.7	<i>Acknowledgements</i>	125
3.8	<i>References</i>	125
Chapitre 4	Assessment of postmortem proteolysis and proteases activity to understand lamb meat tenderness and tenderization.....	131
4.1	<i>Résumé</i>	132
4.2	<i>Abstract</i>	132
4.3	<i>Introduction</i>	133
4.4	<i>Materials and methods</i>	134

4.4.1	Sampling	135
4.4.2	Groups formation.....	135
4.4.3	Meat quality measurements	136
4.4.4	Proteolysis: troponin-T and desmin degradation	137
4.4.5	Proteases: calpains, calpastatin and caspase 3/7 activities	138
4.4.6	Oxydation	140
4.4.7	Statistical analysis	140
4.5	<i>Results</i>	141
4.5.1	Carcass traits and muscle characteristics	141
4.5.2	Proteolysis: troponin-T and desmin degradation	142
4.5.3	Proteases: calpains, calpastatin and caspase 3/7 activities	144
4.5.4	Oxidation	146
4.6	<i>Discussion</i>	146
4.7	<i>Conclusions and implications</i>	154
4.8	<i>Acknowledgements</i>	155
4.9	<i>References</i>	156
	Conclusion générale	165
	<i>Référence</i>	174

Liste des tableaux

TABLEAU 1.1.	CARACTÉRISTIQUES DES FIBRES MUSCULAIRES CHEZ LES MAMMIFÈRES.	10
TABLE 2.1.	DRIP LOSS AND COLOR PARAMETERS OF 48 H POSTMORTEM MEAT FROM NON-STIMULATED (CONTROL; N = 37) AND ELECTRICALLY STIMULATED (ES; N = 37) HEAVY LAMBS CARCASSES	94
TABLE 2.2.	TENDERNESS PARAMETERS OF MEAT FROM NON-STIMULATED (CONTROL; N = 20) AND ELECTRICALLY STIMULATED (ES; N = 19) HEAVY LAMBS CARCASSES AFTER THREE PERIODS OF AGING (1, 3 AND 8 D)	95
TABLE 2.3.	SENSORY ANALYSIS OF LAMB MEAT FROM NON-STIMULATED (CONTROL; N = 17) AND ELECTRICALLY STIMULATED (ES; N = 18) CARCASSES AFTER THREE PERIODS OF AGING (1, 3 AND 8 D)	99
TABLE 3.1.	CARCASS DISTRIBUTION INTO PH-TEMPERATURE GROUPS ACCORDING TO ELECTRICAL STIMULATION (ES) OR NOT (NES) AND NORMAL (NC) OR SLOW (SC) CHILLING	115
TABLE 3.2.	COLOR PARAMETERS OF LAMB <i>LONGISSIMUS THORACIS</i> AGED FOR 3 OR 8 D FOLLOWING ELECTRICAL STIMULATION (ES) OR NOT (NES) AND NORMAL (NC) OR SLOW (SC) CHILLING	119
TABLE 3.3.	TENDERNESS PARAMETERS OF LAMB <i>LONGISSIMUS THORACIS</i> AGED FOR 3 OR 8 D FOLLOWING ELECTRICAL STIMULATION (ES) OR NOT (NES) AND NORMAL (NC) OR SLOW (SC) CHILLING	119
TABLE 4.1.	SHEAR FORCE (KG) AND TENDERIZATION (%) OF THE GROUPS FORMED BASED ON THESE FACTORS	136
TABLE 4.2.	CARCASS TRAITS BETWEEN MEAT GROUPS BASED ON SHEAR FORCE AT 3 D AND TENDERIZATION BETWEEN 3 AND 8 D	141
TABLE 4.3.	MUSCLE CHARACTERISTICS BETWEEN MEAT GROUPS BASED ON SHEAR FORCE AT 3 D AND TENDERIZATION BETWEEN 3 AND 8 D	142
TABLE 4.4.	TROPONIN-T FRAGMENT (TNT 30-32) AND DESMIN PROTEOLYSIS DIFFERENCES BETWEEN MEAT GROUPS BASED ON SHEAR FORCE AT 3D AND TENDERIZATION BETWEEN 3 AND 8 D	143
TABLE 4.5.	CALPAIN, CALPASTATIN AND CASPASE 3/7 ACTIVITIES BETWEEN MEAT GROUPS BASED ON SHEAR FORCE AT 3D AND TENDERIZATION BETWEEN 3 AND 8 D.	145
TABLE 4.6.	LIPID OXIDATION OF LT MUSCLE BETWEEN MEAT GROUPS BASED ON SHEAR FORCE AT 3 D AND TENDERIZATION BETWEEN 3 AND 8 D	146

Liste des figures

FIGURE 1.1.	STRUCTURE D'UN MUSCLE STRIÉ (MARIEB ET LAURENDEAU 1993).....	4
FIGURE 1.2.	NIVEAU D'ORGANISATION DU MUSCLE (A), DE LA FIBRE MUSCULAIRE (B), D'UNE MYOFIBRILLE (C) ET DES MYOFILAMENTS (D). TIRÉE DE SHERWOOD ET AL. (2006)	5
FIGURE 1.3.	STRUCTURE ET COMPOSITION PROTÉIQUE DU CYTOSQUELETTE DES FIBRES MUSCULAIRES (TAYLOR ET AL. 1995A).....	8
FIGURE 1.4.	RÉGÉNÉRATION DU NAD ⁺ EN ANAÉROBIE.....	11
FIGURE 1.5.	FORCE DE CISAILLEMENT DU MUSCLE LONGISSIMUS DORSI CHEZ L'AGNEAU DURANT LA PÉRIODE POSTMORTEM (WHEELER ET KOOHMARAIE 1994).....	13
FIGURE 1.6.	CONTRACTION MUSCULAIRE : SÉQUENCE D'INTERACTIONS ENTRE LES TÊTES DE MYOSINE ET LES FILAMENTS D'ACTINE QUI ENGENDRE LE GLISSEMENT DES FILAMENTS MINCES (MARIEB ET LAURENDEAU 1993)	18
FIGURE 1.7.	ZONES DE SUSCEPTIBILITÉ AUX PHÉNOMÈNES DE « COLD SHORTENING » ET DE « RIGOR SHORTENING » DURANT LE REFROIDISSEMENT DES CARCASSES DE BŒUFS EN TERMES DE PH-TEMPÉRATURE (HONIKEL 2004A).	20
FIGURE 1.8.	RACCOURCISSEMENT MUSCULAIRE (% DE LA LONGUEUR INITIALE) EN FONCTION DE LA TEMPÉRATURE À LAQUELLE SONT PLACÉS LES MUSCLES DURANT LA PÉRIODE PRÉ-RIGOR (LOCKER ET HAGYARD 1963).....	21
FIGURE 1.9.	TENDRETÉ DE MUSCLES EN FONCTION DU DEGRÉ DE CONTRACTION (MARSH ET LEET 1966).	24
FIGURE 1.10.	RELATION ENTRE LA LONGUEUR DES SARCOMÈRES ET LA FORCE DE CISAILLEMENT À 0, 8, 26 ET 72 H DE MATURATION À 15°C POUR DES MUSCLES AYANT ATTEINT LE RIGOR À 18°C (CARRÉS) OU 35°C (CERCLES) (DEVINE ET AL. 2002).	26
FIGURE 1.11.	RELATION ENTRE LA LONGUEUR DES SARCOMÈRES ET LA FORCE DE CISAILLEMENT À 0, 7 OU 14 J DE MATURATION À 4°C POUR DES MUSCLES NON RESTREINTS (CARRÉS) OU RESTREINTS (CERCLES) (DEVINE ET AL. 1999).	27
FIGURE 1.12.	VOIES IMPLIQUÉES LORS DE L'APOPTOSE MYONUCLÉAIRE CHEZ LE MUSCLE SQUELETTIQUE EN ATROPHIE. 1) SIGNAL PROVENANT DE FACTEURS EXTRACELLULAIRES MENANT À L'ACTIVATION DES CASPASES. 2) SIGNAL PROVENANT DU RELÂCHEMENT DU CALCIUM PAR LE RÉTICULUM SARCOPLASMIQUE. 3) SIGNAUX DÉPENDANTS ET INDÉPENDANTS DES CASPASES PROVENANT DE LA MITOCHONDRIE. (BASÉE SUR POWERS ET AL. 2007).....	48
FIGURE 2.1.	TEMPERATURE (A) AND PH DECLINES (B) OF NON-STIMULATED (CONTROL; N = 37) AND ELECTRICALLY STIMULATED (ES; N = 37) HEAVY LAMBS CARCASSES DURING THE POSTMORTEM PERIOD. *P < 0.05.....	93

FIGURE 2.2.	FREQUENCY OF MEAT FROM NON-STIMULATED (CONTROL; N = 20) AND ELECTRICALLY STIMULATED (ES; N = 19) HEAVY LAMBS CARCASSES BELOW AND OVER THE ACCEPTABILITY THRESHOLD OF 5 KG FOR THE THREE PERIODS OF AGING (1, 3 AND 8 D).....	97
FIGURE 3.1.	TEMPERATURE (A) AND PH (B) DECLINE OF LAMB CARCASSES (N = 105) FOLLOWING ELECTRICAL STIMULATION (ES) OR NOT (NES) AND NORMAL (NC) OR SLOW (SC) CHILLING	114
FIGURE 3.2.	RELATIONSHIP BETWEEN WARNER BRATZLER SHEAR FORCE AT 3 D OF AGING AND SARCOMERE LENGTH FOLLOWING ELECTRICAL STIMULATION (ES) OR NOT (NES)	121
FIGURE 3.3.	RELATION BETWEEN TEMPERATURE AT PH 6 AND WARNER BRATZLER SHEAR FORCE AT 3 (A) AND 8 (B) DAYS, SARCOMERE LENGTH (C) AND MYOFIBRILLAR FRAGMENTATION INDEX AT 3 (D) AND 8 (E) DAYS FOLLOWING ELECTRICAL STIMULATION (ES) OR NOT (NES) AND NORMAL (NC) OR SLOW (SC) CHILLING.	123

Remerciements

La rédaction de cette thèse signifie la fin d'une étape importante et déterminante de ma vie professionnelle et personnelle. Ce long cheminement, qui fut parfois joyeux, parfois douloureux, a sans aucun doute façonné le chercheur et la personne que je suis devenu. Rien de tout cela n'aurait été possible sans la précieuse contribution des gens que j'ai côtoyés au cours des dernières années et qui ont pris le temps de me transmettre leur savoir et leur passion. Je profite des quelques lignes qui vont suivre pour leur rendre hommage.

Je tiens d'abord à remercier Dr François Castonguay, qui, à titre de directeur de thèse, a su me transmettre ses valeurs et qualités professionnelles qui furent essentielles à la réussite de mon cheminement. Merci pour ta disponibilité, ta patience et ta passion. Côtoyer un homme généreux, intègre, bienveillant et sincère a été pour moi un privilège et surtout une inspiration. Je sais que la porte de ton bureau sera toujours ouverte et que je pourrai toujours profiter de tes judicieux conseils au besoin. Merci d'avoir contribué à faire de moi l'homme que je suis devenu.

Merci également à mon codirecteur, Dr Claude Gariépy. Ma passion pour cette science est en grande partie née de nos discussions. Merci de toujours être disponible et intéressé lorsqu'il est question de qualité de la viande. Nos discussions sont toujours enrichissantes et surtout, beaucoup plus longues que prévu. Au cours des dernières années, j'ai également eu la chance de découvrir l'homme derrière le chercheur, tout aussi passionné et généreux. Je sais que nous aurons la chance de partager nos passions au cours des années à venir.

Je tiens particulièrement à remercier Mireille Thériault qui a été d'une disponibilité et d'une générosité de tous les instants. Merci pour tes conseils, merci pour ton soutien, merci pour ton aide et surtout merci pour ton écoute quand j'en avais besoin. Je garderai d'excellents souvenirs de nos nombreux séjours en abattoir où tu as su, à quelques reprises, rester calme quand ça n'allait pas à mon goût. Merci pour tout!

Je tiens également à remercier Catherine Avezard pour son soutien lors de certaines analyses de laboratoire. Merci à Jacinthe Fortin, ce fut un plaisir de réaliser les analyses



sensorielles avec une personne aussi passionnée et généreuse. Merci au Dr Nicola Simmons d'avoir accepté d'aider et conseiller un petit gars du Québec dans son projet. Merci au Dr Tim Parr de m'avoir accueilli dans son laboratoire à l'Université de Nottingham. Mon séjour en Angleterre est sans aucun doute une des plus belles périodes de ma vie. Merci au Dr Patrick Cottin de m'avoir accueilli dans son laboratoire à l'Université Bordeaux 1.

Merci à tous les professionnels, à tout le personnel et à tous les étudiants du Département des sciences animales qui ont contribué, de près ou de loin, à mon cheminement. Un merci particulier au Dr François Richard qui a toujours été disponible et accueillant lorsque j'avais des questions. Merci également à tous les professionnels et à tout le personnel du Centre d'expertise en production ovine du Québec (CEPOQ) pour votre participation au premier projet de cette thèse. Merci à Christian Bernier et Marie-Claude Parisé de Sélection BERARC inc. pour votre collaboration, mais surtout pour votre intérêt envers la qualité de la viande. Merci à Carol Bernier et aux employés de l'abattoir Luceville. Votre collaboration et votre gentillesse ont grandement facilité la réalisation de mes projets.

Mille mercis à l'amour de ma vie sans qui je n'y serais peut-être pas arrivé. Merci Elise d'avoir cru en moi. Merci d'avoir été forte dans les moments les plus durs, d'avoir su me faire rire lorsque j'en avais besoin et d'avoir été compréhensive lorsque je n'étais pas présent... physiquement ou mentalement!

Je tiens à remercier Marquis Grenier qui a bien voulu laisser un étudiant de 30 ans lui « voler » sa fille! Sérieusement, merci Marquis et Louiselle de croire en moi.

En terminant, merci à mon père, Rosaire, pour son amour inconditionnel et surtout son amitié qui m'est si précieuse.

Avant-propos

Le chapitre 2 de cette thèse a été publié dans le *Canadian Journal of Animal Science* et j'en suis le premier auteur. Le Dr François Castonguay et le Dr Claude Gariépy ont participé à l'élaboration du dispositif expérimental et à la révision de l'article. Mireille Thériault, alors adjointe de recherche pour François Castonguay, a participé aux différentes phases du projet et a été d'une aide précieuse lors des traitements en abattoir ainsi que pour l'analyse statistique. Catherine Avezard, alors professionnelle de recherche pour le Dr Claude Gariépy, a apporté son savoir-faire lors de la phase d'analyse en laboratoire. Jacinthe Fortin, analyste en évaluation sensorielle à superviser cette phase du projet. La Dr Nicola Simmons a participé à titre de conseillère en lien avec l'application du traitement de stimulation électrique en plus de participer à la révision de l'article.

Pouliot, E., Gariépy, C., Thériault, M., Avezard, C., Fortin, J., Simmons, N. J. and Castonguay, F. W. 2012. Effects of low-voltage electrical stimulation and aging on lamb meat quality. *Can. J. Anim. Sci.* 92: 59-66.

Le chapitre 3 a également été publié dans le *Canadian Journal of Animal Science* et j'en suis le premier auteur. Le Dr François Castonguay et le Dr Claude Gariépy ont participé à l'élaboration du dispositif expérimental et à la révision de l'article. Mireille Thériault, alors adjointe de recherche pour François Castonguay, a participé aux différentes phases du projet.

Pouliot, E., Gariépy, C., Thériault, M. and Castonguay, F. W. 2014. Use of electrical stimulation and chilling to enhance meat tenderness of heavy lambs. *Can. J. Anim. Sci.* 94: 627-637.

Le chapitre 4 présenté dans cette thèse est en cours de révision et j'en suis également le premier auteur. Le Dr François Castonguay et le Dr Claude Gariépy ont participé à l'élaboration du dispositif expérimental et révisent actuellement l'article en question.

Pouliot, E., Gariépy, C. and Castonguay, F. W. 2014. Assessment of postmortem proteolysis and proteases activity to understand lamb meat tenderness and tenderization. En révision.

Introduction

Au Québec, la viande d'agneau est consommée par deux types de consommateurs, soit les consommateurs réguliers, pour qui la consommation de cette viande est ancrée dans leurs mœurs et coutumes, et les consommateurs occasionnels, épicuriens et amateurs de gastronomie. Pour ces derniers, la viande d'agneau est perçue comme un produit « haut de gamme » et sa consommation est reliée au plaisir de la table. Pour ces consommateurs, l'achat de la viande d'agneau entre en compétition avec celle des autres viandes dites « exotiques ». Afin de s'assurer qu'ils choisissent l'agneau plutôt qu'un autre produit, il est primordial que le produit offert soit à la hauteur de leurs attentes.

Le Québec produit annuellement environ 46 % de la viande d'agneau consommée sur son territoire, ce qui laisse une place importante à la concurrence : place occupée par l'Australie et la Nouvelle-Zélande (12 %) ainsi que les autres provinces canadiennes (42 %; MAPAQ 2013). Les coûts de production reliés aux conditions climatiques de l'est du Canada font en sorte qu'il est impossible pour l'industrie ovine québécoise de rivaliser avec ses concurrents en termes de prix. Pour le moment, l'agneau du Québec jouit d'une excellente image auprès des consommateurs, en grande partie due à la jeunesse des agneaux et à leur mode de production (Baba-Khelil et Flis 2013), mais il est important que l'industrie puisse continuer d'améliorer la qualité de son produit pour ne pas perdre de parts de marché. D'un point de vue stratégique, la production d'une viande de qualité supérieure permettrait à l'industrie ovine québécoise de se différencier de la concurrence, de satisfaire les attentes et les papilles des consommateurs et de justifier auprès de ceux-ci le coût plus élevé de la viande produite au Québec.

La Nouvelle-Zélande et l'Australie travaillent sur la qualité de leur produit depuis des années et ils ont mis sur pied des programmes de contrôle qui touchent l'ensemble des pratiques de production afin d'optimiser la qualité de la viande produite pour les différents marchés visés. Ils sont donc en mesure d'offrir un produit de qualité en grande quantité, et ce, à un prix inférieur. Au Canada, différentes initiatives sont également en place afin d'améliorer et garantir la qualité de leur produit, notamment la création de la *Canadian Lamb Producers Cooperative* qui pourrait devenir un concurrent important sur le marché

québécois, eux qui ont reçu 1,4 million \$ du gouvernement fédéral afin de développer un nouveau système de classification. Il est donc essentiel que la recherche soit en mesure de soutenir l'industrie ovine québécoise qui a d'ailleurs identifié depuis plusieurs années la qualité de la carcasse et de la viande comme une priorité (Lévesque et Tremblay 2007; Comité recherche et santé du CEPOQ 2010; Zins Beauchesne et associés 2010).

Parmi tous les facteurs pouvant influencer la qualité organoleptique de la viande d'agneau, ceux reliés aux pratiques postabattage sont reconnus pour être les plus importants, d'abord de par leur niveau d'influence (Sañudo *et al.* 1998), mais aussi en raison de leur position-clé dans la chaîne de production (passage obligé de l'ensemble des agneaux commerciaux et maillon plus facilement contrôlable en raison du petit nombre d'abattoirs comparé au nombre d'éleveurs).

Au Québec, les principaux abattoirs d'agneaux abattent plusieurs espèces. Leurs chambres de refroidissement sont plutôt conçues pour refroidir efficacement les carcasses plus volumineuses de bœufs ou de porcs dans le but d'assurer la qualité microbiologique. Puisque les carcasses d'agneaux sont plus petites, elles disposent d'un plus grand rapport surface/volume qui facilite les échanges thermiques et permet un refroidissement plus rapide. Il est bien connu qu'un refroidissement trop rapide des carcasses d'agneaux pourrait affecter négativement la qualité de la viande, particulièrement la tendreté (Pearson et Young 1989; Honikel 2004).

De plus, la maturation de la viande d'agneau n'est pas une pratique répandue dans l'industrie ovine québécoise pour le moment. Les carcasses sont découpées le jour suivant l'abattage et quittent la plupart du temps pour les comptoirs de vente. Or, la rapidité avec laquelle la majorité de la viande d'agneau du Québec se retrouve disponible pour la vente et la consommation ne lui permet pas d'atteindre son plein potentiel d'attendrissement.

C'est dans ce contexte que le travail a été réalisé. La présente thèse porte sur l'utilisation et la compréhension des traitements postabattage et des événements postmortem afin d'optimiser la qualité de la viande d'agneau lourd produit au Québec, notamment la tendreté.

Chapitre 1 Revue des travaux antérieurs

1.1 Le muscle

En production animale, les muscles squelettiques sont d'une importance majeure. En plus de permettre le maintien de la posture, la locomotion, de contribuer à la thermogénèse et au métabolisme de l'animal, les muscles squelettiques sont une source très importante de protéines en alimentation humaine. Ils composent entre 35 et 60 % de la masse corporelle des animaux d'élevage. Le muscle squelettique est constitué d'environ 70-78% d'eau, 19-25 % de protéines, 1-6 % de lipides, 1-2 % de sucres et 1-2 % de sels minéraux (Pearson et Young 1989; Geay *et al.* 2001).

Le muscle squelettique a la capacité de s'adapter tant sur le plan morphologique, physiologique que métabolique à divers stimuli; un caractère bien décrit par le terme plasticité (Pette 2001). La synthèse et la dégradation protéiques jouent un rôle clé dans ce processus. La complexité de la structure myofibrillaire requiert une régulation rigoureuse du renouvellement protéique afin de préserver l'intégrité musculaire. Selon les conditions auxquelles le muscle est soumis, la plasticité mènera à un gain (hypertrophie) ou à une perte (atrophie) de masse musculaire.

1.1.1 Structure générale

Le muscle squelettique est constitué de milliers de fibres musculaires, unité structurale du muscle, de vaisseaux sanguins qui permettent l'apport et l'élimination des substrats nécessaires au bon fonctionnement des cellules, de cellules nerveuses qui sont responsables de la transmission de l'influx nerveux, d'adipocytes qui servent de réserves énergétiques et de tissus conjonctifs qui jouent un rôle de tissu de soutien et de protection (Bailey et Light 1989; Lawrence et Fowler 2002). En effet, chacune des fibres est entourée de tissu conjonctif appelé endomysium. Une enveloppe plus épaisse de tissu conjonctif regroupe plusieurs fibres afin de former les faisceaux; il s'agit du périmysium (Lawrie 1998). C'est d'ailleurs dans ce tissu que l'on retrouve la majorité des vaisseaux sanguins irriguant le muscle. Les différents faisceaux sont finalement regroupés en muscle par une

gaine encore plus épaisse appelée épimysium. Cette différenciation très hiérarchique et définie entre ces tissus est très utile d'un point de vue didactique afin de décrire la matrice extracellulaire, mais reste, selon certains auteurs, une approche simplifiée (Gillies et Lieber 2011). L'arrangement tridimensionnel de ces tissus et leurs interactions seraient beaucoup plus complexes et de nombreuses questions demeurent sans réponse pour le moment quant à leur nature (Gillies et Lieber 2011). Le muscle est donc constitué d'un agencement de faisceaux qui lui confèrent forme et fonction, tandis que ces derniers sont constitués d'un agencement de fibres (Figure 1.1).

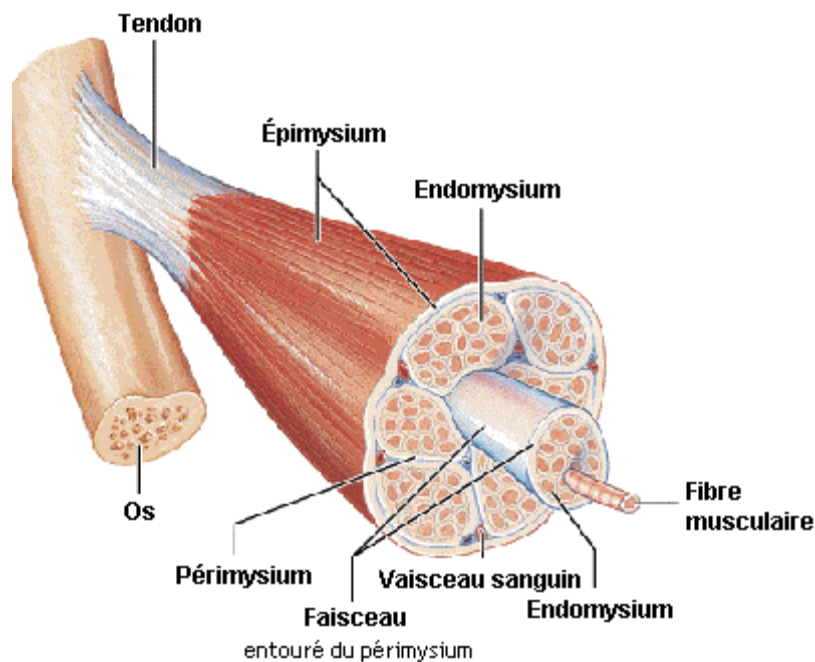


Figure 1.1. Structure d'un muscle strié (Marieb et Laurendeau 1993)

1.1.2 La fibre musculaire

1.1.2.1 Morphologie

La fibre musculaire est l'unité structurale du muscle. Il s'agit d'une cellule très allongée pouvant mesurer quelques centimètres (Pearson et Young 1989). Elle est formée par la fusion de plusieurs cellules lors du développement embryonnaire (Picard *et al.* 2002). Elle possède donc plusieurs noyaux et est dite plurinucléée. Chez ces cellules, le

cytoplasme se nomme sarcoplasme et on y retrouve la myoglobine, une chromoprotéine responsable d'emmagasiner l'oxygène au sein des muscles (Livingston et Brown 1981; Pearson et Young 1989). Des mitochondries sont également présentes de même que le réticulum sarcoplasmique responsable de la régulation calcique. Dans le sarcoplasme on retrouve également des enzymes, des lysosomes, des granules de glycogène et des lipides (Pearson et Young 1989; Dufour et Renou 2002). Par contre, ce qui est particulier chez ces cellules, c'est la présence de milliers de fibrilles organisées de manière très structurée. Les fibres musculaires sont constituées à l'image des faisceaux d'une certaine façon, c'est-à-dire qu'elles regroupent un ensemble de myofibrilles parallèles qui occupe près de 80 % du volume de la fibre (Pearson et Young 1989; Figure 1.2).

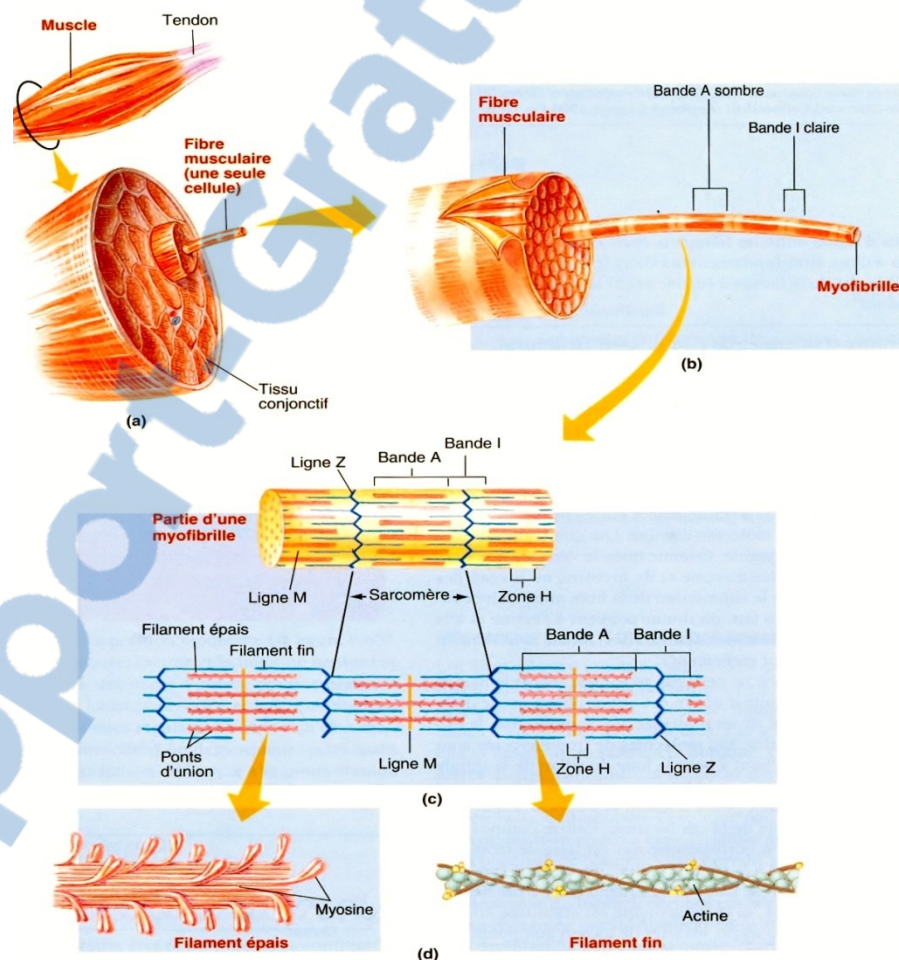


Figure 1.2. Niveau d'organisation du muscle (a), de la fibre musculaire (b), d'une myofibrille (c) et des myofilaments (d). (Sherwood et al. 2006)

La myofibrille est l'élément qui confère aux cellules musculaires leur principale fonction soit la capacité de contraction. Elle est constituée de deux types de myofilaments, soit un dit *épais* et principalement composé de myosine et un dit *mince* et composé d'actine (Figure 1.2). C'est d'ailleurs ces myofilaments qui confèrent l'apparence striée au muscle squelettique. À la surface des myofibrilles, on observe une alternance de bandes sombres aussi nommées bandes A et de bandes claires aussi nommées bandes I. La bande A est composée de filaments d'actine et de myosine, la bande I de filaments d'actine et la zone H (zone claire au centre de la bande A) de myosine (Pearson et Young 1989; Lawrie 1998). Au centre des bandes I on retrouve la ligne Z qui lie les filaments d'actine ensemble. Au centre des bandes A, on retrouve la ligne M où s'attachent les queues de myosine. Les filaments épais se dirigent dans des directions opposées à partir de la ligne-M, et ce, vers la ligne Z. On appelle sarcomère l'unité de la myofibrille comprise entre deux lignes Z. Le sarcomère est formé par la moitié d'une bande I, une bande A et une seconde moitié de bande I. Lorsqu'il y a contraction, les filaments d'actine « glissent » vers le centre des filaments de myosine engendrant un raccourcissement des sarcomères qui se manifeste par des bandes I plus courtes et des bandes A constantes. La myosine et l'actine sont donc les protéines dont l'interaction produit la contraction.

La myosine est une protéine hexamérique composée de deux chaînes lourdes et quatre chaînes légères (deux alcalines et deux de régulation; Pearson et Young 1989). Les chaînes lourdes s'entrelacent en double hélice dans la partie C-terminale pour former la partie fibreuse de la protéine, responsable de la structure en filament. Elles deviennent globulaires dans la partie N-terminale pour former deux têtes. Chacune des têtes est « enveloppée » par deux chaînes légères (une de chaque type) responsables de la régulation de la vitesse de contraction (Pearson et Young 1989). Les têtes ont la capacité d'hydrolyser l'ATP, de se lier à l'actine et de changer de conformation (Pearson et Young 1989). Il existe plusieurs isoformes des chaînes lourdes et légères de myosine et leur assemblage détermine les caractéristiques métabolique et physiologique de la fibre (Pette et Staron 2000). C'est d'ailleurs pour cette raison que la myosine est aujourd'hui un marqueur moléculaire important pour déterminer le type de fibre musculaire (Pette et Staron 2000). L'actine est une protéine globulaire (G-actine) qui se retrouve sous forme polymérisée dans les myofilaments (F-actine) formant ainsi un double filament hélicoïdal (Pearson et Young

1989). Les filaments minces sont formés de l'agencement de ce filament hélicoïdal le complexe de la troponine (TnI qui se lie à l'actine, TnT qui se lie à la tropomyosine et TnC qui se lie au calcium) et la tropomyosine (Pearson et Young 1989; Lawrie 1998). Le complexe de la troponine (I, T et C) et la tropomyosine sont des protéines impliquées dans la régulation calcique de la contraction. Il existe différents isoformes de l'actine qui sont très semblables les uns aux autres ne variant que de quelques acides aminés (Clark *et al.* 2002).

Outre les protéines contractiles, on retrouve d'autres protéines myofibrillaires et du cytosquelette qui assurent le fonctionnement et le maintien de la structure des myofibrilles et de la cellule musculaire (Pearson et Young 1989). En fait, une analyse protéomique des sarcomères a permis d'identifier 65 protéines impliquées dans cette structure (Fraterman *et al.* 2007), nombre qui serait inférieur à la réalité si l'on tient compte des différents isoformes (Huff-Lonergan *et al.* 2010). Pour les besoins de cette revue, il sera brièvement question de la titine, de la nébuline et de la desmine.

La titine, jadis nommée connectine, est la troisième protéine myofibrillaire la plus abondante après la myosine et l'actine. Cette protéine de 3000 kDa, la plus grosse chez les mammifères, s'étend de la ligne Z à la ligne M et participe ainsi au maintien de la structure des myofibrilles (Pearson et Young 1989; Clark *et al.* 2002). Son élasticité est une caractéristique importante afin qu'elle puisse remplir ce rôle, puisque les sarcomères sont amenés à se contracter et s'étirer (Tskhovrebova et Trinick 2010). Elle pourrait aussi jouer un rôle de gabarit au cours développement des myofibrilles, particulièrement dans la formation des filaments épais (Pearson et Young 1989; Clark *et al.* 2002).

Également une protéine géante (~700-900 kDa), la nébuline est ancrée à la ligne Z à une extrémité et elle s'étend sur toute la longueur des filaments minces (Clark *et al.* 2002; Ottenheijm et Granzier 2010). Cette protéine inélastique pourrait bien agir comme gabarit pour les filaments minces et être impliquée dans la détermination de leur longueur (Labeit *et al.* 1991; Clark *et al.* 2002; Ottenheijm et Granzier 2010). Au niveau de la ligne Z, la nébuline interagit avec la desmine et contribue au maintien de l'alignement des lignes Z (Clark *et al.* 2002; Ottenheijm et Granzier 2010). Outre son rôle structural, il a été proposé



qu'elle pourrait avoir un rôle de régulation dans l'interaction actine et myosine (Clark *et al.* 2002).

La desmine est la protéine la plus abondante des filaments intermédiaires (Clark *et al.* 2002; Capetanaki *et al.* 2007). Les filaments intermédiaires ont un rôle structural majeur au sein des fibres musculaires. Ils forment un réseau cytosquelettique qui lie les myofibrilles ensemble au niveau de la ligne Z et qui lie les myofibrilles au sarcolemme, membrane qui enveloppe chaque fibre musculaire, via une structure nommée costamère (Capetanaki *et al.* 2007). De plus, les filaments intermédiaires sont également associés à l'enveloppe nucléaire et aux mitochondries (Capetanaki *et al.* 2007).

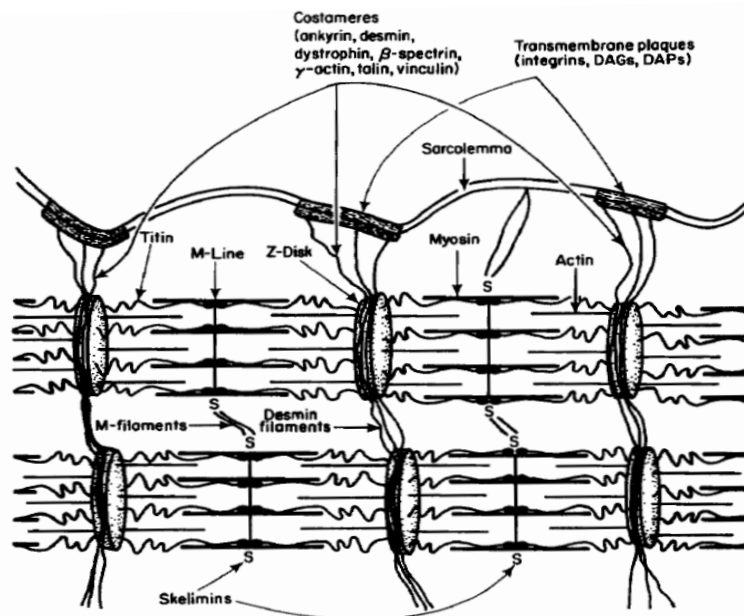


Figure 1.3. Structure et composition protéique du cytosquelette des fibres musculaires (Taylor *et al.* 1995a)

1.1.2.2 Types de fibres musculaires (physiologie et métabolisme)

Les muscles squelettiques sont composés de fibres musculaires qui diffèrent sur le plan physiologique (vitesse de contraction et résistance à la fatigue), morphologique (taille, organites, structure protéique) et métabolique (métabolisme oxydatif et glycolytique). Les fibres musculaires peuvent être classées selon leur vitesse de contraction, l'activité ATPasique, la capacité oxydative et/ou l'isoforme de myosine. Le tableau 1.1 présente les principales caractéristiques des différentes fibres musculaires. Le nombre de fibres

musculaires varie peu après la naissance; c'est la longueur et le diamètre qui augmentent, phénomène nommé hypertrophie (Rehfeldt *et al.* 2004). Il existe également un processus dynamique et réversible qui permet aux fibres de changer de type sous certaines conditions au cours de la vie d'un animal selon une certaine séquence de transition : $I \leftrightarrow IIA \leftrightarrow IIX \leftrightarrow IIB$ (pour revue voir Pette et Staron 1997). Les fibres IIX ne sont pas présentées dans le tableau 1.1, mais essentiellement, elles sont intermédiaires entre les fibres IIA et IIB (Picard *et al.* 2002). Ce type de fibres a été identifié grâce à l'utilisation d'anticorps spécifiques pour les chaînes lourdes de myosine. Chez le porc, les quatre types de fibres sont retrouvés tandis que chez le bœuf et l'agneau on ne retrouve principalement que trois types : I, IIA et IIX (Tanabe *et al.* 1998 : les fibres IIX ont été identifiées comme IIB dans de nombreux articles jusqu'à tout récemment via une approche histochimique classique qui était utilisée pour leur identification et classification).

1.1.2.3 Muscle chez l'ovin

Les muscles sont composés d'une proportion variable des différentes fibres musculaires qui confèrent aux muscles leurs caractéristiques. Par exemple, le *longissimus dorsi* (LD), un des muscles les plus étudié et surtout consommé chez l'agneau, présente des caractéristiques métaboliques et contractiles le classant comme muscle « fast twitch oxidative-glycolytic » (FOG), c'est-à-dire un muscle rouge à contraction rapide présentant un métabolisme à la fois glycolytique et oxydatif (Tableau 1.1). En effet, Suzuki (1971) a observé 49 % de fibres FOG, 40 % de fibres « fast twitch glycolytic » (FG) et 10 % de fibres « slow twitch oxidative » (SO) dans le LD ovin¹ alors que Ouali *et al.* (1988) ont déterminé que ce dernier était composé de 66,7 % de fibres FOG, 20,6 % de FG et 10,0 % de SO. Deux études menées au Québec chez des agneaux de race Dorset ont observé respectivement que la proportion des fibres dans le LD était de 58-65 % FOG, 28-35 % FG et 6-8 % SO (Dragomir 2005) et 52-55 % FOG, 38-40 % FG et 7-9 % SO (Pouliot *et al.* 2009). Malgré une certaine variation qui, au-delà des techniques d'évaluation utilisées, peut s'expliquer par la variation génétique des individus et par la conduite d'élevage, l'ensemble de ces résultats démontre bien la prépondérance des fibres rouges et plus particulièrement

¹ La nomenclature utilisée par l'auteur était αR , αW et βR . Elle a ici été remplacée par FOG, FG et SO afin de faciliter la compréhension du lecteur.

des FOG dans ce muscle chez l'ovin. Des études menées chez l'ovin, mais également chez d'autres espèces, indiquent que les muscles ayant une forte proportion de fibres FOG ont généralement une activité oxydative supérieure aux muscles composés principalement de fibres SO, de même qu'une activité et un bagage enzymatique du métabolisme glycolytique supérieur aux muscles composés de fibres FG (Peter *et al.* 1972; Briand *et al.* 1981a, b).

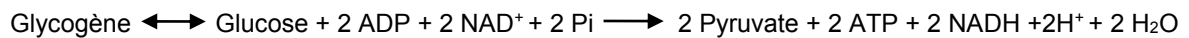
Tableau 1.1. Caractéristiques des fibres musculaires chez les mammifères.

Nomenclature		Type de fibres	
Brooke et Kaiser (1970)	I	IIA	IIB
Ashmore et Doerr (1971)	β R	α R	α W
Peter et al. (1972) ^Z	SO	FOG	FG
Caractéristiques			
Chaîne lourde de myosine	I	Ila	Ilb
Métabolisme	Oxydatif	Oxydo-glycolytique	Glycolytique
Nombre de mitochondries	+++	+++	+
Vitesse de contraction	Lente	Rapide	Rapide
ATP-ase myofibrilaire	+	+++	+++
Réticulum sarcoplasmique	+	+++	+++
Résistance à la fatigue	+++	++	+
Source énergétique	Lipides	Lipides	Sucres
Teneur en lipides	+++	+++	+
Teneur en glycogène	+	+++	+++
Couleur	Rouge	Rouge	Blanche
Myoglobine	+++	+++	+
Aire de section	+	+++	+++
Acidification postmortem	Lente	Lente	Rapide

^ZSO, « Slow oxidative »; FOG, « fast oxido-glycolitic »; FG, «fast glycolitic». Adapté de Lefaucheur (1989)

1.1.3 La transformation du muscle en viande

Suite à l'arrêt de la circulation sanguine lors de la mort de l'animal, l'apport en oxygène aux différents muscles et organes est compromis. Bien qu'un certain métabolisme aérobie puisse perdurer pour les muscles en contact avec l'air à la surface des carcasses, c'est plutôt le métabolisme anaérobie qui prend le relai pour assurer la production d'énergie pendant un certain temps après la mort de l'animal. L'ATP nécessaire aux cellules musculaires est produite grâce aux réactions faisant intervenir la créatine phosphokinase (CPK), la myokinase ainsi que la glycolyse anaérobie. En ce qui a trait à ces réactions, disons que la myokinase permet de convertir deux ADP en ATP et AMP, tandis que CPK permet la production d'un ATP suite au transfert d'un groupement phosphate de la créatine phosphate (CP) vers un ADP ($CP + ADP + H^+ \leftrightarrow \text{créatine} + ATP$; Pearson et Young 1989). Pour sa part, la glycolyse est une suite de réaction permettant de convertir une molécule de glucose en deux molécules de pyruvate et deux ATP :



Cette réaction est commune aux voies anaérobie et aérobie. Ce qui différencie ces voies, c'est l'ensemble des réactions permettant de régénérer les NAD^+ nécessaires en présence ou en absence d'oxygène. En effet, lorsque la voie anaérobie est empruntée, le pyruvate est réduit en lactate via la lactate déshydrogénase (LDH), ce qui permet de régénérer le NAD^+ (Figure 1.4).

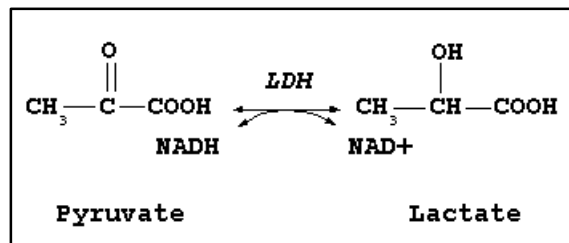


Figure 1.4. Régénération du NAD^+ en anaérobie.

Après une courte période pendant laquelle la CP fournit l'ATP nécessaire, la glycolyse anaérobie prend donc la relève et engendre la production d'acide lactique lors de la régénération du NAD^+ , ce qui, combiné à l'hydrolyse de l'ATP qui produit des ions H^+ , a

pour effet d'abaisser le pH de la viande (Pearson et Young 1989; Ferguson et Gerrard 2014). Au fur et à mesure que le pH chute, certaines enzymes participant au métabolisme anaérobie sont inactivées, notamment la phosphofructokinase qui a récemment été identifiée comme principale responsable de l'arrêt de la glycolyse postmortem (England *et al.* 2014). Le pH final de la viande (ou pH ultime) dépendra des réserves de glycogène et il devrait être de 5,5-5,7 si la chute est normale. Lorsque la glycolyse anaérobie cesse, ou ne permet plus le maintien d'une quantité suffisante d'ATP, le rigor mortis est atteint. À ce stade, la concentration en ATP est trop faible pour permettre la séparation du complexe actomyosine. Les têtes de myosine ne peuvent plus se dissocier des filaments d'actine et le muscle passe d'un état pantelant à un état ferme (rigidité cadavérique). La vitesse de la chute du pH et de l'atteinte du rigor mortis varient en fonction de la typologie des fibres et des réserves énergétiques et par le fait même elles varient entre les muscles, les animaux et les espèces animales (Pearson et Young 1989; Lawrie 1998; Honikel 2004b). Des facteurs externes comme le stress des animaux avant l'abattage et la température de refroidissement des carcasses ont également des impacts importants sur ces processus physiologiques (Pearson et Young 1989; Lawrie 1998).

1.2 La tendreté de la viande : une caractéristique complexe

La transformation du muscle en viande tel que décrit précédemment engendre des changements importants des propriétés physico-chimiques du muscle. Ces changements ont un impact majeur sur la qualité organoleptique de la viande. Parmi les caractéristiques qui définissent la qualité organoleptique de la viande, la tendreté est sans contredit l'un des critères les plus importants pour le consommateur (Touraille 1994; Miller *et al.* 2001; Safari *et al.* 2002). De nombreuses recherches ont été et sont encore aujourd'hui menées afin de mieux comprendre les facteurs impliqués dans le développement de la tendreté. Toutefois, la tendreté s'avère être un paramètre variable d'un animal à l'autre ou d'un muscle à l'autre. De plus, il s'agit d'une caractéristique complexe où différentes structures, systèmes et processus agissent et interagissent afin d'en déterminer la valeur finale.

Les travaux de Wheeler et Koohmaraie (1994) sur la viande ovine ont permis de démontrer qu'entre la mort de l'animal et l'établissement du rigor mortis, il y a une phase de durcissement de la viande. Cette phase de durcissement est ensuite suivie d'une phase d'attendrissement, phase bien connue qui survient durant la période de maturation (Figure 1.5).

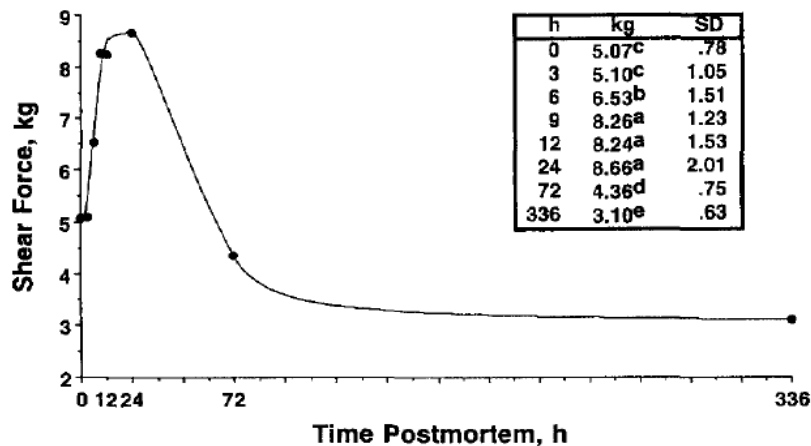


Figure 1.5. Force de cisaillement (shear force) du muscle *longissimus dorsi* chez l'agneau durant la période postmortem (Wheeler et Koohmaraie 1994).

Différents phénomènes sont responsables de ces changements de tendreté et la tendreté finale de la viande dépend principalement de trois facteurs : la dureté de base causée par le tissu conjonctif formé principalement de collagène, l'état de contraction au rigor mortis et l'attendrissement que la viande subira pendant la période de maturation (Koohmaraie et Geesink 2006).

1.2.1 Dureté de base et collagène

La dureté de base, souvent désignée par l'expression anglaise « background toughness », désigne la fermeté intrinsèque d'un muscle et est attribuable au tissu conjonctif qui le compose (Marsh et Leet 1966). Il est généralement admis que cette dureté n'est ni influencée par les événements entourant l'abattage ni par la période de maturation, d'où son appellation « background toughness ». Le tissu conjonctif est principalement composé de collagène, une protéine fibreuse qui représente environ 80 % du poids du tissu

conjonctif ou 25-30 % de la teneur totale des protéines chez les mammifères (Bailey et Light 1989). Il est également composé d'élastine et de protéoglycanes (Nishimura 2010; Gillies et Lieber 2011). Puisque le collagène est la protéine la plus abondante du tissu conjonctif, de nombreuses études ont porté sur l'impact de sa teneur et de sa solubilité à la chaleur sur la tendreté de la viande.

Il a été rapporté que la concentration du collagène est plus importante chez les muscles les moins tendres (Dransfield 1977; Light *et al.* 1985; Harris *et al.* 1992). Selon Dransfield (1977), la quantité de collagène totale peut, dans certains cas, expliquer jusqu'à 45 % de la variation de la dureté. Par contre, d'autres études n'en sont pas venues à la même conclusion, observant plutôt une très faible relation entre la force de cisaillement² et la teneur en collagène (Okeudo et Moss 2005), voire même une absence de relation entre le collagène et la tendreté mesurée par un panel de dégustation ou par la force de cisaillement (Maher *et al.* 2005). Les résultats de certaines études suggèrent que la concentration en collagène serait corrélée négativement avec la tendreté déterminée par un panel de dégustation tandis que la solubilité serait plutôt négativement corrélée avec la force de cisaillement (Seideman 1986; Young et Braggins 1993).

Il est reconnu que le collagène établit des liaisons intra et intermoléculaire, ce qui lui confère une plus grande stabilité à la chaleur et le rend plus solide (Bailey et Light 1989). Une bonne partie de ces liaisons sont bivalentes et réductibles, c'est-à-dire que sous des conditions favorables de température ou de pH, les liaisons se brisent et le collagène se solubilise. À mesure que l'animal vieillit, les molécules de collagène forment des liaisons plus stables et plus fortes et deviennent de moins en moins solubles (Cross *et al.* 1984; Young et Dobbie 1994). Cette force et cette stabilité passent par la formation de liaisons multivalentes en remplacement d'une partie des liaisons bivalentes. Le collagène perd alors de sa solubilité. Light *et al.* (1985) ont observé que les ratios entre les liaisons stables et instables de l'épymysium, du pérимysium et de l'endomysium étaient de deux à quatre fois plus élevés pour des muscles durs comparativement aux muscles tendres. La température de transition du tissu conjonctif augmente avec l'âge des animaux chez plusieurs muscles tout

² Mesure objective de la tendreté prise à l'aide d'un texturomètre qui correspond à la force maximale nécessaire pour couper un bâtonnet de viande de dimension prédéfinie.

comme la force de cisaillement (King 1987). Dans leur livre sur le collagène, Allen J. Bailey et Nicolas Light (1989) en viennent à identifier la proportion de liaisons stables comme étant le facteur majeur en ce qui a trait à la dureté de la viande. Les liaisons stables à la chaleur sont retrouvées en moindre concentration chez les jeunes animaux abattus pour leur viande, mais augmentent en pourcentage du collagène total chez les animaux plus âgés (Bailey et Light 1989; McCormick 1994).

Bien qu'il soit reconnu par les scientifiques que les animaux matures produisent généralement une viande plus dure et que leurs muscles contiennent une plus grande proportion de collagène stable à la chaleur, les évidences de l'impact du collagène sur la tendreté de la viande sont pour la plupart contextuelles. Suite à leur revue de la littérature sur le sujet, certains auteurs soulignent d'ailleurs qu'il y a peu d'études démontrant une corrélation entre la tendreté de la viande cuite et la concentration et la solubilité à la chaleur du tissu conjonctif (Purslow 2005; Nishimura 2010). Pour eux, d'autres facteurs reliés au tissu conjonctif viendraient expliquer ce manque de corrélation et renforcer l'importance de ce tissu pour la tendreté de la viande. La taille et l'architecture tridimensionnelle du tissu conjonctif auraient une influence sur la tendreté (Rowe 1981; Nishimura 2010). De plus, le développement du tissu adipeux, notamment le persillage, qui se développe au niveau du périmysium et de l'endomysium viendrait fragiliser ces tissus et contribuerait ainsi à la tendreté de la viande (Nishimura 2010). Il a aussi été souligné par certains auteurs que contrairement à ce qui est généralement admis, le tissu conjonctif subit des modifications durant la maturation de la viande (Nishimura 2010; Purslow *et al.* 2012). La solubilité du collagène du périmysium de huit muscles de bœuf s'est avérée être supérieure lorsque ces derniers étaient maturés durant 14 jours (Stanton et Light 1987). Certaines enzymes, dont les cathepsines (Stanton et Light 1988) et les métalloprotéinases (Sylvestre *et al.* 2002) engendreraient cette dégradation du collagène. Même si la dégradation du tissu conjonctif mène à sa fragilisation chez le muscle non cuit, elle ne semble toutefois pas avoir d'effet sur la tendreté de la viande une fois cuite (Lewis *et al.* 1991; Nishimura 2010; Purslow *et al.* 2012). Dans ce contexte, il semble donc que la dégradation postmortem du collagène ne soit pas un facteur de première importance.

1.2.2 Contraction musculaire lors de l'établissement du rigor mortis

Le second facteur d'importance qui a une incidence sur la tendreté est l'état de contraction au rigor mortis (Koohmaraie et Geesink 2006). Les rétrécissements (latéral et longitudinal) que subit le muscle au cours de cette période peuvent influencer la tendreté de la viande telle qu'observée par Wheeler et Koohmaraie (1994). Dans la section qui suit, il sera question des phénomènes impliqués et de leur incidence sur la tendreté de la viande.

1.2.2.1 Rétrécissement latéral

Suite à la mort de l'animal, le muscle subit une série de changements qui influenceront ses propriétés en tant que viande. Durant la période pré-rigor, le pH chute et se rapproche du point isoélectrique des protéines myofibrillaires, c'est-à-dire le pH auquel les charges au niveau des protéines sont minimales (Hamm 1986). Cette diminution des répulsions électrostatiques favorise le rapprochement des filaments (Rome 1967; Wismer-Pedersen 1971; April *et al.* 1972). Les travaux de Offer et Trinick (1983) ont d'ailleurs bien démontré cette capacité de gonflement et rétrécissement latéral des myofibrilles. L'espace entre les filaments ne diminuerait que légèrement dans les premières heures postmortem, mais cet espace serait de 4,4 % plus petit au rigor mortis, ce qui se traduirait par une diminution du volume d'une myofibrille de 9 % (Offer *et al.* 1989). Tel que mentionné précédemment, cette diminution d'espace entre les filaments résulterait en partie de la baisse du pH, mais aussi en partie de l'attachement des têtes de myosine aux molécules d'actine à ce stade (Matsubara *et al.* 1984; Offer et Knight 1988). Il a été démontré que durant la période postmortem, le diamètre des fibres diminue et que l'espace extracellulaire augmente jusqu'à l'atteinte du rigor mortis (Heffron et Hegarty 1974; Offer et Cousins 1992). À partir des recherches disponibles, certains auteurs ont estimé que le volume extramyofibrillaire augmentait de 1,6 fois par rapport au volume pré-rigor (Bendall 1972) et que cette augmentation était causée par la sortie des fluides vers le sarcoplasme suite à ce rétrécissement latéral (Penny 1977). D'autres études ont aussi démontré une augmentation de l'espace extracellulaire durant le développement du rigor mortis (Currie et Wolfe 1980, 1983). De leur côté, Offer *et al.* (1992) ont rapporté qu'un premier espace se créait entre 4-6 h postmortem entre les faisceaux de fibres et le périnysium, tandis qu'à 24 h postmortem

un second espace était formé entre les fibres et l'endomysium. Selon eux, ces compartiments résulteraient du rétrécissement des fibres musculaires. La dénaturation des têtes de myosine durant le développement du rigor lorsque le pH chute et que la température demeure élevée viendrait aussi contribuer à la diminution de la distance entre les filaments minces et épais (Penny 1977; Offer 1991). Outre ce phénomène de rétrécissement latéral, il se produit également un phénomène de contraction longitudinale des myofibrilles durant le développement du rigor mortis.

1.2.2.2 Principe général de la contraction

La contraction musculaire est la résultante du glissement des filaments minces sur les filaments épais en réponse aux cycles d'interaction/dissociation entre les têtes de myosine et les filaments d'actine. Pour que ces cycles et glissements se produisent, une cascade d'événements doit avoir lieu et deux éléments doivent essentiellement être présents au sein de la fibre musculaire : le calcium et l'ATP (Marieb et Laurendeau 1993). Le calcium, relâché par le réticulum sarcoplasmique, se lie à la troponine (TnC) et induit un changement de conformation du complexe troponine qui déplace par le fait même la tropomyosine. Cette dernière n'est plus en position pour masquer le site de liaison de la myosine sur le filament d'actine. Les têtes de myosine couplées à une molécule d'ADP et de phosphate inorganique (Pi), suite à l'hydrolyse d'une molécule d'ATP par la myosine, peuvent alors se lier à l'actine. Suite à la liaison à l'actine, l'ADP et le Pi se dissocient de la myosine ce qui induit un changement de conformation et l'angle entre la tête et le corps de la myosine passe de 90° à 45°, ce qui provoque un glissement des filaments d'actine vers le centre du sarcomère (Lymn et Taylor 1971). Lorsqu'une nouvelle molécule d'ATP se lie à la myosine, le complexe actine-myosine se dissocie et le cycle peut recommencer (Figure 1.6). Chez l'animal vivant, l'ATP est présente (créatine phosphate et ATP) et peut être synthétisée par les voies aérobies et anaérobies en utilisant le glycogène ou les lipides comme substrats. La libération du calcium est quant à elle déclenchée par un influx nerveux et la cascade qui en découle.

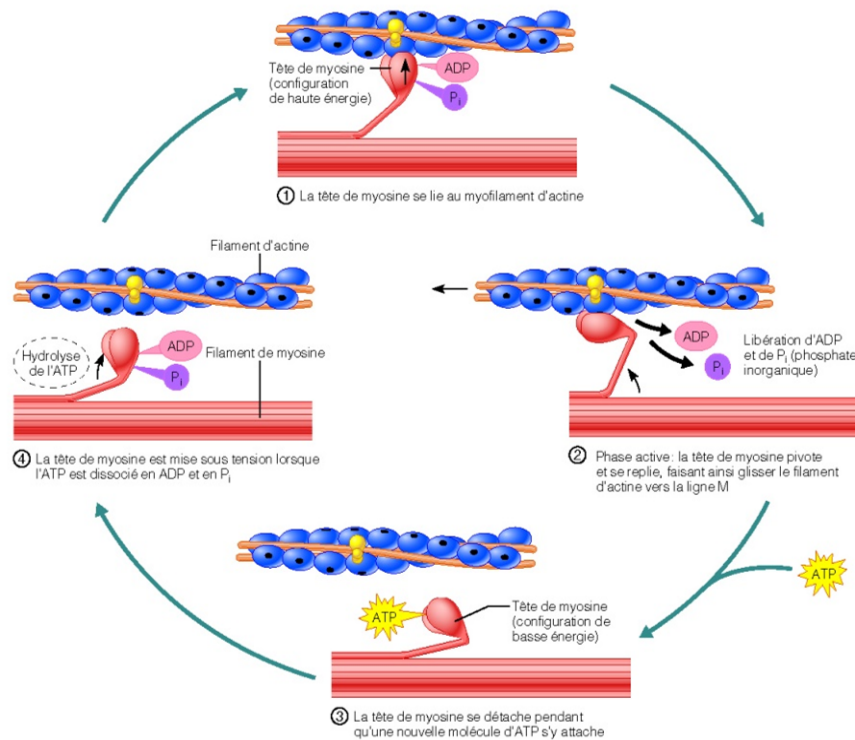


Figure 1.6. Contraction musculaire : séquence d'interactions entre les têtes de myosine et les filaments d'actine qui engendre le glissement des filaments minces (Marieb et Laurendeau 1993)

1.2.2.3 Période postmortem et contraction : disponibilité de l'ATP et du Ca^{2+}

Suite à la mort de l'animal, ce phénomène de contraction survient également de manière plus ou moins importante selon le synchronisme entre la libération du calcium et l'épuisement des réserves énergétiques. Les réserves d'ATP et de créatine phosphate sont rapidement utilisées suivant la mort de l'animal (Honikel 2004b). La synthèse de novo de l'ATP est essentiellement assurée par la glycolyse anaérobie puisqu'il n'y a plus d'apport en oxygène. La disponibilité de l'ATP au sein du muscle pendant la période postmortem dépendra donc des réserves en glycogène, de la vitesse du métabolisme anaérobie et celle de l'utilisation de l'ATP au sein du muscle. Pour sa part, la concentration sarcoplasmique de calcium augmente durant la période postmortem. Elle passe de ~ 100 nM au repos à plus de $16 \mu\text{M}$ 40 minutes postmortem pour atteindre un maximum de $\sim 210 \mu\text{M}$ trois ou quatre jours postmortem chez le porc et le bœuf (Ji et Takahashi 2006). Chez l'agneau, des valeurs de $120\text{-}230 \mu\text{M}$ ont été mesurées à sept jours postmortem (Geesink *et al.* 2001b). Cette augmentation est due au relâchement du calcium par les mitochondries et le réticulum

sarcoplasmique suite à l'exposition aux conditions postmortem et à la capacité/incapacité du réticulum sarcoplasmique à récupérer le calcium relâché. Le relâchement du calcium durant la période postmortem (anaérobie) est en grande partie influencé par la température, le pH et la concentration en ATP des muscles (Whiting 1980; Locker 1985). La présence simultanée de calcium et d'ATP crée les conditions nécessaires à la contraction musculaire. Trois phénomènes de contraction sont susceptibles de se produire durant la période pré-rigor selon la cause de la présence simultanée de Ca^{2+} et d'ATP : le « cold shortening », le « rigor shortening » (ou « heat shortening ») et le « thaw shortening ».

Il semble que sous de basses températures et en condition d'anoxie, les mitochondries et le réticulum sarcoplasmique relâchent plus de calcium que le réticulum ne peut en récupérer (Locker 1985). En fait, la capacité du réticulum sarcoplasmique à récupérer le calcium grâce à un transporteur membranaire ATP-dépendant, le Ca^{2+} -ATPase, est réduite sous de basses températures comme la plupart des réactions biochimiques (Locker 1985; Honikel 2004a), tandis que les mitochondries relâchent une quantité substantielle de calcium sous ces conditions. Ce phénomène est particulièrement important chez les muscles rouges (prédominance de fibres FOG et SO) puisqu'ils contiennent une quantité importante de mitochondries (« réservoir » de calcium) comparativement au réticulum sarcoplasmique (« réservoir » et pompe), ce qui contribue au déversement important de calcium dans le sarcoplasme avec une capacité restreinte de récupération (Pearson et Dutson 1985). Lorsque le refroidissement des carcasses est très rapide, ce relâchement du calcium se produit à un moment où les réserves énergétiques sont toujours importantes, ce qui favorise les contractions et le raccourcissement musculaire : phénomène connu sous le nom « cold shortening ». Les muscles de l'espèce ovine sont particulièrement sensibles à ce phénomène de « cold shortening » en raison de la proportion très élevée des fibres oxydatives (FOG et SO) composant ces muscles (Pearson et Young 1989).

Un relâchement important du calcium peut également survenir lorsque la température pré-rigor est élevée, phénomène connu sous le nom « rigor shortening » (ou « heat shortening »). Dans ce cas, l'accumulation sarcoplasmique du calcium résulterait d'une diminution de la capacité du réticulum sarcoplasmique et des mitochondries à séquestrer et récupérer le calcium suite à une diminution du pH et/ou de la concentration en

ATP (Whiting 1980; Honikel *et al.* 1983; Hertzman *et al.* 1993). Le « rigor shortening » surviendrait lorsque le pH est en deçà de 6,3 et que la température est supérieure à 25 °C, et il serait plus important en fonction de l'augmentation de la température (Locker et Hagyard 1963; Honikel *et al.* 1983; Hertzman *et al.* 1993). À titre informatif, la figure 1.7 présente les zones de susceptibilité aux phénomènes de « cold » et de « rigor shortening » en termes de pH-température.

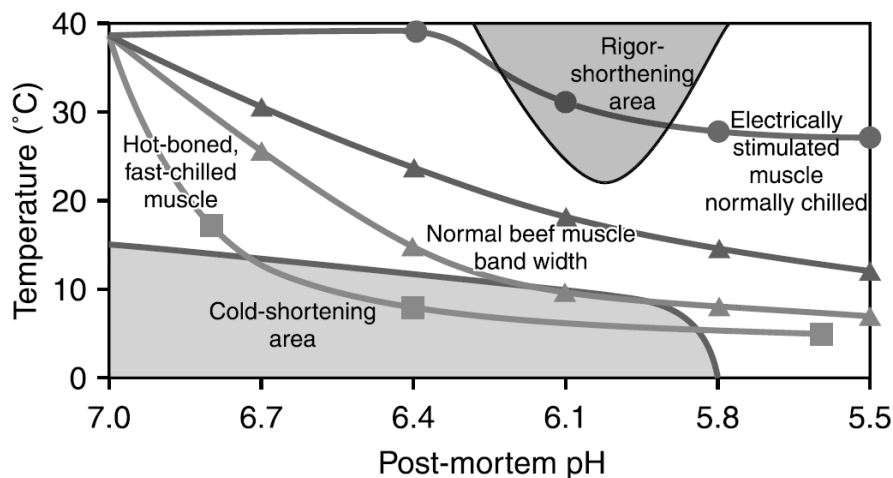


Figure 1.7. Zones de susceptibilité aux phénomènes de « cold shortening » et de « rigor shortening » durant le refroidissement des carcasses de bœufs en termes de pH-température (Honikel 2004a).

Le troisième phénomène qui est susceptible de causer une libération substantielle du calcium à un moment où il y a suffisamment d'ATP pour causer des contractions est connu sous le nom de « thaw shortening ». Le « thaw shortening » ou raccourcissement à la décongélation est un phénomène qui a historiquement été découvert chez la baleine et qui a également été mis en évidence chez l'agneau (Locker 1985). Il se produit lorsque la viande est congelée rapidement durant la période pré-rigor à un moment où les réserves d'ATP sont toujours importantes. Lors de la décongélation, la capacité de séquestration et de récupération du calcium par les mitochondries et le réticulum sarcoplasmique est grandement diminuée puisque ces organelles ont été endommagées par le traitement de congélation et décongélation (Locker 1985). Puisqu'il y a toujours suffisamment d'énergie, les muscles risquent de se contracter. En fait, il a été démontré qu'une faible concentration d'ATP au sein du muscle peut engendrer une contraction notable lors de la décongélation

(Davey et Gilbert 1976). Dans un tel contexte, il est donc clair que les conditions postabattages sont susceptibles d'engendrer de la contraction musculaire de plusieurs manières.

1.2.2.4 Impact de la température sur l'étendue de la contraction musculaire

Le degré de contraction ou raccourcissement musculaire est différent selon la nature du phénomène causant ledit raccourcissement et dépendra donc en partie de la température pré-rigor. Les travaux de Locker et Hagyard (1963) sur des muscles excisés libres de contracter ont montré que le raccourcissement musculaire est minimal lorsque le muscle est maintenu entre 14 et 19 °C (~10 %), que le raccourcissement dû au froid peut atteindre 50 % lorsque le muscle est gardé sous les 14 °C durant la période pré-rigor et que le raccourcissement au rigor peut atteindre 30 % entre 20 et 40 °C (Figure 1.8).

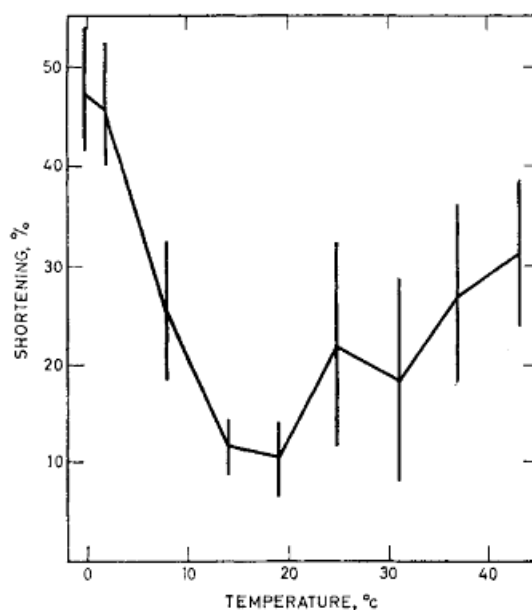


Figure 1.8. Raccourcissement musculaire (% de la longueur initiale) en fonction de la température à laquelle sont placés les muscles durant la période pré-rigor (Locker et Hagyard 1963).

La tension générée par le « cold shortening » est supérieure à la tension générée lors du « rigor shortening » à 37 °C, mais inférieure à la tension causée par le « thaw shortening » (Locker 1985). Dans leur étude sur le « thaw shortening » chez l'agneau,

Davey et Gilbert (1976) ont observé que le degré de contraction peut atteindre plus de 55 % lorsque le muscle est congelé rapidement après la mort de l'animal. Toutefois, il importe de mentionner qu'il a été rapporté que le degré de contraction musculaire est variable d'un animal à l'autre pour les mêmes muscles soumis aux mêmes conditions (Locker et Hagyard 1963). L'étude de Marsh et Leet (1966) sur le « cold shortening » a démontré que le degré de contraction dépendait du moment auquel les muscles étaient soumis aux températures froides. Ils ont observé que le degré de contraction diminue à mesure que le début d'exposition se rapproche du rigor mortis, en raison de la diminution de la disponibilité de l'ATP nécessaire aux contractions (Marsh et Leet 1966). Lorsque le pH est utilisé comme indicateur de l'épuisement des réserves énergétiques, il est généralement reconnu que le risque de « cold shortening » est faible lorsque le pH 6,0 est atteint avant que la température de la carcasse descende sous les 10 °C (Devine *et al.* 2004; Simmons *et al.* 2008).

En utilisant des sections de muscles *LD* maintenues à différentes températures jusqu'à l'atteinte du rigor (15, 20, 25, 30, 35 °C), Devine *et al.* (1999) ont observé une augmentation du raccourcissement musculaire ainsi qu'une augmentation de la tension isométrique avec l'augmentation de la température au rigor qui était plus importante à 35 °C qu'aux autres températures. Dans une seconde étude, ils ont rapporté que les sarcomères étaient plus courts lorsque le rigor était atteint à 35 °C comparativement à 18 °C (Devine *et al.* 2002). Il est clair que le muscle a la capacité de se contracter durant la période pré-rigor. Cette contraction dépendra grandement des conditions auxquelles sont soumises les carcasses, de même que la méthode de suspension qui impose une tension à différents muscles. D'ailleurs, il importe de noter que les études sur la contraction musculaire durant la période pré-rigor citées précédemment ont pour la plupart utilisé des muscles excisés. L'attachement naturel des muscles au squelette impose une restriction qui fait en sorte que le raccourcissement peut être moins important pour les muscles sur la carcasse (Herring *et al.* 1965), bien qu'il y ait bel et bien un raccourcissement (Wheeler et Koohmaraie 1994). Mais quel est l'impact de la contraction musculaire sur la tendreté de la viande?

1.2.2.5 Influence de la contraction sur la tendreté

Les premières évidences d'un impact de la contraction musculaire sur la tendreté de la viande remontent aux années 60. L'étude de Locker (1960) a démontré que les muscles *psoas* majeur et mineur, normalement reconnus pour leur tendreté, étaient jugés durs par un panel de dégustation lorsqu'une extrémité des muscles était détachée de la carcasse pendant la phase pré-rigor, ce qui produisait un raccourcissement du muscle de 20-30 %. D'autres études ont également observé un lien entre le degré de contraction et la dureté de la viande en utilisant ce type d'expériences où des muscles laissés libres de contracter sont comparés à d'autres restreints naturellement par le squelette ou restreint mécaniquement (Herring *et al.* 1965; Marsh et Leet 1966; Herring *et al.* 1967). Dans leur étude classique, Marsh et Leet (1966) ont observé que la tendreté n'était pas affectée par un raccourcissement musculaire allant jusqu'à 20 % de la longueur initiale du muscle, après quoi la tendreté diminuait jusqu'à ce que le raccourcissement atteigne 40 %, puis la tendreté augmentait de nouveau sous de plus hauts degrés de contraction. Marsh et Carse (1974) ont proposé que l'augmentation de la dureté de la viande selon le degré de contraction du muscle serait causée par le chevauchement plus important entre les filaments minces et épais lorsque les sarcomères sont courts. Basés sur cette théorie, ils ont émis l'hypothèse que le retour de la tendreté des muscles très contractés (au-delà de 40 %) serait le résultat des dommages structuraux dus à la contraction excessive (Marsh *et al.* 1974). L'étude de Marsh et Leet (1966) est abondamment citée afin de démontrer la relation entre le raccourcissement et la tendreté. Toutefois, il est intéressant de noter, lorsqu'on regarde de plus près les données, que pour une même strate de contraction, par exemple 25-35 %, la variation des forces de cisaillement est très importante, soit trois fois la valeur minimale (Figure 1.9).

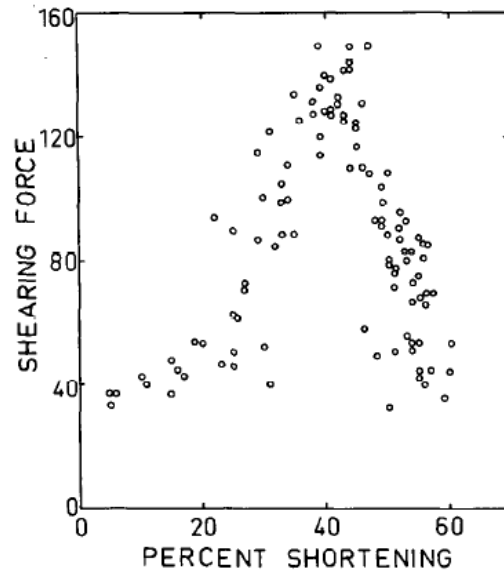


Figure 1.9. Force de cisaillement (shearing force) en fonction du degré de contraction (percent shortening; Marsh et Leet 1966).

1.2.2.6 Longueur des sarcomères et tendreté

À l'échelle microscopique, la contraction musculaire se mesure par la longueur des sarcomères, unité fonctionnelle de la contraction. En utilisant un dispositif permettant de contrôler la contraction et l'étirement de muscles bovins excisés et soumis au phénomène de « cold shortening », Herring *et al.* (1967) ont observé une relation curvilinéaire entre la longueur des sarcomères et la force de cisaillement. Cette dernière diminuait suivant l'augmentation de la longueur des sarcomères entre 1,5 μm et 2,0 μm avant d'atteindre un plateau pour les longueurs supérieures à 2,0 μm . Les études portant sur des muscles excisés ont démontré que la contraction musculaire et la diminution de la longueur des sarcomères engendrent une augmentation de la force de cisaillement (Herring *et al.* 1965; Bouton *et al.* 1972; Wheeler et Koohmaraie 1994). Il a également été démontré que la méthode de suspension des carcasses influence la longueur des sarcomères ainsi que la tendreté de certains muscles (Hostetler *et al.* 1972). L'utilisation d'une méthode alternative de suspension par l'os pelvien plutôt que par le tendon d'Achille permet d'obtenir une viande plus tendre pour les muscles tendus par cette méthode aussi bien chez le bœuf que l'ovin (Hostetler *et al.* 1972; Thompson *et al.* 2005; Ahnström *et al.* 2012). Les sarcomères de ces muscles sont plus longs comparativement aux mêmes muscles provenant de carcasses

suspendues par le tendon d'Achille (Hostetler *et al.* 1972; Sørheim *et al.* 2001; Ahnström *et al.* 2012). L'Australie a récemment développé une technologie nommée SmartStretch™ pour maintenir les muscles étirés suite au désossage à chaud des carcasses bovines et ovines qui permet de prévenir le raccourcissement et même d'obtenir de plus long sarcomères comparativement aux muscles non restreints, ce qui se traduit par une viande plus tendre (Taylor *et al.* 2012; Toohey *et al.* 2012a; Toohey *et al.* 2012c, b, 2013). Il est aussi reconnu que le « cold shortening » est un phénomène qui engendre une contraction musculaire et un raccourcissement des sarcomères causant un durcissement de la viande et que ce phénomène est particulièrement important pour les carcasses d'agneaux (Chrystall et Devine 1985; Pearson et Young 1989).

Pourtant, malgré « l'acceptation générale » que des sarcomères plus courts produisent une viande plus dure, certains résultats d'études sont beaucoup moins clairs et soulèvent certaines questions. Smulder *et al.* (1990) ont observé de fortes corrélations entre la longueur des sarcomères et la tendreté mesurée par un panel de dégustation ($r = 0.84$) ou par la force de cisaillement ($r > -0.76$) lorsque le pH à 3 h postmortem est élevé ($\text{pH} > 6.33$), mais aucune lorsque le pH est plus bas ($\text{pH} < 6.27$). En se basant sur ces résultats, ils ont conclu qu'il existait une relation entre la longueur des sarcomères et la tendreté lorsque la glycolyse postmortem est lente. Toutefois, il importe de noter qu'ils ont utilisé la stimulation électrique (ES), et fait varier plusieurs paramètres (temps, voltage, durée), afin d'induire différentes vitesses de glycolyse. De plus, le groupe dit de glycolyse lente était en partie composé de carcasses n'ayant pas reçu de ES ou dont la ES ne semble pas avoir été efficace (en se basant sur le pH après stimulation), tandis que le groupe de glycolyse rapide était composé de carcasses stimulées. Dans ce contexte, les résultats peuvent indiquer que la relation entre la longueur des sarcomères et la tendreté est présente lorsque le pH 3 h $> 6,3$ et/ou qu'il n'y a pas de ES. La ES pourrait donc avoir eu un effet autre (physique, protéolyse) qui surpasserait l'effet de la longueur des sarcomères.

Pour leur part, Devine *et al.* (2002) n'ont pas observé de relation entre la longueur des sarcomères et la force de cisaillement après 0, 8, 26 et 72 h de maturation à 15 °C malgré une bonne variation de la longueur des sarcomères entre des muscles ovins ayant atteint le rigor à 18 ou 35 °C (Figure 1.10). Ils avaient pourtant précédemment rapporté

chez le bovin des corrélations entre la longueur des sarcomères et la force de cisaillement sur de la viande non maturée ou maturée 7 ou 14 j à 4 °C (Devine *et al.* 1999).

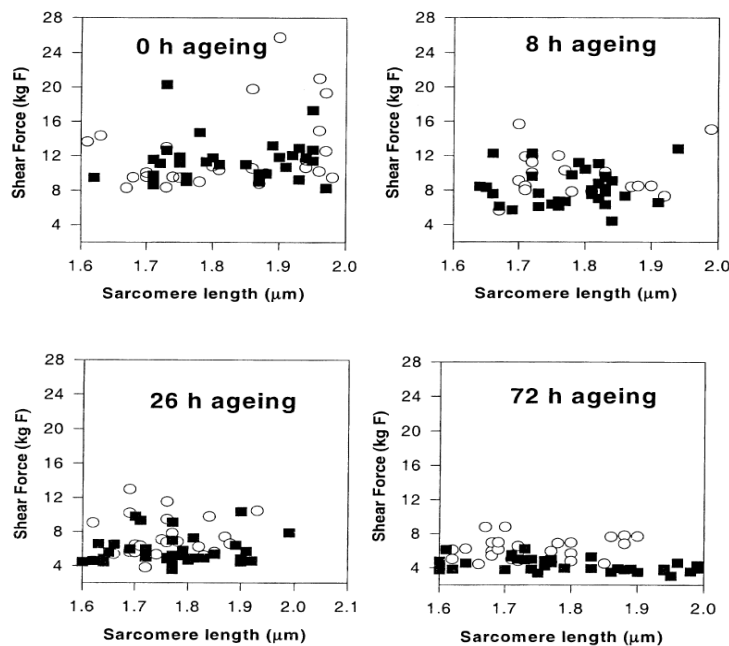


Figure 1.10. Relation entre la longueur des sarcomères (Sarcomere length) et la force de cisaillement (Shear Force) à 0, 8, 26 et 72 h de maturation (ageing) à 15 °C pour des muscles ayant atteint le rigor à 18 °C (carrés) ou 35 °C (cercles) (Devine *et al.* 2002).

Toutefois, même dans cette étude, la longueur des sarcomères ne semblait pas si importante lorsqu'on considère les données du sous-échantillon restreint, et ce, malgré des longueurs de sarcomère variant de 1,6 à 2,4 μm (Figure 1.11). En utilisant les données recueillies sur 261 carcasses d'agneaux, Hopkins *et al.* (2011) ont démontré que l'inclusion de la longueur des sarcomères dans le modèle apportait une réduction de 5 % de la variance de la force de cisaillement à 1 j et seulement 0,6 % à 5 j. Cette dernière étude semble indiquer que la relation entre la longueur des sarcomères et la force de cisaillement n'est pas majeure lorsque les muscles sont laissés intacts sur la carcasse. Smulder *et al.* (1990) arrivent d'ailleurs à la conclusion que « *bien qu'il existe une sorte de relation entre la tendreté et le raccourcissement chez les muscles attachés à la carcasse elle est « bien plus obscure » que dans le cas des muscles excisés* ». Un des facteurs qui pourrait expliquer le manque de cohérence parfois observé entre la longueur des sarcomères et la tendreté est l'hétérogénéité de la contraction des fibres musculaires lors du « cold shortening » (Voyle 1969). Ce

phénomène peut s'expliquer par le fait que les fibres musculaires n'atteignent pas toutes le rigor mortis à la même vitesse, et que conséquemment certaines fibres contracteront tandis que d'autres ne contracteront pas sous les mêmes conditions.

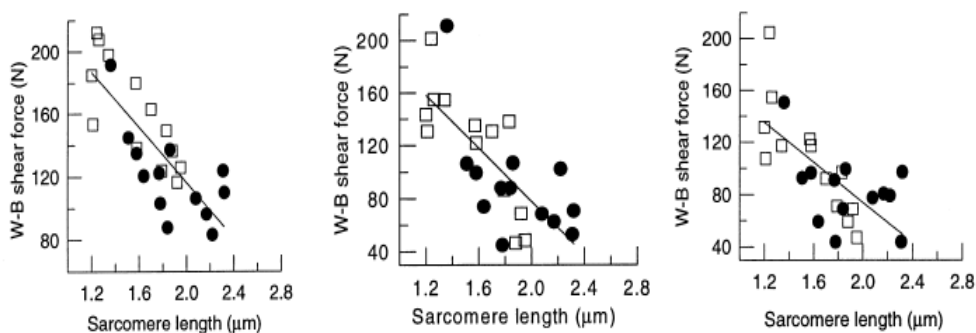


Figure 1.11. Relation entre la longueur des sarcomères et la force de cisaillement à 0, 7 ou 14 j de maturation à 4 °C pour des muscles non restreints (carrés) ou restreints (cercles) (Devine *et al.* 1999).

La formation de zone de contraction et de « rupture » a également été rapportée suite au « cold shortening » (Marsh *et al.* 1974). De plus, dans la grande majorité des dispositifs expérimentaux utilisés, l'effet longueur des sarcomères était associé à la température pré-rigor. Or, il est possible que cette température ait affecté la tendreté au-delà de l'effet sarcomère. Dans leur étude, Devine *et al.* (1999) ont observé une discordance entre l'énergie nécessaire au raccourcissement musculaire et la tension générée. Ils ont attribué cette différence au commencement de la maturation durant la période pré-rigor, qui vient contrer en partie l'effet du raccourcissement pour les températures les plus élevées. Par contre, Hertzman *et al.* (1993) ont observé que l'effet négatif du « rigor shortening » sur la tendreté pour des muscles non restreints ayant atteint le rigor à 37 °C est plus important que l'augmentation potentielle de la protéolyse suivant une augmentation de la température, et ce, même après 15 j de maturation. Geesink *et al.* (2000) ont comparé des sections de muscles conservées à 5, 10, 15, 20, 25, 30 et 35 °C durant la période pré-rigor et ensuite conservées à 2 °C pendant 1 ou 14 j. Ils ont observé que la viande ayant atteint le rigor à 5 °C et > 30 °C était plus dure après 1 j de maturation, mais que seules les pièces ayant atteint le rigor > 30 °C étaient toujours plus dures après 14 j. La longueur des sarcomères n'était différente que pour les pièces ayant atteint le rigor à 35 °C, ce qui semble démontrer que l'effet température froide ou chaude pourrait agir sur un autre facteur que la longueur



des sarcomères; par exemple la protéolyse. D'ailleurs, pour un même degré de contraction, Locker et Daines (1976) ont observé des différences de tendreté du simple ou double selon la température à laquelle la viande était placée durant les derniers instants avant le rigor. En exposant des muscles préalablement soumis au phénomène de « cold shortening » à des températures plus élevées (37 °C) pendant 3 et 7 h juste avant l'atteinte du rigor, ils ont obtenu une viande beaucoup plus tendre que celle provenant de muscles également soumis au même traitement de « cold shortening », mais gardés à 2 °C jusqu'à l'atteinte du rigor, et ce, pour un même raccourcissement (Locker et Daines 1976), suggérant que la contraction à elle seule n'est pas garante du niveau de tendreté ou de dureté de la viande.

Il semble donc exister une relation entre la longueur des sarcomères et la tendreté lorsque les expériences utilisent des muscles excisés et non restreints placés à des températures particulières. Dans ces « modèles », des valeurs extrêmes de longueur des sarcomères sont toutefois utilisées, c'est-à-dire des sarcomères allant de très contractés à très étirés. La relation pourrait être moins importante lorsque les muscles atteignent le rigor mortis en étant naturellement attachés au squelette de la carcasse ou lorsque des valeurs plus « physiologiques » sont comparées. La température pourrait également avoir un effet important, indépendant ou non de la longueur des sarcomères et surtout difficilement dissociable. Selon Locker (1985), la longueur des sarcomères prise seule ne peut être garante de la tendreté.

1.2.2.7 Longueur des sarcomères et protéolyse

Outre un effet physique direct de la longueur des sarcomères sur la tendreté de la viande, un effet indirect a également été proposé et investigué. Des chercheurs se sont intéressés à la possibilité que des sarcomères plus longs puissent favoriser la protéolyse en rendant la structure plus accessible aux protéases, notamment les calpaïnes (Wheeler et Koohmaraie 1999; Sullivan *et al.* 2006; White *et al.* 2006; Weaver *et al.* 2008, 2009; England *et al.* 2012). White *et al.* (2006) ont soumis des muscles de bovins désossés à chaud à des températures de 5 ou 15 °C pendant 8 h après quoi les muscles étaient emballés sous vide et conservés à 2 °C pendant 21 j. Les sarcomères étaient plus courts pour les muscles soumis à 5 °C pendant 8 h, ce qui indique que le traitement a permis d'induire le

« cold shortening ». Les muscles à 5 °C se sont avérés plus durs durant les 14 premiers jours de maturation, mais la tendreté finale à 21 j était similaire à celle des muscles traités à 15 °C. En se basant sur la présence d'un fragment de 30 kDa, un produit de la dégradation de la troponine-T, ils ont observé une protéolyse plus rapide à 15 °C. Ils ont conclu que le raccourcissement des sarcomères ou les conditions postmortem qui causent le raccourcissement (la température) affectent la vitesse d'attendrissement de la viande, mais pas la tendreté finale (White *et al.* 2006). Une étude similaire, où les muscles étaient par contre restreints, n'a pas démontré d'effet de la température au début de la période pré-rigor (8 h à 5 ou 20 °C) sur la longueur des sarcomères et la tendreté de la viande maturée 2, 7, 14 et 21 j (Sullivan *et al.* 2006). De plus, l'analyse qualitative des profils de protéolyse ne semblait pas indiquer de différences selon la température pré-rigor (Sullivan *et al.* 2006). Pour leur part, Weaver *et al.* (2008) ont comparé des sections de muscle qui étaient restreintes et placées à 4 °C à des sections non restreintes placées sur glace pendant 24 h avant d'être transférées à 4 °C pour une période de maturation de 10 j. Ils ont observé chez les muscles non restreints que les sarcomères étaient plus courts, que la force de cisaillement était supérieure à 2 et 10 j et qu'il y avait moins de dégradation de la troponine-T. Ils ont conclu que la structure des sarcomères influence la protéolyse et que la différence de température entre les échantillons durant les premières 24 h n'a probablement pas eu un impact significatif (0 vs 4 °C). Une étude in vitro de la même équipe a permis de démontrer que la troponine-T de myofibrilles ayant des sarcomères plus longs étaient plus sujette à la dégradation par la protéase μ -calpaïne (Weaver *et al.* 2009). L'étude d'England *et al.* (2012) est particulièrement intéressante puisqu'ils ont obtenu des sarcomères de différentes longueurs chez trois muscles bovins en utilisant deux méthodes de suspension différentes. La température pré-rigor était donc la même dans les deux cas, ce qui permettait de vérifier l'effet de la longueur des sarcomères sans qu'il y ait une différence de température. Bien que certains points soient contradictoires ou ambigus, leurs résultats tendent à démontrer une protéolyse plus rapide de la titine pour la viande ayant les sarcomères les plus longs. En utilisant l'agneau comme modèle, Wheeler et Koohmaraie (1999) ont comparé des muscles laissés intacts sur les carcasses placées à 0 °C à des muscles excisés placés à 0 °C pendant 24 h et ensuite placés à 2 °C pendant 1 ou 10 j de maturation. Les auteurs ont observé des différences entre les traitements pour la longueur

des sarcomères et la force de cisaillement, mais aucune en ce qui a trait à la dégradation de la desmine et de la troponine-T. Ils ont conclu qu'il n'y avait donc pas d'effet de la longueur des sarcomères sur la protéolyse pendant la maturation.

Selon Hwang *et al.* (2004), la protéolyse est très peu affectée par la longueur des sarcomères, mais très affectée par la relation pH et température. Ils ont d'ailleurs observé que la tendreté et la protéolyse sont supérieures pour les muscles placés à 36 °C (« rigor shortening ») pendant les premières 24 h comparativement et ceux placés à 5 °C (« cold shortening ») durant la même période, et ce, malgré le fait que la longueur des sarcomères ait été similaire. À cet effet, Zamora *et al.* (1998) ont rapporté une baisse moins rapide de l'activité de la calpastatine durant la période postmortem chez le bovin soumis au phénomène de « cold shortening » et ont conclu que la réduction de la protéolyse contribue à la différence de tendreté normalement observée suite à ce phénomène. Toutefois, dans cette étude, aucune mesure de contraction n'a été prise et la notion de « cold shortening » référerait à la température à laquelle le muscle était maintenu durant les premières 24 h, soit 0 vs 15 °C et à l'effet direct sur l'activité enzymatique qu'elle pourrait avoir eu. Finalement, l'absence ou la présence d'effet du « heat shortening » sur la tendreté pourrait dépendre de l'activité des calpaïnes qui seraient activées rapidement, mais s'épuiseraient également rapidement dans ces conditions plutôt que d'un effet direct de la longueur des sarcomères (Simmons *et al.* 1996; Hwang et Thompson 2001a).

Les résultats de ces études n'apportent pas de réponse claire sur l'impact de la longueur des sarcomères sur la protéolyse. Ils laissent croire que l'effet direct de la longueur des sarcomères sur la protéolyse serait moins important que l'effet de la température utilisée durant la période pré-rigor.

1.2.3 L'attendrissement de la viande

Il est depuis longtemps reconnu qu'au cours des jours suivants la mort de l'animal et l'établissement du rigor mortis, la viande subit d'importants changements structuraux qui influencent ses propriétés organoleptiques (Bate-Smith 1948; Whitaker 1959; Davey et Gilbert 1968; Davey et Dickson 1970). C'est d'ailleurs au cours de cette période dite de

maturation que le processus d'attendrissement de la viande se produit. En fait, l'attendrissement de la viande débiterait avant l'établissement du rigor mortis, c'est-à-dire durant la période pré-rigor (Dransfield 1994b; Devine *et al.* 1999). Selon le modèle développé par Eric Dransfield, l'attendrissement de la viande débiterait lorsque le pH est d'environ 6,2-6,3 (Dransfield 1993, 1994b). En pratique, il est difficile d'en mesurer le moment exact, puisqu'au cours de cette même période, il se produit les raccourcissements latéral et longitudinal ainsi que l'attachement des têtes de myosines sur les filaments d'actines décrits précédemment qui ont des effets contraires à l'attendrissement. De plus, tout comme l'établissement du rigor, l'attendrissement de la viande débiterait de manière « dynamique » c'est-à-dire pas tout à fait au même moment pour toutes les fibres d'un même muscle (Devine 2004). De plus, l'attendrissement de la viande varie en termes de vitesse et d'amélioration totale entre les espèces, les muscles et les individus (Dransfield *et al.* 1981; Ouali et Talmant 1990; Koohmaraie *et al.* 1991; Tribot Laspière *et al.* 2008). Chez l'agneau, la vitesse d'attendrissement est intermédiaire entre celle du porc, plus rapide, et celle du bœuf, plus lent (Dransfield *et al.* 1981; Koohmaraie *et al.* 1991). En fait, il semblerait que la viande d'agneau atteigne 50 % de sa tendreté potentielle après 3 j de maturation et 80 % après 8 j (Dransfield *et al.* 1981; Dransfield 1994b). De plus, l'amélioration totale de la tendreté entre 1 et 14 j serait plus importante pour la viande d'agneau que le porc et le bœuf (Koohmaraie *et al.* 1991). L'attendrissement de la viande serait également influencé par des facteurs technologiques tels que la vitesse de refroidissement et la stimulation électrique (Ouali 1990) qui agissent sur les processus biochimique et physiologique.

1.2.3.1 Changements structuraux

Il est généralement accepté que l'attendrissement de la viande résulte de la fragilisation des fibres musculaires et que les principales altérations structurales observées lors de l'attendrissement de la viande sont (Taylor *et al.* 1995a; Taylor et Koohmaraie 1998) :

- la perte de liens entre les lignes Z des sarcomères juxtaposés (normalement liés par des filaments de desmine);

- la perte de liens entre les myofibrilles et le sarcolemme (normalement liés par les costamères);
- l'apparition de brèches dans la bande I (due à la dégradation de la titine et de la nébuline).

Ces changements structuraux résulteraient de la dégradation des protéines myofibrillaires et du cytosquelette (Koohmaraie 1994; Taylor *et al.* 1995a; Hopkins et Huff-Lonergan 2004). Il existe d'ailleurs d'excellentes revues sur la dégradation de ces protéines au cours de la maturation chez le bœuf, l'agneau et le porc (Hopkins et Thompson 2002a; Huff-Lonergan *et al.* 2010). Un bon nombre de protéines ont fait l'objet de recherche au fil des ans telles que la troponine-T, la desmine, la titine, la nébuline, l'actine, la myosine, l'actine, la vinculine, la filamine, etc. Dans le cadre de cette revue, les principales protéines d'intérêt sont discutées.

Une des premières protéines dont la dégradation a été rapportée et corrélée à la tendreté de la viande est la troponine-T (McBride et Parrish 1977; Olson *et al.* 1977; Penny et Dransfield 1979). La dégradation de cette protéine durant la période postmortem produit différents peptides dont le poids moléculaire se situe entre 26 et 32 kDa et qui diffèrent selon l'isoforme de la troponine-T intacte (Muroya *et al.* 2006). Parmi ces fragments, un peptide de 30 kDa a été le plus étudié et son apparition pendant la période de maturation a été de nombreuses fois corrélée avec la tendreté de la viande (McBride et Parrish 1977; Ho *et al.* 1994; Huff-Lonergan *et al.* 1996; Kuber *et al.* 2003). Toutefois, puisqu'il s'agit d'une protéine régulatrice, il a été soulevé à quelques reprises dans la littérature que la dégradation de la troponine-T pourrait être simplement un indicateur de la protéolyse et non directement impliquée dans l'attendrissement puisque sa dégradation n'engendrerait pas les modifications structurales observées (Hopkins et Huff-Lonergan 2004; Huff-Lonergan *et al.* 2010).

Plusieurs études ont par ailleurs observé une dégradation de la desmine durant la période postmortem chez le porc, le bœuf et l'ovin (Taylor *et al.* 1995a; Huff-Lonergan *et al.* 1996; Wheeler et Koohmaraie 1999; Melody *et al.* 2004). Cette protéine joue un rôle important dans la structure des myofibrilles en étant à la fois un constituant majeur des

filaments intermédiaires qui lient les myofibrilles entre elles au niveau de la ligne Z et en interagissant avec les costamères qui lient les myofibrilles au sarcolemme (Taylor et Koohmaraie 1998; Capetanaki *et al.* 2007). Sa dégradation peut donc amener une fragilisation de la structure des fibres et un attendrissement de la viande (Taylor *et al.* 1995a). La dégradation de la desmine serait faible durant les 24 premières heures postmortem, mais elle serait importante entre 24 et 72 h chez le bovin et l'ovin (Koohmaraie *et al.* 1991; Taylor *et al.* 1995a). Il a été rapporté que la dégradation de la desmine était plus rapide ou plus importante pour la viande tendre comparativement à la viande dure (Whipple *et al.* 1990; Huff-Lonergan *et al.* 1996).

Plusieurs recherches ont également été menées sur la titine afin de déterminer si elle était impliquée dans le développement de la tendreté, puisque cette protéine joue un rôle dans le maintien de la structure des myofibrilles *in vivo* en reliant la ligne Z à la ligne M (Pearson et Young 1989; Clark *et al.* 2002). Il a été démontré que la dégradation de la forme intacte de la titine et l'apparition d'un produit de dégradation sont plus rapides chez la viande tendre comparativement à la viande dure (Huff-Lonergan *et al.* 1995; Huff-Lonergan *et al.* 1996). La dégradation de la titine a été observée chez le bovin et l'ovin lors de l'incubation de myofibrilles avec de la μ -calpaïne, une protéase importante lors de l'attendrissement (Koohmaraie 1992a; Huff-Lonergan *et al.* 1996; Mohrhauser *et al.* 2011). Taylor *et al.* (1995a) ont d'ailleurs proposé que la dégradation de la titine serait responsable de l'apparition de brèches dans la bande I.

L'apparition de ces brèches dans la bande I pourrait aussi être attribuable en partie à la dégradation de la nébuline (Taylor *et al.* 1995a). De par son ancrage à la ligne Z et son lien avec les filaments minces (Labeit *et al.* 1991; Clark *et al.* 2002; Ottenheijm et Granzier 2010), sa dégradation pourrait effectivement engendrer une fragilisation de la structure myofibrillaire. Il a d'ailleurs été démontré que cette protéine est dégradée durant la période postmortem (McBee et Wiles 1967; Huff-Lonergan *et al.* 1995; Melody *et al.* 2004) et qu'elle est également un substrat des calpaïnes (Huff-Lonergan *et al.* 1996; Mohrhauser *et al.* 2011). De plus, une dégradation plus importante de la nébuline chez des échantillons de viande tendre a également été observée (Anderson et Parrish 1989; Huff-Lonergan *et al.* 1995; Huff-Lonergan *et al.* 1996).

Par contre, que ce soit pour la desmine, la titine ou la nébuline, diverses observations démontrent que leur dégradation n'est pas nécessairement garante de tendreté. À titre d'exemple, certaines études ont observé une dégradation de la titine et de la nébuline durant la période postmortem chez de la viande qui ne s'attendrissait toutefois pas (Huff-Lonergan *et al.* 1995; Rowe *et al.* 2004).

Dans le cas de l'actine et la myosine, il est généralement accepté que leur dégradation est très limitée (si dégradation il y a) durant l'attendrissement de la viande sous température froide (Bandman et Zdanis 1988; Koohmaraie 1992b, 1994). De plus, *in vitro*, ces protéines ne sont pas dégradées par les calpaïnes (Dayton *et al.* 1976; Goll *et al.* 1991; Goll *et al.* 2003), ce qui a contribué à appuyer l'idée qu'elles ne sont pas dégradées durant la période postmortem. Par contre, l'utilisation de techniques de protéomique plus sensibles a permis au cours des dernières années d'observer une certaine dégradation. La dégradation postmortem de l'actine et de la myosine a d'abord été observée chez le porc (Lametsch *et al.* 2003). En utilisant une approche par électrophorèse 2D, l'étude de Lametsch *et al.* (2003) a permis d'observer que trois fragments d'actine ainsi qu'un fragment des chaînes lourdes de myosine étaient corrélés à la force de cisaillement. Les auteurs ont conclu qu'une faible dégradation de ces protéines pourrait fragiliser les myofibrilles et influencer la tendreté de la viande. Chez le bovin, des augmentations de la présence de fragments d'actine et de fragments des chaînes lourdes de myosine ont également été observées durant la période postmortem (Bjarnadóttir *et al.* 2010; Polati *et al.* 2012), ce qui appuie cette idée. Toujours chez le bovin, une étude a observé le relâchement de l'isoforme 1 des chaînes légères de myosine suite à l'incubation de myofibrilles en présence de μ -calpaïne de même qu'une plus grande abondance de cette isoforme dans la fraction soluble chez les viandes tendres comparativement aux viandes dures (Anderson *et al.* 2012). À partir de ces résultats, les auteurs ont émis l'hypothèse que la présence de cette isoforme de la chaîne légère témoignait de la dégradation de la molécule de myosine (Anderson *et al.* 2012). La dégradation *in vitro* de l'actine et des chaînes lourdes de myosine par la μ -calpaïne a d'ailleurs été rapportée chez le porc (Lametsch *et al.* 2004), contrairement à ce qui était jusqu'alors généralement accepté (Dayton *et al.* 1976; Goll *et al.* 1991; Goll *et al.* 2003; Kim *et al.* 2012). Comparativement à la dégradation d'autres protéines, comme la desmine et la troponine-T, la dégradation de l'actine et de la myosine est toutefois mineure

(Lametsch *et al.* 2004), ce qui peut expliquer qu'elle n'ait pas été observée lors de certaines études. Il est donc probable que ces protéines soient légèrement dégradées durant la période postmortem, et si c'est bien le cas, vu leur importance structurale, elles pourraient participer à l'attendrissement de la viande.

1.2.3.2 Mécanisme d'attendrissement

Diverses théories ont été proposées afin d'expliquer l'attendrissement de la viande durant la période postmortem. Basées sur des résultats de recherche, sur des preuves directes et indirectes, elles ont chacune leurs forces et faiblesses ainsi que leurs défenseurs ou détracteurs parmi la communauté scientifique. Dans cette section, il sera question de la liaison entre l'actine et la myosine, du rôle de la force ionique, de la théorie calcique et de la protéolyse enzymatique.

En se basant sur les résultats de Wheeler et Koohmaraie (1994; Figure 1.5) et en s'appuyant sur plusieurs autres études, Goll *et al.* (1995) ont proposé que l'interaction entre l'actine et la myosine pourrait influencer la tendreté de la viande. Selon leur théorie, l'augmentation de la dureté de la viande suite à la mort de l'animal serait en partie due à l'augmentation de la force des liaisons entre l'actine et la myosine, tandis que la diminution de la dureté durant l'attendrissement postmortem serait dû à la diminution de la force d'interaction entre ces protéines au cours des premiers jours postmortem (Goll *et al.* 1995; Goll *et al.* 1997). Stein *et al.* (1979) ont d'ailleurs proposé qu'il y aurait des liaisons fortes et faibles entre la myosine et l'actine durant l'établissement du rigor, une conclusion partagée par dos Remedios et Moens (1995). Ces liaisons fortes et faibles entre la myosine et l'actine surviennent au cours de la contraction musculaire et dépendent du nucléotide (ATP, ADP-Pi ou ADP) lié à la myosine (dos Remedios et Moens 1995; Prochniewicz *et al.* 2004; Korman *et al.* 2006) ce qui supporte l'idée d'une augmentation de la force de liaison durant le développement du rigor mortis. Par contre, la théorie de l'affaiblissement des liaisons durant la période postmortem ne s'appuie que sur des preuves indirectes et le fait qu'un attendrissement se produit avant que la dégradation protéique soit importante. Pour Goll *et al.* (1995; 1997) l'attendrissement de la viande durant la période postmortem résulterait donc, dans un premier temps, de l'affaiblissement des liaisons entre l'actine et la

myosine, suivie par la protéolyse enzymatique. D'autres chercheurs partagent ce point de vue (Taylor *et al.* 1995a; Li *et al.* 2012). Toutefois, certains auteurs (Hopkins et Thompson 2002), qui considèrent également qu'il est possible que différents types/forces de liaisons existent entre l'actine et la myosine et qu'elles puissent changer durant la période postmortem, rappellent qu'aucune évidence scientifique directe n'appuie l'idée qu'elles contribuent à l'attendrissement de la viande durant cette période.

Il a aussi été proposé que la pression osmotique ou la force ionique puisse avoir un rôle à jouer lors de l'attendrissement de la viande (Wu et Smith 1987; Ouali 1990, 1992). Des études *in vitro* ont démontré que sous des forces ioniques de 200-300 mM, certaines protéines myofibrillaires étaient solubilisées ou fragilisées (Wu et Smith 1987; Ouali 1992). Toutefois, une étude menée chez l'ovin a rapporté que l'estimation de la force ionique durant la période postmortem avait été surestimée et que les études *in vitro* auraient plutôt dû utiliser un maximum de 100 mM, une valeur plus près de la force ionique retrouvée dans le muscle durant la période postmortem (Veiseth *et al.* 2004). Dans ce contexte, l'effet réel de la force ionique est probablement moindre que ce qui a été observé lors des études *in vitro* (Veiseth *et al.* 2004). Un point intéressant de cette théorie est que la force ionique viendrait fragiliser les structures et serait complémentaire à la protéolyse enzymatique (Wu et Smith 1987; Ouali 1990, 1992). Toutefois, l'augmentation de la force ionique pourrait également inhiber l'activité des calpaïnes, enzymes impliquées dans l'attendrissement de la viande (Geesink et Koohmaraie 2000).

Quant à elle, la théorie calcique afin d'expliquer l'attendrissement de la viande est principalement basée et défendue par les travaux de Koui Takahashi (Takahashi 1992; Takahashi 1996; Takahashi 1999; Ji et Takahashi 2006). Elle tient compte de l'augmentation importante de la concentration calcique dans le sarcoplasme durant la période postmortem (Geesink *et al.* 2001b; Ji et Takahashi 2006) et du fait que cette augmentation contribue à l'attendrissement (Takahashi 1996; Takahashi 1999). La théorie calcique stipule que la fragilisation de la ligne Z ainsi que la fragilisation des liaisons entre l'actine et la myosine se produisent lorsque la concentration calcique est de 0,1 mM en absence de protéolyse et que différentes protéines structurales sont également dégradées sous ces conditions (Takahashi 1996; Takahashi 1999). La fragilisation de la ligne Z

résulterait de la libération des phospholipides de la ligne Z suite à leur liaison avec le calcium (Takahashi 1996; Ahn *et al.* 2003; Ji et Takahashi 2006). La fragilisation des liaisons entre l'actine et la myosine résulterait de la liaison de la paratropomyosine³ à l'actine suite à son détachement de la titine sous l'effet du calcium (Takahashi *et al.* 1987b; Takahashi 1996; Takahashi 1999). Ils ont également observé une dégradation de la titine, de la nébuline et de la desmine en fragments correspondants à ceux normalement retrouvés lors de l'attendrissement de la viande lorsque des myofibrilles étaient soumises à 0,1 mM de Ca^{2+} en présence de 70 uM leupeptine, un inhibiteur de sérine et cystéine protéases (Takahashi 1996; Takahashi 1999; Ji et Takahashi 2006). Toutefois, aucune donnée de tendreté ou force de cisaillement n'a été présentée dans ces études afin de corroborer cette théorie. L'un des problèmes de la théorie calcique est qu'elle nie l'importance des protéases dans l'attendrissement de la viande. Elle stipule que le μ -calpaïne ne peut être responsable de l'attendrissement de la viande puisque son activité diminue rapidement dans les 24-48 premières heures postmortem, qu'il y a peu de protéolyse durant cette période et que pourtant, il y a une importante amélioration de la tendreté (Takahashi 1996; Takahashi 1999; Ji et Takahashi 2006). Or, de nombreuses évidences leur confèrent un rôle dans le développement de la tendreté (voir section 1.2.3.3). Est-ce que le calcium pourrait avoir un rôle direct sur la tendreté? Rien ne permet de le nier, mais il est peu probable qu'il soit le seul responsable. La complexité de la structure musculaire suggère une régulation plus « élaborée/complexe ».

De nombreuses revues de la littérature ont été publiées sur l'attendrissement de la viande au fil des ans et tous s'entendent sur un point : la protéolyse enzymatique joue un rôle important dans le processus d'attendrissement (Goll *et al.* 1983; Ouali 1990; Koohmaraie 1992b; Dransfield 1994b; Koohmaraie 1994, 1996; Sentandreu *et al.* 2002; Hopkins et Huff-Lonergan 2004; Hopkins et Taylor 2004; Koohmaraie et Geesink 2006; Ouali *et al.* 2006; Huff-Lonergan *et al.* 2010; Kemp *et al.* 2010; Kemp et Parr 2012). La grande majorité des chercheurs dans le domaine reconnaissent l'importance du système calpaïnes/calpastatine dans ce processus. Toutefois, les opinions diffèrent quant à

³ Protéine difficilement différenciable de la tropomyosine en termes de poids moléculaire, mais ayant une composition en acides aminés quelque peu différente de cette dernière (Pearson et Young, 1989) et sur laquelle on retrouve peu d'information à l'exception de celles rapportées par l'équipe de Koui Takahashi.

l'importance de ce système qui pour certains est l'unique responsable de l'attendrissement de la viande (Koohmaraie 1992b; Dransfield 1994b; Koohmaraie 1994, 1996; Koohmaraie et Geesink 2006), tandis que pour d'autres, il est fort possible que d'autres systèmes enzymatiques soient également impliqués (Goll *et al.* 1983; Ouali 1990; Sentandreu *et al.* 2002; Ouali *et al.* 2006; Huff-Lonergan *et al.* 2010; Kemp *et al.* 2010; Kemp et Parr 2012). La section qui suit traitera du rôle de ces systèmes dans la protéolyse musculaire en se basant sur les recherches menées sur la protéolyse lors de la période postmortem et l'attendrissement, mais également en se basant sur la protéolyse qui survient lors de l'atrophie musculaire.

1.2.3.3 Protéolyse enzymatique

La protéolyse enzymatique réfère à la dégradation des protéines sous l'action d'enzymes qui hydrolysent les liaisons peptidiques entre les acides aminés qui composent les protéines. Il a été proposé que ces enzymes, nommées protéases, doivent répondre à différents critères afin de pouvoir être impliquées dans le processus de protéolyse postmortem (Koohmaraie 1992b). Les protéases doivent se trouver à l'intérieur des fibres musculaires, elles doivent avoir accès aux substrats/structures et finalement elles doivent être en mesure de reproduire *in vitro* la protéolyse observée durant la période postmortem (Koohmaraie 1992b). Dans ce contexte, différents systèmes ont été étudiés au fil des ans. Parmi ceux-ci, quatre ont particulièrement retenu l'attention : les calpaïnes/calpastatine, les cathepsines, le protéasome et les caspases.

Les calpaïnes/calpastatine. Les calpaïnes sont des cystéines protéases Ca^{2+} -dépendantes qui ont été identifiées pour la première fois dans le cerveau du rat en 1964 (Guroff 1964). Aujourd'hui, on connaît plus de 14 gènes codant pour les calpaïnes (Goll *et al.* 2003). Certaines sont ubiquitaires (1, 2, 5, 7, 10, 12, 14 et 15), tandis que la calpaïne 3 est spécifique aux muscles (Ilian *et al.* 2004). La μ -calpaïne (ou calpaïne 1) et la m-calpaïne (ou calpaïne 2) ont été nommées ainsi en raison de la concentration de Ca^{2+} nécessaire à leur activation, soit 3-50 μM et 400-800 μM pour la μ -calpaïne et m-calpaïne

respectivement (Goll *et al.* 2003). Parmi tous les membres de cette famille, elles ont sans aucun doute suscité le plus d'intérêt jusqu'à maintenant et elles sont les mieux caractérisées. La μ - et m-calpaïnes sont des hétérodimères composés d'une sous-unité de 80 kDa et d'une de 28 kDa. La sous-unité de 80 kDa est codée par les gènes *capn1* et *capn2* pour la μ - et m-calpaïnes respectivement (Goll *et al.* 2003). C'est la sous-unité catalytique. Outre les calpaïnes, ce système enzymatique est également composé d'un inhibiteur endogène spécifique; la calpastatine. En théorie, cette dernière est capable d'inhiber quatre molécules de calpaïnes puisqu'elle possède quatre domaines inhibiteurs (Goll *et al.* 2003). La calpastatine a besoin de calcium afin de se lier et d'inhiber les calpaïnes (Goll *et al.* 2003). Il existe différents isoformes de la calpastatine (Parr *et al.* 2004; Raynaud *et al.* 2005) et ces isoformes pourraient varier entre les muscles (Muroya *et al.* 2012). Outre l'action de cet inhibiteur, les calpaïnes sont régulées de différentes façons (Goll *et al.* 2003; Dargelos *et al.* 2008):

- Le calcium favorise l'autolyse des calpaïnes et libère la sous unité catalytique. Une fois autolysées, la concentration en calcium nécessaire à leur activation est réduite;
- L'interaction avec les phospholipides réduit la concentration en calcium nécessaire à l'activation des calpaïnes;
- La phosphorylation peut également réguler les calpaïnes. Par contre, la phosphorylation peut avoir divers effets : la phosphorylation de la m-calpaïne au niveau de la Ser50 par ERK/MAPK conduit à l'activation, mais la phosphorylation sur Ser369/Thr370 par PKA inactive l'enzyme;

On retrouve parmi les substrats des calpaïnes (μ et m) la titine, la desmine, la nébuline, la vinculine et la troponine-T (Goll *et al.* 2003), des protéines reliées à l'attendrissement de la viande. Les nombreuses recherches menées jusqu'à maintenant sur ce système indiquent que la μ -calpaïne (Koohmaraie *et al.* 1987; Veiseth *et al.* 2001; Geesink *et al.* 2006) et la calpastatine (Dransfield 1993; Koohmaraie 1994; McDonagh *et al.* 1999) jouent un rôle primordial dans la dégradation du cytosquelette et l'attendrissement de la viande, tandis que le rôle de la m-calpaïne et de la calpaïne 3 serait plutôt négligeable (Geesink *et al.* 2005; Koohmaraie et Geesink 2006). Un niveau de calcium insuffisant pour activer la m-calpaïne durant la période postmortem pourrait expliquer sa stabilité dans le temps et son rôle

négligeable (Koohmaraie *et al.* 1987; Veiseth *et al.* 2001). La protéolyse engendrée par la μ -calpaïne dépend de son activation, son autolyse, son inhibition par la calpastatine et son inactivation (Tornberg 1996). Selon le modèle proposé par Dransfield (1992, 1993, 1994a), le pH et la température influencent également son activation et son inactivation et par le fait même la vitesse et l'étendue de son action protéolytique. Les nombreuses évidences laissent croire que le système calpaïnes/calpastatine est largement responsable de l'attendrissement de la viande (Koohmaraie et Geesink 2006). Dans leur revue de littérature, Koohmaraie et Geesink (2006) proposent une série d'arguments appuyant l'implication et l'importance de ce système dans l'attendrissement de la viande, voici les plus probants :

1. Les calpaïnes reproduisent in vitro les changements structuraux observés durant la période postmortem (Koohmaraie *et al.* 1986);
2. L'injection postmortem de Ca^{2+} dans le muscle accélère l'attendrissement, tandis que celle d'inhibiteur des calpaïnes le réduit (Koohmaraie et Shackelford 1991; Uytterhaegen *et al.* 1994);
3. Les différences de vitesse d'attendrissement observées entre les espèces semblent s'expliquer par l'activité de la calpastatine (Ouali et Talmant 1990; Koohmaraie *et al.* 1991);
4. Les niveaux supérieurs de calpastatine observés chez les animaux exprimant le phénotype callipyge expliqueraient l'attendrissement limité de leur viande (Koohmaraie *et al.* 1995; Geesink et Koohmaraie 1999; Delgado *et al.* 2001);
5. Chez les souris surexprimant la calpastatine, la protéolyse est réduite de manière importante (Kent *et al.* 2004);
6. Chez les souris dont le gène de la μ -calpaïne a été inactivé (souris « knock out »), la protéolyse est également réduite de manière importante (Geesink *et al.* 2006).

Ce système est donc bel et bien impliqué dans la protéolyse postmortem et de nombreuses observations suggèrent qu'il serait également impliqué dans la protéolyse musculaire au cours de l'atrophie musculaire causée notamment par l'immobilisation prolongée et certaines dystrophies musculaires (Bartoli et Richard 2005; Enns *et al.* 2007; Vermaelen *et al.* 2007). Ce système ferait intervenir les μ - et m-calpaïnes, la calpaïne 3 et

la calpastatine. Ainsi, suite à une immobilisation prolongée, condition connue pour engendrer une perte de masse musculaire, l'activation des calpaïnes résulterait, en partie, de l'augmentation de la concentration sarcoplasmique du calcium (Powers *et al.* 2005; Powers *et al.* 2007). Chez les patients atteints de la dystrophie de Duchenne ou chez les souris *mdx* (modèle animal), l'absence de dystrophine compromettrait l'intégrité du sarcolemme et permettrait une entrée importante de calcium dans la cellule musculaire qui favorise également l'activation des calpaïnes (Tidball et Spencer 2000; Dargelos *et al.* 2008). Dans le cas d'une septicémie, le blocage chimique du relâchement du calcium dans le sarcoplasme inhiberait l'augmentation d'expression des calpaïnes normalement observée de même que le relâchement des myofilaments (Williams *et al.* 1999). Lors de ces diverses conditions, l'augmentation du niveau de calcium et l'activation subséquente des calpaïnes favoriseraient la protéolyse musculaire. D'ailleurs, il a été démontré lors d'une étude *ex vivo* que l'activation des calpaïnes par le calcium augmente la protéolyse, tandis que l'ajout d'un inhibiteur des calpaïnes empêche cette augmentation (Smith et Dodd 2007). Chez le rat soumis à l'immobilisation du membre arrière, une augmentation de l'activité totale des calpaïnes a été observée dans le muscle squelettique en atrophie (Enns et Belcastro 2006; Enns *et al.* 2007) et elle serait due à une activité accrue de la μ -calpaïne (Enns *et al.* 2007), ce qui a été confirmé par Vermaelen *et al.* (2007). Des augmentations d'expressions et d'activités des calpaïnes (μ - et m -) ont été rapportées lors de l'atrophie induite par la ventilation mécanique (Shanely *et al.* 2002), la dénervation (Hussain *et al.* 1987), le cancer (Saez *et al.* 2006), la septicémie (Williams *et al.* 1999) et la dystrophie de Duchenne (Dargelos *et al.* 2008). L'administration d'inhibiteur de calpaïnes a permis d'inhiber la protéolyse musculaire chez des rats en septicémie, ce qui confère un rôle important à ce système pour cette condition (Fareed *et al.* 2006). Lors de cette condition, l'augmentation de l'activité des calpaïnes pourrait bien être causée par une diminution de l'activité de la calpastatine comme en témoignent les résultats obtenus par Wei *et al.* (2005). Chez l'humain, la calpastatine était deux fois moins exprimée dans le muscle *gastrocnemius* en atrophie suite à l'immobilisation du membre arrière (Chen *et al.* 2007). Une diminution de l'activité de la calpastatine a également été observée lors de la cachexie induite par une tumeur chez le rat, ce qui avait pour conséquence d'augmenter le ratio calpaïne : calpastatine (Costelli *et al.* 2001). Le ratio μ -calpaïne : calpastatine serait d'ailleurs

important lors de l'atrophie induite par l'immobilisation : une relation inverse ($r = -0,83$) a été observée entre ce ratio et la desmine, une protéine du cytosquelette (Enns *et al.* 2007). Par contre, les études ne sont pas unanimes quant à l'activation et la participation de ce système enzymatique lors de l'atrophie. Par exemple, Jones *et al.* (2004) n'ont pas observé de variation d'expression des calpaïnes (μ - et m -) et de la calpastatine chez l'humain soumis à l'immobilisation d'un membre arrière pendant deux semaines, ce qui n'écarterait pas la possibilité que l'activité ait varié. De leur côté, Mastracola *et al.* (2008) n'ont pas observé d'augmentation d'activité des calpaïnes chez des rats porteurs d'une tumeur ou des rats diabétiques présentant une atrophie musculaire. Comme les calpaïnes ne dégradent pas de façon importante l'actine et la myosine, mais plutôt différentes protéines du cytosquelette telles la titine, la nébuline et la desmine, leur action permettrait de relâcher les protéines des sarcomères (Powers *et al.* 2005; Powers *et al.* 2007). Des études menées sur le diaphragme et sur des cellules du muscle cardiaque suggèrent que les calpaïnes agissent en amont d'un autre système enzymatique, le protéasome (Galvez *et al.* 2007; Smith et Dodd 2007). De plus, certaines études suggèrent que les calpaïnes puissent également jouer un rôle de signalisation (Smith et Dodd 2007; Vermaelen *et al.* 2007).

Ces informations suggèrent que le système calpaïnes/calpastatine joue un rôle important lors de l'attendrissement de la viande. Toutefois, l'action des calpaïnes, jumelée à diverses caractéristiques musculaires, n'expliquerait pas plus de 40 % de la variabilité de la tendreté (Veiseth et Koohmaraie 2005 cités par Bernard *et al.* 2007). De plus, l'activité protéolytique de la μ -calpaïne serait inférieure à 10 % selon Boehm *et al.* (1998) ou entre 24-28 % selon Koohmaraie *et al.* (1986) lorsque le pH atteint 5,5-5,8 à 5°C, conditions atteintes dans les 24 h postmortem. Il a même été suggéré que les calpaïnes n'étaient plus actives après 24 h chez le bovin et que d'autres protéases devaient donc participer à l'attendrissement de la viande (Camou *et al.* 2007). Chez la souris dont le gène de la μ -calpaïne a été inactivé, la protéolyse des protéines normalement dégradées durant la période postmortem est réduite, mais pas totalement inhibée (Geesink *et al.* 2006), ce qui laisse croire que d'autres protéases puissent participer au processus.

Les cathepsines. Les cathepsines sont des protéases lysosomales actives à pH acide, que l'on retrouve au niveau des lysosomes (Goll *et al.* 1983). Il existe plusieurs formes de cathepsines (A, B, C, D et L; Pearson et Young 1989). Bien qu'ubiquitaire, les cathepsines B, H, D et L sont plus exprimées dans les tissus qui présentent un renouvellement protéique important comme les reins, les viscères, le foie et le placenta que dans les muscles où le renouvellement est plus lent (Bechet *et al.* 2005). Les cathepsines ont tout de même été identifiées au sein des muscles chez plusieurs espèces : humain, rat, souris, bovin, porc, ovin, poulet et poisson. Des lysosomes contenant des cathepsines immunoréactives et actives d'un point de vue enzymatique ont été observés sous le sarcolemme, dans la région périnucléaire et également entre les myofilaments (Bechet *et al.* 2005). De manière générale, il semble que les muscles lents et oxydatifs contiennent plus de cathepsines que les muscles rapides et glycolytiques (Bechet *et al.* 2005).

Les cathepsines ont d'ailleurs été les premières protéases étudiées en relation avec la tendreté. Toutefois, bien que sous des conditions particulières de pH acide et de températures élevées certaines études aient observé une activité protéolytique des cathepsines durant la période postmortem (pour revue voir Hopkins et Thompson 2002b), il est généralement rapporté et accepté que les cathepsines n'ont pas un rôle de premier plan lors de l'attendrissement de la viande (Koohmaraie 1996; Hopkins et Taylor 2004). Les principaux arguments contre leur implication sont le peu de dégradation que subit l'actine et la myosine durant la période postmortem, deux protéines dégradées par les cathepsines (Bird *et al.* 1977; Schwartz et Bird 1977), le faible lien qui existe entre leur activité et l'attendrissement et finalement le fait qu'elles doivent être libérées des lysosomes pour agir (Koohmaraie 1996; Hopkins et Thompson 2002b; Kemp *et al.* 2010). À ce sujet, certaines études ont démontré une libération plus rapide des cathepsines D et une rupture des lysosomes suite à une baisse du pH (Pommier *et al.* 1987) sans toutefois obtenir d'amélioration de la tendreté. L'injection *in situ* d'inhibiteur des cathepsines jette un sérieux doute quant à un rôle de première importance de ces protéases dans l'attendrissement de la viande, puisque les muscles ainsi traités n'ont démontré aucune différence de tendreté ou de fragmentation des protéines structurales (Uytterhaegen *et al.* 1994; Hopkins et Thompson 2001). Certains auteurs proposent tout de même que les cathepsines puissent avoir une action synergétique avec les calpaïnes et contribuer à

l'attendrissement de la viande (Ouali 1992; Sentandreu *et al.* 2002). Elle pourrait agir plus tard durant la période postmortem et tout comme dans le cas des calpaïnes, leurs inhibiteurs, les cystatines, pourraient jouer un rôle dans l'attendrissement (Sentandreu *et al.* 2002).

En ce qui a trait à leur implication au cours de l'atrophie musculaire, une augmentation de l'expression de la cathepsine L en termes d'ARNm et de protéines a été observée chez des rats présentant une atrophie causée par une septicémie de même que chez des rats traités avec un glucocorticoïde de synthèse (dexaméthasone) ou porteurs d'une tumeur (Deval *et al.* 2001). Une activité accrue de la cathepsine L ainsi qu'une expression plus importante des ARNm ont également été observées dans le muscle *gastrocnemius* atrophié de souris transgéniques surexprimant IL-6, une cytokine impliquée dans la régulation de l'inflammation (Tsujioka *et al.* 1995). Une augmentation de l'activité de la cathepsine B a été observée chez des muscles de souris et de poulets dystrophiques, de même que chez des patients atteints de la dystrophie de Duchenne (Bechet *et al.* 2005). Lors de l'atrophie induite par suspension du membre arrière chez le rat, une augmentation de l'activité des cathepsines B et L de même qu'une augmentation de l'expression de leurs ARNm respectifs ont été observées chez le muscle soléaire atrophié (Taillandier *et al.* 1996). Toutefois, la protéolyse engendrée par ces enzymes ne représentait qu'un faible pourcentage de la protéolyse totale (Taillandier *et al.* 1996). Il semblerait que les cathepsines soient activées durant l'atrophie musculaire, mais que leur importance par rapport à la protéolyse totale soit très limitée (Powers *et al.* 2005; Powers *et al.* 2007). Différentes explications ont été suggérées pour expliquer ce constat (Los et Haagsman 2004) :

- leur capacité protéolytique est augmentée sans que la dégradation le soit réellement ;
- la dégradation par les protéases lysosomales est effectivement augmentée, mais sa contribution est relativement minime sur l'ensemble de la dégradation ;
- lorsque la dégradation par les protéases lysosomales est inhibée, les autres systèmes enzymatiques prennent la relève.

Le protéasome (système ubiquitine-ATP-dépendant). Plus récemment, l'implication d'un troisième système protéolytique a suscité l'intérêt (Sentandreu *et al.* 2002). Ce système protéolytique, nommé protéasome, joue un rôle primordial dans les cellules eucaryotes en dégradant un bon nombre de protéines (Coux *et al.* 1996). Le protéasome est un complexe ubiquitine-ATP-dépendant (26S) composé d'un complexe catalytique (20S) et d'un complexe de régulation (19S) : les trois formes sont retrouvées dans la cellule (Peters *et al.* 1994). Chez l'animal vivant, le protéasome joue un rôle important. Il est en mesure de dégrader les protéines anormales (ex : mal repliées, oxydées, mal codées) en plus d'être le grand responsable de la dégradation protéique lors du renouvellement des protéines intracellulaires (Taillandier *et al.* 2004). La dégradation protéique exercée par ce système se fait en deux étapes distinctes : la protéine à dégrader doit d'abord être « marquée » avant d'être subséquemment dégradée en peptides. L'étape du « marquage » s'effectue par polyubiquitinylation c'est-à-dire par l'ajout d'une chaîne d'ubiquitines (Ub), un polypeptide de 76 acides aminés, à la protéine par liaison covalente. La polyubiquitinylation est un processus en trois étapes qui requiert la participation de trois familles d'enzymes : enzyme d'activation E1 « Ub-activating enzyme », enzyme de conjugaison E2 « Ub-conjugated enzyme » et ubiquitine-ligase E3. L'ubiquitine est d'abord activée par l'enzyme E1 qui transfère ensuite l'ubiquitine activée à une E2 qui présente, en quelque sorte, l'ubiquitine activée à une E3 dont le rôle est de reconnaître spécifiquement un substrat protéique et de permettre le transfert de l'ubiquitine à la protéine en question (Glickman et Ciechanover 2002; Lecker *et al.* 2006). Il existe un seul isoforme de la E1 chez les mammifères, mais plus d'une vingtaine de E2 et plusieurs centaines de E3 qui sont spécifiques pour le substrat et pour la E2 (Lecker *et al.* 2006). Cette multiplicité des enzymes d'ubiquitinylation (E2 et E3) permet de reconnaître avec précision les différents substrats et représente un point de régulation important pour la dégradation des protéines. Pour être dégradée, la protéine polyubiquitinylée est d'abord reconnue, liée et dépliée par le protéasome 19S avant d'être hydrolysée à l'intérieur du protéasome 20S (Hasselgren et Fischer 2001; Glickman et Ciechanover 2002). Le dépliement et la translocation vers l'intérieur du protéasome nécessitent l'hydrolyse d'ATP. Le protéasome 20S présente différentes activités protéolytiques chymotrypsin- trypsin- et caspase-like (Coux *et al.* 1996; Hasselgren et Fischer 2001). Les sites catalytiques sont retrouvés dans la cavité

interne de la structure du protéasome 20S, protégeant ainsi la cellule contre une protéolyse incontrôlée. La baisse d'ATP permet la dissociation réversible du protéasome 26S en protéasome 20S (Peters *et al.* 1994). Sous cette forme, le protéasome n'a besoin ni d'ubiquitine, ni d'énergie pour être fonctionnel, ce qui lui confère un certain intérêt en ce qui a trait à la protéolyse postmortem.

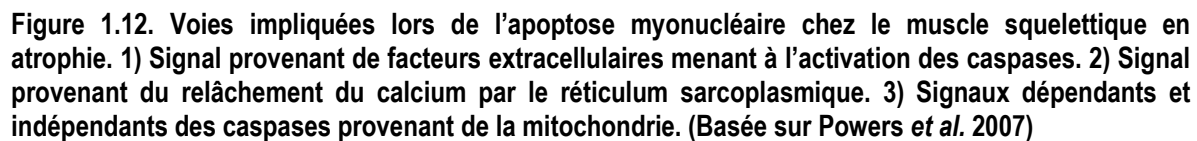
Certaines études ont démontré que plusieurs protéines myofibrillaires étaient dégradées en présence du protéasome 20S purifié (Taylor *et al.* 1995b; Robert *et al.* 1999). De plus, il a été démontré que le protéasome 20S conserve une bonne partie de ses activités protéolytiques chez le bovin durant la période postmortem (40 à 76 % de l'activité initiale après 7 jours à 4 °C (Lamare *et al.* 2002) et 30 à 48 % après 16 jours (Dutaud *et al.* 2006b)). Autre observation intéressante, les effets du pH, de la température et de l'osmolarité sur l'activité protéolytique du protéasome seraient similaires à ceux observés pour les calpaïnes, voire moindres (Dutaud *et al.* 2006b). Finalement, le protéasome semble capable de mimer des changements structuraux particuliers observés chez les viandes à pH élevé ou chez les muscles oxydatifs (Dutaud *et al.* 2006a; Dutaud *et al.* 2006b). Il est donc probable que ce système ait un certain rôle dans l'attendrissement de la viande. Certains auteurs ont d'ailleurs proposé que le protéasome puisse agir en synergie avec les calpaïnes durant l'attendrissement de la viande : les calpaïnes déstabiliseraient d'abord la structure myofibrillaire et le protéasome dégraderait ensuite les fragments protéiques (Robert *et al.* 1999; Houbak *et al.* 2008).

Il est aujourd'hui bien reconnu que l'ubiquitine-protéasome est un système protéolytique de première importance lors de l'atrophie musculaire (Taillandier *et al.* 1996; Lecker *et al.* 1999; Ikemoto *et al.* 2001; Lecker *et al.* 2006). La nature ATP-dépendante de la protéolyse observée dans diverses conditions atrophiques (Jagoe et Goldberg 2001) et l'effet anti-atrophique des inhibiteurs du protéasome dans ces conditions appuient fortement l'importance de ce système (Taillandier *et al.* 2004). De plus, des augmentations des activités du protéasome, de l'expression de certaines sous-unités du protéasome 20S et 19S, de la transcription de l'ubiquitine, de même que de l'expression de certaines E2 et E3 ont été observées lors de conditions atrophiques (pour revue voir Taillandier *et al.* 2004). Deux gènes codant pour des ubiquitines ligases E3 spécifiques aux muscles (MAFbx et

MuRF1) ont été identifiés et leur surexpression a été démontrée lors de l'atrophie induite par des glucocorticoïdes, le diabète, le jeûne, le cancer et l'insuffisance rénale (Bodine *et al.* 2001; Gomes *et al.* 2001). Il a également été démontré que les souris déficientes pour ces ligases sont résistantes aux conditions atrophiques (Bodine *et al.* 2001). Un programme commun de changement d'expression génique est retrouvé lors de l'atrophie musculaire causée par différents désordres ou maladies systémiques (le jeûne, la cachexie causée par le cancer, le diabète et l'insuffisance rénale) (Lecker *et al.* 2004). Lors de l'atrophie induite par ces conditions, certains gènes sont inhibés tandis que d'autres sont induits; parmi ceux-ci, atrogin-1/MAFbx et MuRF1 (Lecker *et al.* 2004). De plus, une augmentation de l'expression de MAFbx (35 à 44 fois) et MuRF1 (12 à 22 fois) lors de perte de masse musculaire induite par la dénervation (un modèle pour l'atrophie causée par inactivité ou absence de charge) a été rapportée (Sacheck *et al.* 2007).

Les caspases. Outre l'implication des différentes protéases discutées précédemment, certains chercheurs ont proposé de revoir le concept de transformation du muscle en viande en tenant compte de l'apoptose : la mort cellulaire programmée (Herrera-Mendez *et al.* 2006; Ouali *et al.* 2006). Selon eux, une fois l'animal mort et saigné, les cellules musculaires n'ont pas d'autre choix que d'entrer en apoptose. Si tel est le cas, une autre famille de protéases doit être considérée. En effet, l'apoptose myonucléaire peut être activée par trois voies plus ou moins reliées (Figure 1.12) qui ont comme point commun l'activation d'une famille de protéases nommées caspases en raison de la présence de cystéines dans le domaine catalytique « C » et de leur spécificité de clivage après un résidu d'acide aspartique « asp » (Alnemri *et al.* 1996). Les caspases sont normalement présentes sous forme inactive, les procaspases. Les voies illustrées à la figure 1.12 engendrent le clivage de différentes procaspases qui, une fois actives, ont la capacité d'activer d'autres caspases. Ces protéases ont comme substrat plus de 280 protéines, dont plusieurs ont un rôle dans la régulation ou la structure du cytosquelette et du noyau des cellules (Fischer *et al.* 2003). Certaines caspases sont impliquées dans la réaction inflammatoire (1, 2 et 4), d'autres sont initiatrices de l'apoptose (8, 9 et 10) tandis qu'une dernière classe est dite effective (3, 6 et 7) et elle est impliquée dans la dégradation et fragmentation des

48



L'implication de ce système dans l'attendrissement de la viande a fait l'objet d'études depuis le milieu des années 2000. Les études menées chez l'agneau, le porc et le bœuf ont démontré une diminution de l'activité conjointe des caspases 3/7 durant la période postmortem, bien que le commencement de cette diminution semble différer entre les espèces et parfois être précédé par une légère augmentation (Kemp *et al.* 2006; Kemp *et al.*

2009; Pulford *et al.* 2009; Cao *et al.* 2010). Kemp *et al.* (2006) ont été les premiers à rapporter une corrélation entre l'activité des caspases 3/7 et la force de cisaillement chez le porc. Ils ont par la suite observé que l'incubation de myofibrilles de porc avec une concentration croissante de caspase 3 recombinante engendrait entre autres une augmentation de la dégradation de desmine et de la troponine T (Kemp et Parr 2008). Kemp et Wheeler (2011) ont également observé une augmentation de la protéolyse lorsque des échantillons de muscle d'agneau étaient incubés avec de la caspase 3 recombinante et une diminution de la protéolyse lorsqu'ils étaient incubés avec un inhibiteur de caspase 3. L'incubation de myofibrilles de bœuf avec de la caspase 3 ou de la caspase 6 a permis de reproduire une partie de la dégradation des protéines myofibrillaires observée lors de la période postmortem (Huang *et al.* 2011). Dans le cas de la caspase 3, elle engendrait une dégradation de la titine et de la nébuline, de même que l'apparition d'un fragment de troponine-T à 28 kDa. Pour ce qui est de la caspase 6, elle engendrait une dégradation de la titine, de la nébuline et de la desmine. Les auteurs de l'étude concluaient que les caspases reproduisent seulement une partie de la dégradation protéique observée durant la période postmortem et qu'elles doivent donc agir *in vivo* avec d'autres protéases endogènes lors de l'attendrissement, possiblement les calpaïnes (Huang *et al.* 2011). Une expérience similaire, toujours chez le bovin, n'a toutefois pas observé de dégradation de ces protéines myofibrillaires suivant l'incubation des myofibrilles avec la caspase 3, tandis qu'elles l'étaient lorsque l'incubation était faite avec de la μ -calpaïne (Mohrhauser *et al.* 2011). D'ailleurs, Underwood *et al.* (2008) ont conclu qu'il n'y avait pas de relation entre la tendreté de la viande bovine et l'activité de la caspase 3. Finalement, les travaux de Kemp *et al.* (2009) avec des agneaux porteurs ou non du gène callipyge suggèrent que l'effet des caspases 3/7 sur la tendreté pourrait venir de sa capacité à dégrader la calpastatine. En fait, ils ont observé une corrélation négative entre l'activité maximale des caspases 3/7 et les niveaux de calpastatine à 0 et 2 j chez les agneaux non porteurs du gène callipyge, mais pas chez les agneaux porteurs et ils ont suggéré que les niveaux de calpastatine étaient possiblement trop élevés chez les porteurs pour que les caspases aient un effet substantiel.

Depuis quelques années, les caspases sont suspectées d'avoir un impact sur la dégradation des protéines myofibrillaires au cours de l'atrophie musculaire (Du *et al.* 2005; Franch et Price 2005; Powers *et al.* 2007). Suite aux résultats obtenus à l'aide de modèles

animaux, il a été proposé que l'activation de la caspase 3 est l'étape initiale lors de la perte de masse due à l'urémie et au diabète (Du *et al.* 2004). Elle dégraderait l'actomyosine en fragments alors susceptibles à la dégradation par le protéasome (Du *et al.* 2004). L'activité du protéasome serait d'ailleurs beaucoup plus importante lorsque la caspase 3 dégrade d'abord le complexe actomyosine, ce qu'il ne peut faire lui-même (Du *et al.* 2004). Lors de l'atrophie causée par l'immobilisation chez le rat, il a été observé que la caspase 3 est activée dans le muscle *soleus*, où l'atrophie est plus importante, mais pas dans le *plantaris*, muscle beaucoup moins atrophié (Vermaelen *et al.* 2007). Berthon *et al.* (2007) ont également observé une augmentation de l'activité de la caspase 3 dans le *soleus* de rats après 5 et 10 jours de suspension du membre arrière tandis que les activités des caspases 6 et 9 n'étaient augmentées qu'après 10 jours. Lors de la ventilation mécanique (pour contrer une insuffisance respiratoire) l'utilisation d'un inhibiteur de caspase 3 a réduit l'atrophie des fibres musculaires du diaphragme (McClung *et al.* 2007). De plus, il a été proposé que lors de la ventilation mécanique la caspase 3 est activée et qu'elle participe au maintien du domaine myonucléaire en modulant l'apoptose (McClung *et al.* 2007). Une augmentation de l'activité protéolytique des caspases 1, 3, 6, 8 et 9 a été observé lors de la cachexie causée par le cancer chez un modèle animal (Belizario *et al.* 2001), résultats suggérant encore une fois que ce système protéolytique serait impliqué dans l'atrophie musculaire. Par contre, les résultats obtenus par Bossola *et al.* (2006) contredisent l'idée que la dégradation protéique par la caspase 3 soit une étape essentielle lors de la protéolyse myofibrillaire, du moins lors d'une perte de masse causée par le cancer gastrique chez l'humain. De plus, lors de la septicémie, aucune variation de l'activité de la caspase 3 n'a été observée et l'utilisation d'un inhibiteur de cette caspase n'a pas permis de réduire la protéolyse, ce qui a amené les auteurs à conclure que la caspase 3 n'était pas impliquée dans la protéolyse lors de cette condition (Wei *et al.* 2005). Jusqu'à maintenant les résultats rapportés appuient pour certaines conditions l'implication de ce système. Par contre, son implication ne semble pas significative dans tous les cas et pourrait bien dépendre du type de muscle et de la durée du traitement.

Finalement, il importe de mentionner que les calpaïnes et les caspases peuvent s'influencer via une communication croisée (« cross talk ») puisque la calpastatine est un substrat des calpaïnes, mais aussi de la caspase 3 (Goll *et al.* 2003; Powers *et al.* 2007).

Une augmentation de la caspase 3 ou des calpaïnes diminuerait l'activité de la calpastatine et favoriserait l'activation des calpaïnes (Powers *et al.* 2007). Il a été démontré chez deux types de cellules que la calpastatine est dégradée lors de l'apoptose, que sa fragmentation précède la mort cellulaire et que cette dégradation serait due à l'action des caspases 1 et 3 (Wang *et al.* 1998). Un effet des caspases via son action sur la calpastatine a d'ailleurs été suggéré par des travaux chez des agneaux porteurs ou non du gène callipyge (Kemp *et al.* 2009). De plus, une augmentation de l'activité des calpaïnes pourrait favoriser l'activation des caspases (voir Figure 1.12) ou bien engendrer leur dégradation et inactivation (Goll *et al.* 2003; Powers *et al.* 2007).

En se basant sur les données disponibles sur l'activité enzymatique lors de la maturation de la viande ou lors de l'atrophie musculaire, il est scientifiquement justifiable de considérer que la protéolyse postmortem puisse impliquer différents systèmes enzymatiques.

La littérature présentée dans cette section démontre bien que plusieurs facteurs ont des impacts sur la tendreté et l'attendrissement de la viande. Le développement de la tendreté et la compréhension des facteurs et du processus impliqués sont très complexes, puisque ces différents facteurs peuvent interagir et influencer conjointement ou de manière contraire la tendreté. Dans une perspective de pratiques postabattage, l'influence du collagène semble mineure tandis que l'état de contraction et le processus d'attendrissement jouent un rôle primordial et pourront grandement être affectés, voire même manipulés. Cette possibilité représente donc une opportunité d'améliorer la tendreté du produit; opportunité que certains pays ont saisie.

1.3 La stimulation électrique et l'amélioration de la tendreté

En cherchant à développer des techniques simples, rapides et efficaces pour améliorer la tendreté des viandes, les chercheurs ont découvert que la stimulation électrique (ES) des carcasses était un moyen fort intéressant d'y parvenir. En effet, l'application d'un courant électrique à une carcasse provoque des contractions musculaires qui engendrent une chute rapide du pH due à l'utilisation des réserves énergétiques en anaérobie (Hwang *et*

al. 2003; Devine *et al.* 2006). Cette utilisation plus hâtive des réserves énergétiques permet d'accélérer l'atteinte du rigor mortis, et conséquemment de réduire les risques de « cold shortening », en plus de devancer la période d'attendrissement (Simmons *et al.* 2008). Bien que la technique soit connue depuis plus de 50 ans, on observe, dans la littérature, une grande variation des réponses, notamment en fonction des diverses conditions d'expérimentation (Chrystall et Devine 1985). En fait, il semble que les mécanismes impliqués dans l'amélioration de la tendreté lors de la stimulation électrique ne soient pas complètement élucidés (Hwang *et al.* 2003). L'impact de la stimulation électrique sur la tendreté pourrait être dû à la prévention du « cold shortening », à l'altération physique des fibres musculaires et/ou à un effet sur la protéolyse musculaire.

1.3.1 Prévention du « cold shortening »

Au cours des années 70, la stimulation électrique a été utilisée en Nouvelle-Zélande afin de prévenir le « cold shortening » subit par des carcasses refroidies extrêmement rapidement à des fins d'exportation (Chrystall et Devine 1985). L'accélération de la glycolyse engendrée par ce traitement permet d'épuiser une bonne partie des réserves énergétiques, ce qui se traduit par la chute rapide du pH. De cette manière, lorsque la carcasse atteint une température ne permettant plus une séquestration adéquate du calcium, les réserves énergétiques sont déjà trop faibles pour causer une contraction musculaire. En réduisant le risque de contraction, la ES pourrait donc améliorer la tendreté de la viande puisqu'il y semble y avoir une certaine relation entre la contraction, la longueur des sarcomères et la tendreté (Herring *et al.* 1965; Marsh et Leet 1966; Herring *et al.* 1967; Wheeler et Koohmaraie 1994). De manière générale, il est admis que les carcasses ne doivent pas atteindre une température inférieure à 10 °C avant que le pH ne soit de 6 unités (Devine *et al.* 2004; Simmons *et al.* 2008). En pratique, il a été démontré que la ES améliore la tendreté de la viande des carcasses soumises à des conditions causant normalement le « cold shortening » (Davey *et al.* 1976). Toutefois, dans cette étude souvent citée, la longueur des sarcomères n'était pas mesurée, le « cold shortening » faisant plutôt référence aux chutes de température rapide, à la possibilité de contraction et finalement à la dureté supérieure. En fait, il y a moins d'articles qu'on pourrait le croire qui ont réellement

observé un impact de la ES sur la longueur des sarcomères. Il a tout de même été rapporté que la ES engendre des sarcomères plus longs et une viande plus tendre chez l'agneau (Geesink *et al.* 2001a), le bison (Janz *et al.* 2001) et le veau (Eikelenboom et Smulders 1986). D'autres études menées sur différentes espèces ont également observé une tendreté supérieure de la viande provenant des carcasses stimulées comparativement à celles non stimulées, et ce, sans qu'il y ait une différence dans la longueur des sarcomères (Uytterhaegen *et al.* 1992; Wiklund *et al.* 2001; Hollung *et al.* 2007; Pearce *et al.* 2009). D'ailleurs, diverses études ont démontré que la stimulation électrique a un impact sur la tendreté lorsque les conditions ne favorisent pas la contraction due au froid (Uytterhaegen *et al.* 1992; Devine *et al.* 2006). D'autres facteurs sont donc impliqués afin d'expliquer l'impact de la stimulation électrique sur la tendreté.

1.3.2 Altération physique des fibres musculaires

Outre son impact bénéfique dans la prévention du raccourcissement musculaire dû au froid, la stimulation électrique engendrerait une altération physique des fibres musculaires. En effet, des zones de contractions et d'étirements ont été observées sur des myofibrilles suite à l'application de traitements de stimulation électrique utilisant un voltage supérieur à 200 V (Takahashi *et al.* 1984; Takahashi *et al.* 1987a; Ho *et al.* 1996). De plus, des fractures de certaines structures des myofibrilles ont également été notées (Takahashi *et al.* 1984; Ho *et al.* 1996). Il semble donc y avoir une altération physique des fibres suite à la stimulation électrique. Toutefois, il n'a pas été possible, jusqu'à maintenant, de comprendre si cette altération influence directement la tendreté de la viande ou bien si elle favorise l'action des enzymes en facilitant leur accès aux substrats (Hwang *et al.* 2003; Devine *et al.* 2004). Ces zones de contractions et d'étirements seraient le résultat de très fortes contractions localisées, provoquées par un relâchement important du calcium, également reconnu pour activer la protéolyse musculaire (Hwang *et al.* 2003). Il est donc difficile de préciser le rôle exact de l'altération physique.

1.3.3 Impact sur la protéolyse

La stimulation électrique pourrait également avoir un impact sur la tendreté de la viande en influençant la protéolyse. En accélérant la chute du pH, la stimulation électrique permettrait au muscle d'atteindre le rigor mortis plus rapidement. Comme la maturation de la viande semble débiter près du rigor mortis, pendant la période pré-rigor (Dransfield 1994b; Devine *et al.* 1999), le processus d'attendrissement serait devancé pour les carcasses stimulées (Simmons *et al.* 2008). De plus, l'attendrissement débiterait à une température supérieure, ce qui favoriserait l'activité des systèmes enzymatiques et causerait un attendrissement plus rapide de la viande (Morton *et al.* 1999; Hwang et Thompson 2001a; Devine *et al.* 2006).

Il a été montré que la stimulation électrique favorise une dégradation plus rapide de certaines protéines myofibrillaires et du cytosquelette (Uytterhaegen *et al.* 1992; Ho *et al.* 1996). Or, l'attendrissement normal de la viande au cours de la maturation est principalement dû à la dégradation de ces protéines qui a pour effet de fragiliser les fibres musculaires (Koohmaraie 1994; Taylor *et al.* 1995a; Hopkins et Taylor 2004). Puisque de nombreuses évidences indiquent que cette protéolyse est principalement de nature enzymatique et que le système calpaïnes/calpastatine joue un rôle primordial (Dransfield 1993; Koohmaraie 1994; Geesink *et al.* 2006), il a été suggéré que la stimulation électrique puisse influencer l'activité du système calpaïnes/calpastatine via une augmentation du calcium sarcoplasmique et/ou via les conditions de pH et de température qu'elle engendre (Hwang *et al.* 2003). Il est intéressant de noter qu'une protéolyse plus rapide a été observée chez le muscle *LD* dont la glycolyse était rapide comparativement au même muscle dont la glycolyse était plus lente (O'Halloran *et al.* 1997a; O'Halloran *et al.* 1997b) et que l'activité de la μ -calpaïne y était plus importante tandis que celle de la calpastatine (inhibiteur des calpaïnes) y était réduite (Ouali et Talmant 1990; O'Halloran *et al.* 1997b; Sazili *et al.* 2005). Or, comme la stimulation induit une glycolyse plus rapide, elle pourrait donc agir sur l'activité de ces enzymes. Plusieurs études ont montré que la stimulation électrique a un effet sur l'activité de la μ -calpaïne et de la calpastatine (Dransfield *et al.* 1992a; Uytterhaegen *et al.* 1992; Hwang et Thompson 2001a; Hwang et Thompson 2001b). Par contre, ces résultats sont souvent contradictoires puisque pour certains, l'activité de la μ -calpaïne est favorisée tandis que pour d'autres elle diminue rapidement suite au traitement

(Uytterhaegen *et al.* 1992; Lee *et al.* 2000; Hwang et Thompson 2001a). Ces divergences sont probablement le résultat de chutes de pH et de température très différentes qui affectent l'activité de ce système. En effet, les conditions de pH et de température sont très importantes pour l'activité des calpaïnes (Dransfield *et al.* 1992a; Dransfield *et al.* 1992b). Si le pH chute trop rapidement et que la température est toujours élevée, il y aura une diminution rapide de l'activité de la μ -calpaïne, ce qui produira une viande plus dure (Simmons *et al.* 1996; Geesink *et al.* 2000). Par contre, lorsque la stimulation est adéquate, l'activité pourrait être importante et la viande s'attendrira plus rapidement. D'ailleurs, selon Shaw *et al.* (2005), la stimulation produit, suite à une maturation de cinq jours, une viande de tendreté équivalente à celle non stimulée, maturée pendant dix jours. Il a aussi été démontré que la stimulation électrique améliore la tendreté suite à une période de maturation aussi courte que deux jours (Polidori *et al.* 1999; Shaw *et al.* 2005).

1.3.4 Importance majeure du couplage pH-température

Le pH et la température ont un impact sur plusieurs paramètres susceptibles d'influer sur la tendreté tels que le « cold shortening », la protéolyse et la dénaturation des protéines. Le contrôle de leurs chutes représente donc une opportunité intéressante afin d'optimiser la qualité de la viande produite, et ce, pour divers marchés (Simmons *et al.* 2006). En effet, les conditions requises en termes de pH et de température seront différentes selon le marché pour lequel la viande est destinée, que ce soit la congélation, la consommation rapide sur le marché local ou bien l'exportation sous forme fraîche (Thompson *et al.* 2005; Simmons *et al.* 2006). En Australie, le programme Meat Standard Australia (MSA) recommande, en se basant sur les travaux de Thompson *et al.* (2005), que le pH 6,0 soit atteint entre 18 et 25 °C (Toohey *et al.* 2008), ce qui permet d'obtenir une tendreté optimale de la viande. Lorsque le pH 6,0 est atteint à ces températures, le « cold shortening » serait évité et l'attendrissement favorisé. Toutefois, le suivi de carcasses d'agneaux dans trois abattoirs australiens durant 12 mois a montré que seulement 18,8 % des carcasses se retrouvent à pH 6,0 dans cette fenêtre de température (Toohey *et al.* 2006). La stimulation électrique est une procédure très répandue lors de l'abattage des ovins en Australie et en Nouvelle-Zélande et elle pourrait permettre à un plus grand nombre de

carcasses d'atteindre le pH 6,0 entre 18 et 25 °C (Simmons *et al.* 2008; Pearce *et al.* 2009). Des études australiennes ont rapporté que 43 et 20 % des carcasses stimulées atteignaient le pH 6.0 dans la fenêtre de 18 à 25 °C (Pearce *et al.* 2006; Toohey *et al.* 2008). La fenêtre de température pour l'atteinte du pH 6,0 a depuis été revue à la hausse, soit 18 à 35 °C (Pearce *et al.* 2010). L'utilisation d'un système de stimulation à moyen voltage a permis à 68 % des carcasses d'atteindre cet objectif (Toohey *et al.* 2008).

1.3.5 Impacts sur les autres paramètres de qualité

Puisqu'elle a un impact sur le couple pH-température, la stimulation électrique est susceptible d'influencer plusieurs paramètres de qualité de la viande. Une stimulation trop importante peut causer une chute très rapide du pH alors que la température est élevée et ainsi produire une viande dont les caractéristiques se rapprochent de la viande PSE (Simmons *et al.* 2008). En effet, sous de telles conditions de pH et de température, il peut y avoir une dénaturation des protéines qui cause une augmentation des pertes en eau et qui produit une viande de couleur plus claire (Penny 1977; Offer 1991). Il s'agit bien sûr de conditions extrêmes qui ne sont normalement pas rencontrées lorsque la stimulation permet une chute du pH et de la température adéquate. Toutefois, il arrive tout de même, dans des conditions moins extrêmes, que la stimulation cause une augmentation de la perte en eau (den Hertog-Meischke *et al.* 1997) et de la perte à la cuisson (Lewis et Babiker 1983), mais ce n'est pas nécessairement le cas (Wiklund *et al.* 2008). La stimulation peut aussi avoir un impact sur la couleur de la viande. Certaines études ont observé une viande d'agneau plus claire et rouge de même qu'une augmentation des paramètres de couleur L* (luminosité), a* (vert-rouge) et b* (bleu-jaune) suite à la stimulation (Riley *et al.* 1981; Kerth *et al.* 1999; Warner *et al.* 2005). Ces impacts sur la couleur pourrait être dus à une meilleure oxygénation de la surface de la viande (Simmons *et al.* 2008) qui pourrait résulter des dommages causés par la ES aux enzymes impliqués dans la consommation d'oxygène (Ledward 1992). Il est toutefois difficile de tirer des généralités quant à l'effet de la stimulation sur la jutosité, la couleur et la flaveur, puisque les résultats sont variables d'une étude à l'autre. Par exemple, Shaw *et al.* (2005) ont montré que la jutosité, la couleur et la flaveur peuvent effectivement être influencées par la stimulation électrique alors que les

résultats obtenus par Hopkins *et al.* (2005) n'ont pas permis de corroborer cette information.

1.3.6 Différentes méthodes de stimulation

Lorsqu'il est question de stimulation électrique, de nombreux paramètres peuvent varier d'un système à l'autre, notamment la tension électrique, l'intensité du courant, la fréquence et la largeur d'impulsion (pour revues voir Devine *et al.* 2004; Simmons *et al.* 2006; Simmons *et al.* 2008). Historiquement, c'est la tension qui a reçu le plus d'attention. Des systèmes à haut et à bas voltages ont d'abord fait leur apparition. Lorsque la stimulation à bas voltage est utilisée (normalement ≤ 100 V), elle doit être appliquée rapidement suite à la mort de l'animal puisque le système nerveux doit être fonctionnel pour que ce type de stimulation soit efficace (Morton et Newbold 1982). Cette dernière a l'avantage de ne pas être dangereuse pour l'utilisateur. Par contre, le pH mesuré immédiatement après la stimulation et sa chute subséquente sont variables (Simmons *et al.* 2008). À l'opposé, la stimulation à haut voltage (jusqu'à 1143 V) peut être appliquée plus tard sur la chaîne d'abattage puisque son action passe par l'induction directe de la dépolarisation membranaire (Morton et Newbold 1982). La tension utilisée est toutefois potentiellement mortelle pour les travailleurs qui emploient l'appareil. Une zone de protection entre le travailleur et l'aire de stimulation des carcasses doit donc être aménagée. La chute du pH est plutôt constante entre les carcasses, par contre le risque de trop stimuler (pH trop faible alors que la température est élevée) est important (Simmons *et al.* 2008). En Australie, un système à moyen voltage a récemment été développé afin de pouvoir stimuler les carcasses en fin de chaîne tout en étant sécuritaire pour les employés (Shaw *et al.* 2005; Pearce *et al.* 2006). Ce système à intensité constante modifie la tension qu'il génère en fonction de la résistance de chacune des carcasses (Pearce *et al.* 2006). Différentes largeurs d'impulsion et intensités de courant ont été testées afin d'optimiser ce système (Pearce *et al.* 2006) puisque l'intensité du courant peut avoir un impact sur la réponse des carcasses à la stimulation. Si la stimulation est appliquée rapidement suivant la mort de l'animal, 50 mA suffiront à induire des contractions musculaires et l'intensité des contractions ne sera que très peu influencée par l'intensité du courant (Simmons *et al.* 2008). Au contraire, si la

stimulation est appliquée avant l'entrée en chambre froide, la réponse dépendra fortement de l'intensité du courant (Simmons *et al.* 2008). Jusqu'à maintenant, les meilleurs résultats en termes de réponse désirée (température à pH 6,0) ont été obtenus avec ce système lorsque l'intensité était de 1 A, la largeur d'impulsion de 2,5 ms et la fréquence de 15 Hz (Pearce *et al.* 2006; Pearce *et al.* 2009). C'est d'ailleurs sous une fréquence comprise entre 9 et 16 Hz que la chute du pH serait la plus importante suite à une stimulation électrique (Devine *et al.* 2004). De nombreux systèmes emploient une fréquence de 15 Hz. En augmentant la fréquence, on diminue l'intervalle entre les pulsations. Si la fréquence devient trop élevée, cet intervalle est plus court que le temps nécessaire au tissu pour sortir de sa phase réfractaire, phase pendant laquelle le muscle ne répond plus à la stimulation (Simmons *et al.* 2006). Le tissu ne peut donc plus répondre à cette élévation de la fréquence. Outre les différents paramètres de stimulation électrique, ce qui complique l'utilisation de cette technologie c'est que sous les mêmes conditions de stimulation, les carcasses peuvent réagir différemment au traitement en terme de contraction et de chute du pH en raison de différences de taille et de caractéristiques métaboliques des fibres musculaires qui les composent (Simmons *et al.* 2008). Afin de contrer ce problème, le système de stimulation nommé « Smart Stimulation » a été mis au point. Ce système tient compte de la chute réelle du pH des carcasses et ajuste la stimulation en conséquence afin d'atteindre le pH désiré (Simmons *et al.* 2006).

1.4 Conclusion générale, objectifs et hypothèses de recherche

1.4.1 Conclusion générale

Tel que mentionné en introduction, la tendreté de la viande est un paramètre de première importance lorsqu'il est question de qualité organoleptique. La présente revue de la littérature permet de mieux comprendre la multitude de facteurs qui peuvent affecter et définir la tendreté de la viande. Parmi ces facteurs, l'état de contraction lors de l'établissement du rigor mortis et l'attendrissement que subit la viande durant la période postmortem sont les plus susceptibles d'influencer la tendreté du produit. Une bonne maîtrise des pratiques postabattage pourrait permettre de mieux contrôler ces facteurs et

ainsi favoriser la tendreté de la viande. De plus, ce maillon a une position-clé dans la chaîne de production puisqu'il s'agit d'un passage obligé pour les agneaux commerciaux et qu'il n'y a qu'un petit nombre d'abattoir. Il est possible que les pratiques actuelles en abattoir (refroidissement rapide et absence de maturation) ne favorisent pas l'expression du plein potentiel de tendreté de l'agneau du Québec. De par ses effets potentiels sur l'état de contraction et l'attendrissement, la stimulation électrique des carcasses pourrait s'avérer la technologie la plus susceptible d'améliorer la tendreté de l'agneau lourd du Québec, voire même améliorer l'ensemble des caractéristiques organoleptiques.

Les recherches menées au cours de cette thèse sont axées sur l'utilisation et la compréhension des traitements postabattage et des événements postmortem afin d'optimiser la qualité de la viande d'agneau lourd produite au Québec. Ce champ de recherche est fort intéressant puisque ces événements sont inévitables et déterminants pour tous les animaux destinés à la production de viande. Des avancées dans ce domaine pourraient rapidement avoir un impact sur l'ensemble de l'industrie ovine.

1.4.2 Objectifs

Le premier objectif de cette thèse était de déterminer si les pratiques postabattage actuelles permettent à la viande d'agneau du Québec d'exprimer son plein potentiel en termes de qualité organoleptique et particulièrement de tendreté.

Le second objectif était de déterminer l'impact de la stimulation électrique et de la maturation sur les différents paramètres de qualité organoleptique, mais plus particulièrement sur la tendreté de l'agneau du Québec.

Le troisième objectif était d'optimiser et de comprendre de quelle manière la stimulation électrique et le refroidissement affectent la qualité de la viande.

Le dernier objectif était d'étudier les événements postmortem qui se produisent et qui sont responsables de l'attendrissement de la viande d'agneau. Plus précisément, l'objectif était de déterminer la dynamique de protéolyse de protéines reliées à la tendreté de la viande et l'action de certaines protéases.

Dans ce contexte, le premier article répond aux objectifs un et deux, le deuxième article aux objectifs deux et trois et le troisième article à l'objectif quatre.

1.4.3 Hypothèses

Les différentes hypothèses de recherche sont :

- Les carcasses d'agneau lourd sont refroidies trop rapidement au Québec et elles sont sujettes au phénomène de « cold shortening »;
- La stimulation électrique ainsi que la maturation pourraient grandement améliorer la tendreté de la viande d'agneau produite au Québec;
- Il y a une fenêtre de température idéale pour que les carcasses atteignent le pH 6.0 (18 à 25°C) qui favorise la tendreté de la viande en minimisant la contraction musculaire et en favorisant la protéolyse;
- L'attendrissement de la viande est causé par l'action synergétique des calpaïnes et des caspases.

1.5 Références

Ahn, D.H., Shimada, K. et Takahashi, K. 2003. Relationship between weakening of Z-disks and liberation of phospholipids during postmortem aging of pork and beef. *J. Food Sci.* 68: 94-98.

Ahnström, M.L., Hunt, M.C. et Lundström, K. 2012. Effects of pelvic suspension of beef carcasses on quality and physical traits of five muscles from four gender-age groups. *Meat Sci.* 90: 528-535.

Alnemri, E.S., Livingston, D.J., Nicholson, D.W., Salvesen, G., Thornberry, N.A., Wong, W.W. et Yuan, J. 1996. Human ICE/CED-3 protease nomenclature. *Cell* 87: 171.

Anderson, M.J., Lonergan, S.M. et Huff-Lonergan, E. 2012. Myosin light chain 1 release from myofibrillar fraction during postmortem aging is a potential indicator of proteolysis and tenderness of beef. *Meat Sci.* 90: 345-351.

Anderson, T.J. et Parrish, F.C. 1989. Postmortem degradation of titin and nebulin of beef steaks varying in tenderness. *J. Food Sci.* 54: 748-749.

- April, E.W., Brandt, P.W. et Elliott, G.F. 1972. The myofilament lattice: studies on isolated fibers. *J. Cell. Biol.* 53: 53-65.
- Ashmore, C.R. et Doerr, L. 1971. Comparative aspects of muscle fiber types in different species. *Exp. Neurol.* 31: 408-418.
- Baba-Khelil, A. et Flis, M. 2013. Profil du consommateur d'agneau du Québec: les grands constats du sondage. *Ovin Québec* 13: 16-17.
- Bailey, A.J. et Light, N. 1989. *Connective tissue in meat and meat products*. Elsevier science publisher, New York, NY, 355 p.
- Bandman, E. et Zdanis, D. 1988. An immunological method to assess protein degradation in post-mortem muscle. *Meat Sci.* 22: 1-19.
- Bartoli, M. et Richard, I. 2005. Calpains in muscle wasting. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 37: 2115-2133.
- Bate-Smith, E.C. 1948. The physiology and chemistry of rigor mortis, with special reference to the aging of beef. *Adv. Food Res.* 1: 1.
- Bechet, D., Tassa, A., Taillandier, D., Combaret, L. et Attaix, D. 2005. Lysosomal proteolysis in skeletal muscle. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 37: 2098-2114.
- Belizario, J.E., Lorite, M.J. et Tisdale, M.J. 2001. Cleavage of caspases-1, -3, -6, -8 and -9 substrates by proteases in skeletal muscles from mice undergoing cancer cachexia. *Br. J. Cancer* 84: 1135-1140.
- Bendall, J.R. 1972. Consumption of oxygen by the muscles of beef animals and related species, and its effects on the colour of meat I. Oxygen consumption in pre-rigor muscle. *J. Sci. Food Agric.* 23: 61-72.
- Bernard, C., Cassar-Malek, I., LeCunff, M., Dubroeuq, H., Renand, G. et Hocquette, J.-F. 2007. New Indicators of Beef Sensory Quality Revealed by Expression of Specific Genes. *J. Agric. Food Chem.* 55: 5229-5237.
- Berthon, P., Duguez, S., Favier, F.B., Amirouche, A., Feasson, L., Vico, L., Denis, C. et Freyssenet, D. 2007. Regulation of ubiquitin-proteasome system, caspase enzyme activities, and extracellular proteinases in rat soleus muscle in response to unloading. *Pflugers Arch.* 454: 625-633.
- Bird, J.W., Schwartz, W.N. et Spanier, A.M. 1977. Degradation of myofibrillar proteins by cathepsins B and D. *Acta Biol. Med. Ger.* 36: 1587-1604.
- Bjarnadóttir, S.a.G.n., Hollung, K., Færgestad, E.M. et Veiseth-Kent, E. 2010. Proteome changes in bovine longissimus thoracis muscle during the first 48 h postmortem: shifts in energy status and myofibrillar stability. *J. Agric. Food Chem.* 58: 7408-7414.
- Bodine, S.C., Latres, E., Baumhueter, S., Lai, V.K., Nunez, L., Clarke, B.A., Poueymirou, W.T., Panaro, F.J., Na, E., Dharmarajan, K., Pan, Z.Q., Valenzuela, D.M., DeChiara, T.M., Stitt, T.N., Yancopoulos, G.D. et Glass, D.J. 2001. Identification of ubiquitin ligases required for skeletal muscle atrophy. *Science* 294: 1704-1708.

- Boehm, M.L., Kendall, T.L., Thompson, V.F. et Goll, D.E. 1998. Changes in the calpains and calpastatin during postmortem storage of bovine muscle. *J. Anim. Sci.* 76: 2415-2434.
- Bossola, M., Mirabella, M., Ricci, E., Costelli, P., Pacelli, F., Tortorelli, A.P., Muscaritoli, M., Rossi Fanelli, F., Baccino, F.M., Tonali, P.A. et Doglietto, G.B. 2006. Skeletal muscle apoptosis is not increased in gastric cancer patients with mild-moderate weight loss. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 38: 1561-1570.
- Bouton, P.E., Harris, P.V. et Shorthose, W.R. 1972. The effect of ultimate pH on ovine muscle: mechanical properties. *J. Food Sci.* 37: 356-360.
- Briand, M., Talmant, A., Briand, Y., Monin, G. et Durand, R. 1981a. Metabolic types of muscle in the sheep: I. Myosin ATPase, glycolytic, and mitochondrial enzyme activities. *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.* 46: 347-358.
- Briand, M., Talmant, A., Briand, Y., Monin, G. et Durand, R. 1981b. Metabolic types of muscle in the sheep: II. Lactate dehydrogenase activity and LDH isoenzyme distribution. *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.* 46: 359-365.
- Brooke, M.H. et Kaiser, K.K. 1970. Muscle fiber types: How many and what kind. *Arch. Neurol.* 23: 369-379.
- Camou, J.P., Marchello, J.A., Thompson, V.F., Mares, S.W. et Goll, D.E. 2007. Effect of postmortem storage on activity of μ - and m-calpain in five bovine muscles. *J. Anim. Sci.* 85: 2670-2681.
- Cao, J., Sun, W., Zhou, G., Xu, X., Peng, Z. et Hu, Z. 2010. Morphological and biochemical assessment of apoptosis in different skeletal muscles of bulls during conditioning. *J. Anim. Sci.* 88: 3439-3444.
- Capetanaki, Y., Bloch, R.J., Kouloumenta, A., Mavroidis, M. et Psarras, S. 2007. Muscle intermediate filaments and their links to membranes and membranous organelles. *Exp. Cell Res.* 313: 2063-2076.
- Chen, Y.W., Gregory, C.M., Scarborough, M.T., Shi, R., Walter, G.A. et Vandenborne, K. 2007. Transcriptional pathways associated with skeletal muscle disuse atrophy in humans. *Physiol. Genomics* 31: 510-520.
- Chrystall, B.B. et Devine, C.E. 1985. Electrical stimulation: Its early development in New Zealand. Pages 73-119 dans *Advances in meat research: Electrical Stimulation*. A. M. Pearson and T. R. Dutson (éds.). AVI publishing company, inc., Westport, CT.
- Clark, K.A., McElhinny, A.S., Beckerle, M.C. et Gregorio, C.C. 2002. Striated muscle cytoarchitecture: An intricate web of form and function. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 18: 637-706.
- Comité recherche et santé du CEPOQ. 2010. Besoins et opportunités de recherche en production ovine. 2010-2014. CEPOQ [En ligne]. Disponible à l'adresse: http://www.cepoq.com/admin/useruploads/files/besoins_et_opportunités_de_recherches.pdf (Page consultée le 5 juin 2012).
- Costelli, P., Tullio, R.D., Baccino, F.M. et Melloni, E. 2001. Activation of Ca(2+)-dependent proteolysis in skeletal muscle and heart in cancer cachexia. *Br. J. Cancer* 84: 946-950.

- Coux, O., Tanaka, K. et Goldberg, A.L. 1996. Structure and functions of the 20S and 26S proteasomes. *Annu. Rev. Biochem.* 65: 801-847.
- Cross, H.R., Schanbacher, B.D. et Crouse, J.D. 1984. Sex, age breed related changes in bovine testosterone and intramuscular collagen. *Meat Sci.* 10: 187-195.
- Currie, R.W. et Wolfe, F.H. 1980. Rigor related changes in mechanical properties (tensile and adhesive) and extracellular space in beef muscle. *Meat Sci.* 4: 123-143.
- Currie, R.W. et Wolfe, F.H. 1983. An assessment of extracellular space measurements in post-mortem muscle. *Meat Sci.* 8: 147-161.
- Dargelos, E., Poussard, S., Brule, C., Daury, L. et Cottin, P. 2008. Calcium-dependent proteolytic system and muscle dysfunctions: A possible role of calpains in sarcopenia. *Biochimie* 90: 359-368.
- Davey, C.L. et Dickson, M.R. 1970. Studies in meat tenderness 8. Ultra-structural changes in meat during ageing. *J. Food Sci.* 35: 56-60.
- Davey, C.L. et Gilbert, K.V. 1968. Studies in meat tenderness. 4. Changes in the extractability of myofibrillar proteins during meat aging. *J. Food Sci.* 33: 2-7.
- Davey, C.L. et Gilbert, K.V. 1976. Thaw contracture and the disappearance of adenosinetriphosphate in frozen lamb. *J. Sci. Food Agric.* 27: 1085-1092.
- Davey, C.L., Gilbert, K.V. et Carse, W.A. 1976. Carcass electrical stimulation to prevent cold shortening toughness in beef. *N.Z. J. Agric. Res.* 19: 13-18.
- Dayton, W.R., Reville, W.J., Goll, D.E. et Stromer, M.H. 1976. A Ca^{2+} -activated protease possibly involved in myofibrillar protein turnover. Partial characterization of the purified enzyme. *Biochemistry* 15: 2159-2167.
- Delgado, E.F., Geesink, G.H., Marchello, J.A., Goll, D.E. et Koohmaraie, M. 2001. The calpain system in three muscles of normal and callipyge sheep. *J. Anim. Sci.* 79: 398-412.
- den Hertog-Meischke, M.J., Smulders, F.J., Van Logtestijn, J.G. et van Knapen, F. 1997. The effect of electrical stimulation on the water-holding capacity and protein denaturation of two bovine muscles. *J. Anim. Sci.* 75: 118-124.
- Deval, C., Mordier, S., Obled, C., Bechet, D., Combaret, L., Attaix, D. et Ferrara, M. 2001. Identification of cathepsin L as a differentially expressed message associated with skeletal muscle wasting. *Biochem. J.* 360: 143-150.
- Devine, C.E. 2004. Conversion of muscle to meat : Ageing. Pages 330-338 dans *Encyclopedia of meat sciences*. W. Jensen, C. Devine and M. Dikeman (éds.). Elsevier Academic Press, Oxford, UK.
- Devine, C.E., Hopkins, D.L., Hwang, I.H., Ferguson, D.M. et Richards, I. 2004. Electrical stimulation. Pages 413-423 dans *Encyclopedia of Meat Sciences*. W. Jensen, C. Devine and M. Dikeman (éds.). Elsevier Academic Press, Oxford, UK.

Devine, C.E., Lowe, T.E., Wells, R.W., Edwards, N.J., Hocking Edwards, J.E., Starbuck, T.J. et Speck, P.A. 2006. Pre-slaughter stress arising from on-farm handling and its interactions with electrical stimulation on tenderness of lambs. *Meat Sci.* 73: 304-312.

Devine, C.E., Payne, S.R., Peachey, B.M., Lowe, T.E., Ingram, J.R. et Cook, C.J. 2002. High and low rigor temperature effects on sheep meat tenderness and ageing. *Meat Sci.* 60: 141-146.

Devine, C.E., Wahlgren, N.M. et Tornberg, E. 1999. Effect of rigor temperature on muscle shortening and tenderisation of restrained and unrestrained beef m. longissimus thoracicus et lumborum. *Meat Sci.* 51: 61-72.

dos Remedios, C.G. et Moens, P.D. 1995. Actin and the actomyosin interface: a review. *Biochim. Biophys. Acta* 1228: 99-124.

Dragomir, L. 2005. Influence de la race, du sexe et du poids d'abattage sur la qualité de la viande d'agneau lourd. Mémoire de maîtrise, Université Laval, Québec, QC.

Dransfield, E. 1977. Intramuscular composition and texture of beef muscles. *J. Sci. Food Agric.* 28: 833-842.

Dransfield, E. 1992. Modelling post-mortem tenderisation-III: Role of calpain I in conditioning. *Meat Sci.* 31: 85-94.

Dransfield, E. 1993. Modelling post-mortem tenderisation-IV: Role of calpains and calpastatin in conditioning. *Meat Sci.* 34: 217-234.

Dransfield, E. 1994a. Modelling post-mortem tenderisation-V: Inactivation of calpains. *Meat Sci.* 37: 391-409.

Dransfield, E. 1994b. Optimisation of tenderisation, ageing and tenderness. *Meat Sci.* 36: 105-121.

Dransfield, E., Etherington, D.J. et Taylor, M.A.J. 1992a. Modelling post-mortem tenderisation - II: Enzyme changes during storage of electrically stimulated and non-stimulated beef. *Meat Sci.* 31: 75-84.

Dransfield, E., Jones, R.C.D. et MacFie, H.J.H. 1981. Tenderising in M. longissimus dorsi of beef, veal, rabbit, lamb and pork. *Meat Sci.* 5: 139-147.

Dransfield, E., Wakefield, D.K. et Parkman, I.D. 1992b. Modelling post-mortem tenderisation - I: Texture of electrically stimulated and non-stimulated beef. *Meat Sci.* 31: 57-73.

Du, J., Hu, Z. et Mitch, W.E. 2005. Molecular mechanisms activating muscle protein degradation in chronic kidney disease and other catabolic conditions. *Eur. J. Clin. Invest.* 35: 157-163.

Du, J., Wang, X., Miereles, C., Bailey, J.L., Debigare, R., Zheng, B., Price, S.R. et Mitch, W.E. 2004. Activation of caspase-3 is an initial step triggering accelerated muscle proteolysis in catabolic conditions. *J. Clin. Invest.* 113: 115-123.

Dufour, E. et Renou, J.P. 2002. Propriétés structurantes de l'eau dans les produits à structure cellulaire. Muscle, viande et produits carnés. Pages 159-188 dans *L'eau dans les aliments*. M. Le Meste, D. Lorient and D. Simatos (éds.). Tec & Doc, Paris, FR.

- Dutaud, D., Aubry, L., Guignot, F., Vignon, X., Monin, G. et Ouali, A. 2006a. Bovine muscle 20S proteasome. II: Contribution of the 20S proteasome to meat tenderization as revealed by an ultrastructural approach. *Meat Sci.* 74: 337-344.
- Dutaud, D., Aubry, L., Sentandreu, M.A. et Ouali, A. 2006b. Bovine muscle 20S proteasome: I. Simple purification procedure and enzymatic characterization in relation with postmortem conditions. *Meat Sci.* 74: 327-336.
- Eikelenboom, G. et Smulders, F.J.M. 1986. Effect of electrical stimulation on veal quality. *Meat Sci.* 16: 103-112.
- England, E.M., Fisher, K.D., Wells, S.J., Mohrhauser, D.A., Gerrard, D.E. et Weaver, A.D. 2012. Postmortem titin proteolysis is influenced by sarcomere length in bovine muscle. *J. Anim. Sci.* 90: 989-995.
- England, E.M., Matarneh, S.K., Scheffler, T.L., Wacht, C. et Gerrard, D.E. 2014. pH inactivation of phosphofructokinase arrests postmortem glycolysis. *Meat Sci.* 98: 850-857.
- Enns, D.L. et Belcastro, A.N. 2006. Early activation and redistribution of calpain activity in skeletal muscle during hindlimb unweighting and reweighting. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 84: 601-609.
- Enns, D.L., Raastad, T., Ugelstad, I. et Belcastro, A.N. 2007. Calpain/calpastatin activities and substrate depletion patterns during hindlimb unweighting and reweighting in skeletal muscle. *Eur. J. Appl. Physiol.* 100: 445-455.
- Fareed, M.U., Evenson, A.R., Wei, W., Menconi, M., Poylin, V., Petkova, V., Pignol, B. et Hasselgren, P.O. 2006. Treatment of rats with calpain inhibitors prevents sepsis-induced muscle proteolysis independent of atrogin-1/MAFbx and MuRF1 expression. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 290: 1589-1597.
- Ferguson, D.M. et Gerrard, D.E. 2014. Regulation of post-mortem glycolysis in ruminant muscle. *Anim. Prod. Sci.* 54: 464-481.
- Fischer, U., Janicke, R.U. et Schulze-Osthoff, K. 2003. Many cuts to ruin: a comprehensive update of caspase substrates. *Cell Death Differ.* 10: 76-100.
- Franch, H.A. et Price, S.R. 2005. Molecular signaling pathways regulating muscle proteolysis during atrophy. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 8: 271-275.
- Fraterman, S., Zeiger, U., Khurana, T.S., Wilm, M. et Rubinstein, N.A. 2007. Quantitative proteomics profiling of sarcomere associated proteins in limb and extraocular muscle allotypes. *Mol. Cell Proteomics* 6: 728-737.
- Fuentes-Prior, P. et Salvesen, G.S. 2004. The protein structures that shape caspase activity, specificity, activation and inhibition. *Biochem. J.* 384: 201-232.
- Galvez, A.S., Diwan, A., Odley, A.M., Hahn, H.S., Osinska, H., Melendez, J.G., Robbins, J., Lynch, R.A., Marreez, Y. et Dorn, G.W., 2nd. 2007. Cardiomyocyte degeneration with calpain deficiency reveals a critical role in protein homeostasis. *Circ. Res.* 100: 1071-1078.

- Geay, Y., Bauchart, D., Hocquette, J.F. et Culioli, J. 2001. Effect of nutritional factors on biochemical, structural and metabolic characteristics of muscles in ruminants, consequences on dietetic value and sensorial qualities of meat. *Reprod. Nutr. Dev.* 41: 1-26.
- Geesink, G.H., Bekhit, A.D. et Bickerstaffe, R. 2000. Rigor temperature and meat quality characteristics of lamb longissimus muscle. *J. Anim. Sci.* 78: 2842-2848.
- Geesink, G.H. et Koohmaraie, M. 1999. Postmortem proteolysis and calpain/calpastatin activity in callipyge and normal lamb biceps femoris during extended postmortem storage. *J. Anim. Sci.* 77: 1490-1501.
- Geesink, G.H. et Koohmaraie, M. 2000. Ionic stretch-induced inactivation of u-calpain in postmortem muscle. *J. Anim. Sci.* 78: 2336-2343.
- Geesink, G.H., Kushay, S., Chisthi, A.H. et Koohmaraie, M. 2006. u-Calpain is essential for postmortem proteolysis of muscle proteins. *J. Anim. Sci.* 84: 2834-2840.
- Geesink, G.H., Mareko, M.H.D., Morton, J.D. et Bickerstaffe, R. 2001a. Effects of stress and high voltage electrical stimulation on tenderness of lamb m. longissimus. *Meat Sci.* 57: 265-271.
- Geesink, G.H., Taylor, R.G., Bekhit, A.E.D. et Bickerstaffe, R. 2001b. Evidence against the non-enzymatic calcium theory of tenderization. *Meat Sci.* 59: 417-422.
- Geesink, G.H., Taylor, R.G. et Koohmaraie, M. 2005. Calpain 3/p94 is not involved in postmortem proteolysis. *J. Anim. Sci.* 83: 1646-1652.
- Gillies, A.R. et Lieber, R.L. 2011. Structure and function of the skeletal muscle extracellular matrix. *Muscle Nerve* 44: 318-331.
- Glickman, M.H. et Ciechanover, A. 2002. The ubiquitin-proteasome proteolytic pathway: destruction for the sake of construction. *Physiol. Rev.* 82: 373-428.
- Goll, D.E., Boehm, M.L., Geesink, G.H. et Thompson, V.F. 1997. What causes postmortem tenderization. Pages 60-67 dans 50th Annual Reciprocal Meat Conference, Ames, IA.
- Goll, D.E., Dayton, W.R., Singh, I. et Robson, R.M. 1991. Studies of the alpha-actinin/actin interaction in the Z-disk by using calpain. *J. Biol. Chem.* 266: 8501-8510.
- Goll, D.E., Geesink, G.H., Taylor, R.G. et Thompson, V.F. 1995. Does proteolysis cause all postmortem tenderization or are changes in the actin/myosin interaction involved. Pages 537-544 dans Proc. 41th Int. Congr. Meat Sci. Technol. , San Antonio, TX.
- Goll, D.E., Otsuka, Y., Nagainis, P.A., Shannon, J.D., Sathe, S.K. et Muguruma, M. 1983. Role of muscle proteinase in maintenance of muscle integrity and mass. *J. Food Biochem.* 7: 137.
- Goll, D.E., Thompson, V.F., Li, H., Wei, W. et Cong, J. 2003. The calpain system. *Physiol. Rev.* 83: 731-801.
- Gomes, M.D., Lecker, S.H., Jagoe, R.T., Navon, A. et Goldberg, A.L. 2001. Atrogin-1, a muscle-specific F-box protein highly expressed during muscle atrophy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 14440-14445.

- Guroff, G. 1964. A Neutral, Calcium-Activated Proteinase from the Soluble Fraction of Rat Brain. *J. Biol. Chem.* 239: 149-155.
- Hamm, R. 1986. Functional properties of the myofibrillar system and their measurements. Pages 135-199 dans *Muscle as food*. P. J. Bechtel (éd.). Academic Press, Orlando, FL.
- Harris, J.J., Miller, R.K., Savell, J.W., Cross, H.R. et Ringer, L.J. 1992. Evaluation of the tenderness of beef top sirloin steaks. *J. Food Sci.* 57: 6-9.
- Hasselgren, P.O. et Fischer, J.E. 2001. Muscle cachexia: current concepts of intracellular mechanisms and molecular regulation. *Ann. Surg.* 233: 9-17.
- Heffron, J.J.A. et Hegarty, P.V.J. 1974. Evidence for a relationship between ATP hydrolysis and changes in extracellular space and fibre diameter during rigor development in skeletal muscle. *Comp. Biochem. Physiol. A.* 49: 43-56.
- Herrera-Mendez, C.H., Becila, S., Boudjellal, A. et Ouali, A. 2006. Meat ageing: Reconsideration of the current concept. *Trends Food Sci. Tech.* 17: 394-405.
- Herring, H.K., Cassens, R.G. et Briskey, E.J. 1965. Sarcomere length of free and restrained bovine muscles at low temperature as related to tenderness. *J. Sci. Food Agric.* 16: 379-384.
- Herring, H.K., Cassens, R.G., Suess, G.G., Brungardt, V.H. et Briskey, E.J. 1967. Tenderness and associated characteristics of stretched and contracted bovine muscles. *J. Food Sci.* 32: 317-323.
- Hertzman, C., Olsson, U. et Tornberg, E. 1993. The influence of high temperature, type of muscle and electrical stimulation on the course of rigor, ageing and tenderness of beef muscles. *Meat Sci.* 35: 119-141.
- Ho, C.Y., Stromer, M.H. et Robson, R.M. 1994. Identification of the 30 kDa polypeptide in post mortem skeletal muscle as a degradation product of troponin-T. *Biochimie* 76: 369-375.
- Ho, C.Y., Stromer, M.H. et Robson, R.M. 1996. Effect of electrical stimulation on postmortem titin, nebulin, desmin, and troponin-T degradation and ultrastructural changes in bovine longissimus muscle. *J. Anim. Sci.* 74: 1563-1575.
- Hollung, K., Veiseth, E., Froystein, T., Aass, L., Langsrud, O. et Hildrum, K.I. 2007. Variation in the response to manipulation of post-mortem glycolysis in beef muscles by low-voltage electrical stimulation and conditioning temperature. *Meat Sci.* 77: 372-383.
- Honikel, K.O. 2004a. Conversion of muscle to meat : Cold and heat shortening. Pages 318-323 dans *Encyclopedia of meat sciences*. W. Jensen, C. Devine and M. Dikeman (éds.). Elsevier Academic Press, Oxford, UK.
- Honikel, K.O. 2004b. Conversion of muscle to meat Glycolysis: Glycolysis. Pages 314-318 dans *Encyclopedia of Meat Sciences*. W. Jensen, C. Devine and M. Dikeman (éds.). Elsevier Academic Press, Oxford, UK.
- Honikel, K.O., Roncales, P. et Hamm, R. 1983. The influence of temperature on shortening and onset of rigor in beef muscle. *Meat Sci.* 8: 221-241.

Hopkins, D.L. et Huff-Lonerger, E. 2004. Tenderizing mechanisms : chemical and enzymatic. Pages 1363-1369 dans Encyclopedia of Meat Sciences. W. K. Jensen (éd.). Elsevier Academic Press, Oxford, UK.

Hopkins, D.L., Shaw, F.D., Baud, S.R. et Walker, P.J. 2005. Effect of level of current during lamb carcass electrical stimulation on post-mortem muscle changes and meat quality. Proc. N.Z. Soc. Anim. Prod. 65: 247-251.

Hopkins, D.L. et Taylor, R.G. 2004. Post-mortem muscle proteolysis and meat tenderness. Pages 363-388 dans Muscle Development of Livestock Animals : Physiology, Genetics and Meat Quality. M. F. W. te Pas, M. E. Everts and H. P. Haagsman (éds.). CABI publishing, Wallingford, UK.

Hopkins, D.L. et Thompson, J.M. 2001. Inhibition of protease activity. Part 1. The effect on tenderness and indicators of proteolysis in ovine muscle. Meat Sci. 59: 175-185.

Hopkins, D.L. et Thompson, J.M. 2002a. The degradation of myofibrillar proteins in beef and lamb using denaturing electrophoresis- an overview. J. Muscle Food 13: 81-102.

Hopkins, D.L. et Thompson, J.M. 2002b. Factors contributing to proteolysis and disruption of myofibrillar proteins and the impact on tenderness in beef and sheep meat. Aust. J. Agric. Res. 53: 149-166.

Hopkins, D.L., Toohey, E.S., Lamb, T.A., Kerr, M.J., van de Ven, R. et Refshauge, G. 2011. Explaining the variation in the shear force of lamb meat using sarcomere length, the rate of rigor onset and pH. Meat Sci. 88: 794-796.

Hostetler, R.L., Link, B.A., Landmann, W.A. et Fitzhugh, H.A. 1972. Effect of carcass suspension on sarcomere length and shear force of some major bovine muscles. J. Food Sci. 37: 132-135.

Houbak, M.B., Ertbjerg, P. et Therkildsen, M. 2008. In vitro study to evaluate the degradation of bovine muscle proteins post-mortem by proteasome and mu-calpain. Meat Sci. 79: 77-85.

Huang, F., Huang, M., Zhou, G., Xu, X. et Xue, M. 2011. In vitro proteolysis of myofibrillar proteins from beef skeletal muscle by caspase-3 and caspase-6. J. Agric. Food Chem. 59: 9658-9663.

Huff-Lonerger, E., Mitsuhashi, T., Beekman, D.D., Parrish, F.C., Jr., Olson, D.G. et Robson, R.M. 1996. Proteolysis of specific muscle structural proteins by mu-calpain at low pH and temperature is similar to degradation in postmortem bovine muscle. J. Anim. Sci. 74: 993-1008.

Huff-Lonerger, E., Parrish, F.C. et Robson, R.M. 1995. Effects of postmortem aging time, animal age, and sex on degradation of titin and nebulin in bovine longissimus muscle. J. Anim. Sci. 73: 1064-1073.

Huff-Lonerger, E., Zhang, W. et Lonergan, S.M. 2010. Biochemistry of postmortem muscle - Lessons on mechanisms of meat tenderization. Meat Sci. 86: 184-195.

Hussain, H., Dudley, G.A. et Johnson, P. 1987. Effects of denervation on calpain and calpastatin in hamster skeletal muscles. Exp. Neurol. 97: 635-643.

- Hwang, I.H., Devine, C.E. et Hopkins, D.L. 2003. The biochemical and physical effects of electrical stimulation on beef and sheep meat tenderness. *Meat Sci.* 65: 677-691.
- Hwang, I.H., Park, B.Y., Cho, S.H. et Lee, J.M. 2004. Effects of muscle shortening and proteolysis on Warner–Bratzler shear force in beef longissimus and semitendinosus. *Meat Sci.* 68: 497-505.
- Hwang, I.H. et Thompson, J.M. 2001a. The effect of time and type of electrical stimulation on the calpain system and meat tenderness in beef longissimus dorsi muscle. *Meat Sci.* 58: 135-144.
- Hwang, I.H. et Thompson, J.M. 2001b. The interaction between pH and temperature decline early postmortem on the calpain system and objective tenderness in electrically stimulated beef longissimus dorsi muscle. *Meat Sci.* 58: 167-174.
- Ikemoto, M., Nikawa, T., Takeda, S., Watanabe, C., Kitano, T., Baldwin, K.M., Izumi, R., Nonaka, I., Towatari, T., Teshima, S., Rokutan, K. et Kishi, K. 2001. Space shuttle flight (STS-90) enhances degradation of rat myosin heavy chain in association with activation of ubiquitin-proteasome pathway. *Faseb J.* 15: 1279-1281.
- Ilian, M.A., Bekhit, A.E.D. et Bickerstaffe, R. 2004. Does the newly discovered calpain 10 play a role in meat tenderization during post-mortem storage. *Meat Sci.* 66: 317-327.
- Jagoe, R.T. et Goldberg, A.L. 2001. What do we really know about the ubiquitin-proteasome pathway in muscle atrophy? *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 4: 183-190.
- Janz, J.A.M., Aalhus, J.L. et Price, M.A. 2001. Blast chilling and low voltage electrical stimulation influences on bison (*Bison bison*) meat quality. *Meat Sci.* 57: 403-411.
- Ji, J.-R. et Takahashi, K. 2006. Changes in concentration of sarcoplasmic free calcium during post-mortem ageing of meat. *Meat Sci.* 73: 395-403.
- Jones, S.W., Hill, R.J., Krasney, P.A., O'Conner, B., Peirce, N. et Greenhaff, P.L. 2004. Disuse atrophy and exercise rehabilitation in humans profoundly affects the expression of genes associated with the regulation of skeletal muscle mass. *Faseb J* 18: 1025-1027.
- Kemp, C.M., Bardsley, R.G. et Parr, T. 2006. Changes in caspase activity during the postmortem conditioning period and its relationship to shear force in porcine longissimus muscle. *J. Anim. Sci.* 84: 2841-2846.
- Kemp, C.M., King, D.A., Shackelford, S.D., Wheeler, T.L. et Koohmaraie, M. 2009. The caspase proteolytic system in callipyge and normal lambs in longissimus, semimembranosus, and infraspinatus muscles during postmortem storage. *J. Anim. Sci.* 87: 2943-2951.
- Kemp, C.M. et Parr, T. 2008. The effect of recombinant caspase 3 on myofibrillar proteins in porcine skeletal muscle. *Animal* 2: 1254-1264.
- Kemp, C.M. et Parr, T. 2012. Advances in apoptotic mediated proteolysis in meat tenderisation. *Meat Sci.* 92: 252-259.
- Kemp, C.M., Sensky, P.L., Bardsley, R.G., Buttery, P.J. et Parr, T. 2010. Tenderness – An enzymatic view. *Meat Sci.* 84: 248-256.

- Kemp, C.M. et Wheeler, T.L. 2011. Effects of manipulation of the caspase system on myofibrillar protein degradation in vitro. *J. Anim. Sci.* 89: 3262-3271.
- Kent, M.P., Spencer, M.J. et Koohmaraie, M. 2004. Postmortem proteolysis is reduced in transgenic mice overexpressing calpastatin. *J. Anim. Sci.* 82: 794-801.
- Kerth, C.R., Cain, T.L., Jackson, S.P., Ramsey, C.B. et Miller, M.F. 1999. Electrical stimulation effects on tenderness of five muscles from Hampshire × Rambouillet crossbred lambs with the callipyge phenotype. *J. Anim. Sci.* 77: 2951-2955.
- Kim, Y.H.B., Bødker, S. et Rosenvold, K. 2012. Influence of lamb age and high-oxygen modified atmosphere packaging on protein polymerization of long-term aged lamb loins. *Food Chem.* 135: 122-126.
- King, N.L. 1987. Thermal transition of collagen in ovine connective tissues. *Meat Sci.* 20: 25-37.
- Koohmaraie, M. 1992a. Ovine skeletal muscle multicatalytic proteinase complex (proteasome): purification, characterization, and comparison of its effects on myofibrils with mu-calpains. *J. Anim. Sci.* 70: 3697-3708.
- Koohmaraie, M. 1992b. The role of Ca(2+)-dependent proteases (calpains) in post mortem proteolysis and meat tenderness. *Biochimie* 74: 239-245.
- Koohmaraie, M. 1994. Muscle proteinases and meat aging. *Meat Sci.* 36: 93-104.
- Koohmaraie, M. 1996. Biochemical factors regulating the toughening and tenderization processes of meat. *Meat Sci.* 43: S193-S201.
- Koohmaraie, M. et Geesink, G.H. 2006. Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. *Meat Sci.* 74: 34-43.
- Koohmaraie, M., Schollmeyer, J.E. et Dutson, T.R. 1986. Effect of low-calcium-requiring calcium activated factor on myofibrils under varying pH and temperature conditions. *J. Food Sci.* 51: 28-32.
- Koohmaraie, M., Seideman, S.C., Schollmeyer, J.E., Dutson, T.R. et Crouse, J.D. 1987. Effect of post-mortem storage on Ca⁺⁺-dependent proteases, their inhibitor and myofibril fragmentation. *Meat Sci.* 19: 187-196.
- Koohmaraie, M. et Shackelford, S.D. 1991. Effect of calcium chloride infusion on the tenderness of lambs fed a beta-adrenergic agonist. *J. Anim. Sci.* 69: 2463-2471.
- Koohmaraie, M., Shackelford, S.D., Wheeler, T.L., Lonergan, S.M. et Doumit, M.E. 1995. A muscle hypertrophy condition in lamb (callipyge): Characterization of effects on muscle growth and meat quality traits. *J. Anim. Sci.* 73: 3596-3607.
- Koohmaraie, M., Whipple, G., Kretchmar, D.H., Crouse, J.D. et Mersmann, H.J. 1991. Postmortem proteolysis in longissimus muscle from beef, lamb and pork carcasses. *J. Anim. Sci.* 69: 617-624.

- Korman, V.L., Anderson, S.E.B., Prochniewicz, E., Titus, M.A. et Thomas, D.D. 2006. Structural dynamics of the actin–myosin interface by site-directed spectroscopy. *J. Mol. Biol.* 356: 1107-1117.
- Kuber, P.S., Duckett, S.K., Busboom, J.R., Snowden, G.D., Dodson, M.V., Vierck, J.L. et Bailey, J.F. 2003. Measuring the effects of phenotype and mechanical restraint on proteolytic degradation and rigor shortening in callipyge lamb longissimus dorsi muscle during extended aging. *Meat Sci.* 63: 325-331.
- Labeit, S., Gibson, T., Lakey, A., Leonard, K., Zeviani, M., Knight, P., Wardale, J. et Trinick, J. 1991. Evidence that nebulin is a protein-ruler in muscle thin filaments. *FEBS Lett.* 282: 313-316.
- Lamare, M., Taylor, R.G., Farout, L., Briand, Y. et Briand, M. 2002. Changes in proteasome activity during postmortem aging of bovine muscle. *Meat Sci.* 61: 199-204.
- Lametsch, R., Karlsson, A., Rosenvold, K., Andersen, H.J., Roepstorff, P. et Bendixen, E. 2003. Postmortem proteome changes of porcine muscle related to tenderness. *J. Agric. Food Chem.* 51: 6992-6997.
- Lametsch, R., Roepstorff, P., Moller, H.S. et Bendixen, E. 2004. Identification of myofibrillar substrates for u-calpain. *Meat Sci.* 68: 512-521.
- Lawrence, T.L.J. et Fowler, V.R. 2002. *Growth of farm animals*. 2nd éd. CABI publishing, Wallingford, Ox, UK., 347 p.
- Lawrie, R.A. 1998. *Lawrie's meat science*. 6th éd. Woodhead publishing limited, Cambridge, UK, 336 p.
- Lecker, S.H., Goldberg, A.L. et Mitch, W.E. 2006. Protein degradation by the ubiquitin-proteasome pathway in normal and disease states. *J. Am. Soc. Nephrol.* 17: 1807-1819.
- Lecker, S.H., Jagoe, R.T., Gilbert, A., Gomes, M., Baracos, V., Bailey, J., Price, S.R., Mitch, W.E. et Goldberg, A.L. 2004. Multiple types of skeletal muscle atrophy involve a common program of changes in gene expression. *Faseb J.* 18: 39-51.
- Lecker, S.H., Solomon, V., Mitch, W.E. et Goldberg, A.L. 1999. Muscle protein breakdown and the critical role of the ubiquitin-proteasome pathway in normal and disease states. *J. Nutr.* 129: 227S-237S.
- Ledward, D.A. 1992. Colour of raw and cooked meat. Pages 129-144 dans *The chemistry of muscle-based foods*. D. E. Johnson, M. K. Knight and D. A. Ledward (éds.). The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK.
- Lee, S., Polidori, P., Kauffman, R.G. et Kim, B.C. 2000. Low-voltage electrical stimulation effects on proteolysis and lamb tenderness. *J. Food Sci.* 65: 786-790.
- Lefaucheur, L. 1989. Les différents types de fibres musculaires chez le porc. *Prod. Anim.* 2: 205-213.
- Lévesque, J. et Tremblay, M.E. 2007. Analyse des points critiques relatifs à la qualité de l'agneau lourd du Québec. La Pocatière, QC. 102 p.

- Lewis, G.J., Purslow, P.P. et Rice, A.E. 1991. The effect of conditioning on the strength of perimysial connective tissue dissected from cooked meat. *Meat Sci.* 30: 1-12.
- Lewis, P.K. et Babiker, S.A. 1983. Effect of electrical stimulation and cooking temperature on the within-sample variation of cooking loss and shear force of lamb. *Meat Sci.* 8: 317-321.
- Li, S., Xu, X. et Zhou, G. 2012. The roles of the actin-myosin interaction and proteolysis in tenderization during the aging of chicken muscle. *Poult Sci* 91: 150-160.
- Light, N., Champion, A.E., Voyle, C. et Bailey, A.J. 1985. The role of epimysial, perimysial and endomysial collagen in determining texture in six bovine muscles. *Meat Sci.* 13: 137-149.
- Livingston, D.J. et Brown, W.D. 1981. The chemistry of myoglobin and its reaction. *Food Technol.* 35: 244-252.
- Locker, R.H. 1960. Degree of muscular contraction as a factor in tenderness of beef. *J. Food Sci.* 25: 304-307.
- Locker, R.H. 1985. Cold-induced toughness of meat. Pages 1-44 dans *Advances in meat research: Electrical stimulation*. A. M. Pearson and T. R. Dutson (éds.). No. 1 AVI Publishing Company, inc., Westport, CT.
- Locker, R.H. et Daines, G.J. 1976. Tenderness in relation to the temperature of rigor onset in cold shortened beef. *J. Sci. Food Agric.* 27: 193-196.
- Locker, R.H. et Hagyard, C.J. 1963. A cold shortening effect in beef muscle. *J. Sci. Food Agric.* 14: 787.
- Los, V.T. et Haagsman, H.P. 2004. Proteolytic systems and the regulation of muscle remodelling and breakdown. Pages 174-199 dans *Muscle development of livestock animals : physiology, genetics and meat quality*. M. F. W. te Pas, H. Everts and H. P. Haagsman (éds.). CABI Publishing, Willingford, UK.
- Lymn, R.W. et Taylor, E.W. 1971. Mechanism of adenosine triphosphate hydrolysis by actomyosin. *Biochemistry* 10: 4617-4624.
- Maher, S.C., Mullen, A.M., Buckley, D.J., Kerry, J.P. et Moloney, A.P. 2005. The influence of biochemical differences on the variation in tenderness of *M. longissimus dorsi* of Belgian blue steers managed homogenously pre and post-slaughter. *Meat Sci.* 69: 215-224.
- MAPAQ. 2013. Le circuit de la commercialisation de la viande ovine au Québec. *BioClips*. 21.
- Marieb, E.N. et Laurendeau, G. 1993. *Anatomie et physiologie humaine*. Éditions du nouveau pédagogique éd, Québec, Canada, 1014 p.
- Marsh, B.B. et Carse, W.A. 1974. Meat tenderness and the sliding-filament hypothesis. *Int. J. Food Sci. Technol.* 9: 129-139.
- Marsh, B.B. et Leet, N.G. 1966. Studies in meat tenderness. III. The effects of cold shortening on tenderness. *J. Food Sci.* 31: 450-459.

- Marsh, B.B., Leet, N.G. et Dickson, M.R. 1974. The ultrastructure and tenderness of highly cold-shortened muscle. *Int. J. Food Sci. Technol.* 9: 141-147.
- Mastrocola, R., Reffo, P., Penna, F., Tomasinelli, C.E., Boccuzzi, G., Baccino, F.M., Aragno, M. et Costelli, P. 2008. Muscle wasting in diabetic and in tumor-bearing rats: role of oxidative stress. *Free Radic. Biol. Med.* 44: 584-593.
- Matsubara, I., Goldman, Y.E. et Simmons, R.M. 1984. Changes in the lateral filament spacing of skinned muscle fibres when cross-bridges attach. *J. Mol. Biol.* 173: 15-33.
- McBee, J.L.J. et Wiles, J.A. 1967. Influence of marbling and carcass grade on the physical and chemical characteristics of beef. *J. Anim. Sci.* 26: 701.
- McBride, M.A. et Parrish, F.C. 1977. The 30 000-dalton component of tender bovine longissimus muscle. *J. Food Sci.* 42: 1627.
- McClung, J.M., Kavazis, A.N., DeRuisseau, K.C., Falk, D.J., Deering, M.A., Lee, Y., Sugiura, T. et Powers, S.K. 2007. Caspase-3 regulation of diaphragm myonuclear domain during mechanical ventilation-induced atrophy. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 175: 150-159.
- McCormick, R.J. 1994. The flexibility of the collagen compartment of muscle. *Meat Sci.* 36: 79-91.
- McDonagh, M.B., Fernandez, C. et Oddy, V.H. 1999. Hind-limb protein metabolism and calpain system activity influence post-mortem change in meat quality in lamb. *Meat Sci.* 52: 9-18.
- Melody, J.L., Lonergan, S.M., Rowe, L.J., Huiatt, T.W., Mayes, M.S. et Huff-Lonergan, E. 2004. Early postmortem biochemical factors influence tenderness and water-holding capacity of three porcine muscles. *J. Anim. Sci.* 82: 1195-1205.
- Miller, M.F., Carr, M.A., Ramsey, C.B., Crockett, K.L. et Hoover, K.A. 2001. Consumer thresholds for establishing the value of beef tenderness. *J. Anim. Sci.* 79: 3062-3068.
- Mohrhauser, D.A., Underwood, K.R. et Weaver, A.D. 2011. In vitro degradation of bovine myofibrils is caused by μ -calpain, not caspase-3. *J. Anim. Sci.* 89: 798-808.
- Morton, H.C. et Newbold, R.P. 1982. Pathways of high and low voltage electrical stimulation in sheep carcasses. *Meat Sci.* 7: 285-297.
- Morton, J.D., Bickerstaffe, R., Kent, M.P., Dransfield, E. et Keeley, G.M. 1999. Calpain-calpastatin and toughness in M. longissimus from electrically stimulated lamb and beef carcasses. *Meat Sci.* 52: 71-79.
- Muroya, S., Nakajima, I., Oe, M. et Chikuni, K. 2006. Difference in postmortem degradation pattern among troponin T isoforms expressed in bovine longissimus, diaphragm, and masseter muscles. *Meat Sci.* 72: 245-251.
- Muroya, S., Neath, K.E., Nakajima, I., Oe, M., Shibata, M., Ojima, K. et Chikuni, K. 2012. Differences in mRNA expression of calpains, calpastatin isoforms and calpain/calpastatin ratios among bovine skeletal muscles. *Anim. Sci. J.* 83: 252-259.

Nishimura, T. 2010. The role of intramuscular connective tissue in meat texture. *Anim. Sci. J.* 81: 21-27.

O'Halloran, G.R., Troy, D.J. et Buckley, D.J. 1997a. The relationship between early post-mortem pH and the tenderisation of beef muscles. *Meat Sci.* 45: 239-251.

O'Halloran, G.R., Troy, D.J., Buckley, D.J. et Reville, W.J. 1997b. The role of endogenous proteases in the tenderisation of fast glycolysing muscle. *Meat Sci.* 47: 187-210.

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

Offer, G. et Cousins, T. 1992. The mechanism of drip production: Formation of two compartments of extracellular space in muscle post mortem. *J. Sci. Food Agric.* 58: 107-116.

Offer, G. et Knight, P. 1988. The structural basis of water-holding in meat. Part 2. Drip losses. Pages 173-243 dans *Developments in meat science-4*. R. Lawrie (éd.). Elsevier Applied Science, Londres, UK.

Offer, G., Knight, P., Jeacocke, R.E., Almond, R., Cousins, T., Elsey, J., Parsons, N., Sharp, A., Starr, R. et Purslow, P.P. 1989. The structural basis of the water-holding, appearance and toughness of meat and meat products. *Food Microstruct.* 8: 151-170.

Offer, G. et Trinick, J. 1983. On the mechanism of water holding in meat: The swelling and shrinking of myofibrils. *Meat Sci.* 8: 245-281.

Okeudo, N.J. et Moss, B.W. 2005. Interrelationship amongst carcass and meat quality characteristics of sheep. *Meat Sci.* 69: 1-8.

Olson, D.G., Parrish, F.C., Dayton, W.R. et Goll, D.E. 1977. Effect of postmortem storage and calcium activated factor of the myofibrillar proteins of bovine skeletal muscle. *J. Food Sci.* 42: 117-124.

Ottenheijm, C.A. et Granzier, H. 2010. New insights into the structural roles of nebulin in skeletal muscle. *J. Biomed. Biotechnol.* 2010: 968139.

Ouali, A. 1990. Meat tenderization: possible causes and mechanisms. A review. *J. Muscle Food* 1: 129-165.

Ouali, A. 1992. Proteolytic and physicochemical mechanisms involved in meat texture development. *Biochimie* 74: 251-265.

Ouali, A., Herrera-Mendez, C.H., Coulis, G., Becila, S., Boudjellal, A., Aubry, L. et Sentandreu, M.A. 2006. Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms. *Meat Sci.* 74: 44-58.

Ouali, A. et Talmant, A. 1990. Calpains and calpastatins distribution in bovine, porcine and ovine skeletal muscles. *Meat Sci.* 28: 331-348.

Ouali, A., Zabari, M., Lacourt, A., Talmant, A., Monin, G., Kopp, J. et Valin, C. 1988. Usefulness of various biochemical and histochemical characteristics as indices of muscle type in lamb carcasses. *Meat Sci.* 24: 235-247.

Parr, T., Jewell, K.K., Sensky, P.L., Brameld, J.M., Bardsley, R.G. et Buttery, P.J. 2004. Expression of calpastatin isoforms in muscle and functionality of multiple calpastatin promoters. *Arch. Biochem. Biophys.* 427: 8-15.

Pearce, K.L., Hopkins, D.L., Toohey, E., Pethick, D.W. et Richards, I. 2006. Quantifying the rate of pH and temperature decline in lamb carcasses using medium voltage electrical stimulation in an Australian abattoir. *Aust. J. Exp. Agric.* 46: 869-874.

Pearce, K.L., Hopkins, D.L., Williams, A., Jacob, R.H., Pethick, D.W. et Phillips, J.K. 2009. Alternating frequency to increase the response to stimulation from medium voltage electrical stimulation and the effect on objective meat quality. *Meat Sci.* 81: 188-195.

Pearce, K.L., Van de Ven, R., Mudford, C., Warner, R.D., Hocking Edwards, J., Jacob, R.H., Pethick, D.W. et Hopkins, D.L. 2010. Case studies demonstrating the benefits on pH and temperature decline of optimising medium-voltage electrical stimulation of lamb carcasses. *Anim. Prod. Sci.* 50: 1107-1114.

Pearson, A.M. et Dutson, T.R. 1985. Scientific basis for electrical stimulation dans *Advances in meat research: Electrical stimulation*. A. M. Pearson and T. R. Dutson (éds.). No. 1 AVI Publishing Company, inc., Wesport, CT.

Pearson, A.M. et Young, R.B. 1989. *Muscle and meat biochemistry*. Academic press, San Diego, CA, 457 p.

Penny, I.F. 1977. The effect of temperature on the drip, denaturation and extracellular space of pork longissimus dorsi muscle. *J. Sci. Food Agric.* 28: 329-338.

Penny, I.F. et Dransfield, E. 1979. Relationship between toughness and troponin T in conditioned beef. *Meat Sci.* 3: 135-141.

Peter, J.B., Barnard, R.J., Edgerton, V.R., Gillespie, C.A. et Stempel, K.E. 1972. Metabolic profiles of three fiber types of skeletal muscle in guinea pigs and rabbits. *Biochemistry* 11: 2627-2633.

Peters, J.M., Franke, W.W. et Kleinschmidt, J.A. 1994. Distinct 19 S and 20 S subcomplexes of the 26 S proteasome and their distribution in the nucleus and the cytoplasm. *J. Biol. Chem.* 269: 7709-7718.

Pette, D. 2001. Historical Perspectives: plasticity of mammalian skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* 90: 1119-1124.

Pette, D. et Staron, R.S. 1997. Mammalian skeletal muscle fiber type transitions. *Int. Rev. Cytol.* 170: 143-223.

Pette, D. et Staron, R.S. 2000. Myosin isoforms, muscle fiber types, and transitions. *Microsc. Res. Tech.* 50: 500-509.

Picard, B., Lefaucheur, L., Berri, C. et Duclos, M.J. 2002. Muscle fibre ontogenesis in farm animal species. *Reprod. Nutr. Dev.* 42: 415-431.

- Polati, R., Menini, M., Robotti, E., Millions, R., Marengo, E., Novelli, E., Balzan, S. et Cecconi, D. 2012. Proteomic changes involved in tenderization of bovine Longissimus dorsi muscle during prolonged ageing. *Food Chem.* 135: 2052-2069.
- Polidori, P., Lee, S., Kauffman, R.G. et Marsh, B.B. 1999. Low voltage electrical stimulation of lamb carcasses: effect on meat quality. *Meat Sci.* 53: 179-182.
- Pommier, S.A., Poste, L.M. et Butler, G. 1987. Effect of low voltage electrical stimulation on the distribution of cathepsin D and the palatability of the Longissimus dorsi from Holstein veal calves fed a corn or barley diet. *Meat Sci.* 21: 203-218.
- Pouliot, E., Gariépy, C., Thériault, M., Avezard, C., Fortin, J. et Castonguay, F.W. 2009. Growth performance, carcass traits and meat quality of heavy lambs reared in a warm or cold environment during winter. *Can. J. Anim. Sci.* 89: 229-239.
- Powers, S.K., Kavazis, A.N. et DeRuisseau, K.C. 2005. Mechanisms of disuse muscle atrophy: role of oxidative stress. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 288: R337-344.
- Powers, S.K., Kavazis, A.N. et McClung, J.M. 2007. Oxidative stress and disuse muscle atrophy. *J. Appl. Physiol.* 102: 2389-2397.
- Prochniewicz, E., Walseth, T.F. et Thomas, D.D. 2004. Structural dynamics of actin during active interaction with myosin: different effects of weakly and strongly bound myosin heads. *Biochemistry* 43: 10642-10652.
- Pulford, D.J., Dobbie, P., Fraga Vazquez, S., Fraser-Smith, E., Frost, D.A. et Morris, C.A. 2009. Variation in bull beef quality due to ultimate muscle pH is correlated to endopeptidase and small heat shock protein levels. *Meat Sci.* 83: 1-9.
- Purslow, P.P. 2005. Intramuscular connective tissue and its role in meat quality. *Meat Sci.* 70: 435-447.
- Purslow, P.P., Archile-Contreras, A.C. et Cha, M.C. 2012. Meat Science and Muscle Biology Symposium: manipulating meat tenderness by increasing the turnover of intramuscular connective tissue. *J. Anim. Sci.* 90: 950-959.
- Raynaud, P., Gillard, M., Parr, T., Bardsley, R., Amarger, V. et Leveziel, H. 2005. Correlation between bovine calpastatin mRNA transcripts and protein isoforms. *Arch. Biochem. Biophys.* 440: 46-53.
- Rehfeldt, C., Fieldler, I. et Stickland, N.C. 2004. Number and size of muscle fibres in relation to meat production. Pages 1-38 dans *Muscle Development of Livestock Animals : Physiology, Genetics and Meat Quality*. M. F. W. te Pas, M. E. Everts and H. P. Haagsman (éds.). CABI publishing, Wallingford, UK.
- Riley, R.R., Savell, J.W., Smith, G.C. et Shelton, M. 1981. Improving appearance and palatability of meat from ram lambs by electrical stimulation. *J. Anim. Sci.* 52: 522-529.
- Robert, N., Briand, M., Taylor, R. et Briand, Y. 1999. The effect of proteasome on myofibrillar structure in bovine skeletal muscle. *Meat Sci.* 51: 149-153.

Rome, E. 1967. Light and X-ray diffraction studies of the filament lattice of glycerol-extracted rabbit psoas muscle. *J. Mol. Biol.* 27: 591-602.

Rowe, L.J., Maddock, K.R., Lonergan, S.M. et Huff-Lonergan, E. 2004. Oxidative environments decrease tenderization of beef steaks through inactivation of u-calpain. *J. Anim. Sci.* 82: 3254-3266.

Rowe, R.W.D. 1981. Morphology of perimysial and endomysial connective tissue in skeletal muscle. *Tissue and Cell* 13: 681-690.

Sacheck, J.M., Hyatt, J.P., Raffaello, A., Jagoe, R.T., Roy, R.R., Edgerton, V.R., Lecker, S.H. et Goldberg, A.L. 2007. Rapid disuse and denervation atrophy involve transcriptional changes similar to those of muscle wasting during systemic diseases. *Faseb J.* 21: 140-155.

Saez, M.E., Ramirez-Lorca, R., Moron, F.J. et Ruiz, A. 2006. The therapeutic potential of the calpain family: new aspects. *Drug Discov. Today* 11: 917-923.

Safari, E., Channon, H.A., Hopkins, D.L., Hall, D.G. et van de Ven, R. 2002. A national audit of retail lamb loin quality in Australia. *Meat Sci.* 61: 267-273.

Sañudo, C., Sanchez, A. et Alfonso, M. 1998. Small ruminant production systems and factors affecting lamb meat quality. *Meat Sci.* 49: s29-s64.

Sazili, A.Q., Parr, T., Sensky, P.L., Jones, S.W., Bardsley, R.G. et Buttery, P.J. 2005. The relationship between slow and fast myosin heavy chain content, calpastatin and meat tenderness in different ovine muscle skeletal muscles. *Meat Sci.* 69: 17-25.

Schwartz, W. et Bird, J.W. 1977. Degradation of myofibrillar proteins by cathepsins B and D. *Biochem. J.* 167: 811-820.

Seideman, S.C. 1986. Method of expressing collagen characteristics and their relationship to meat tenderness and muscle fiber type. *J. Food Sci.* 51: 273.

Sentandreu, M.A., Coulis, G. et Ouali, A. 2002. Role of muscle endopeptidases and their inhibitors in meat tenderness. *Trends Food Sci. Tech.* 13: 400-421.

Shanely, R.A., Zergeroglu, M.A., Lennon, S.L., Sugiura, T., Yimlamai, T., Enns, D., Belcastro, A. et Powers, S.K. 2002. Mechanical ventilation-induced diaphragmatic atrophy is associated with oxidative injury and increased proteolytic activity. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 166: 1369-1374.

Shaw, F.D., Baud, S.R., Richards, I., Pethick, D.W., Walker, P.J. et Thompson, J.M. 2005. New electrical stimulation technologies for sheep carcasses. *Aust. J. Exp. Agric.* 45: 575-583.

Sherwood, L., Lockhart, A. and Molotchnikoff, S. 2006. *Physiologie humaine: A Human Perspective*. 2^e ed. De Boeck Supérieur, Bruxelles, BE. 629 pp.

Simmons, N.J., Daly, C.C., Cummings, T.L., Morgan, S.K., Johnson, N.V. et Lombard, A. 2008. Reassessing the principles of electrical stimulation. *Meat Sci.* 80: 110-122.

Simmons, N.J., Daly, C.C., Mudford, C.R., Richards, I., Jarvis, G. et Pleiter, H. 2006. Integrated technologies to enhance meat quality - An Australasian perspective. *Meat Sci.* 74: 172-179.

Simmons, N.J., Singh, K., Dobbie, P. et Devine, C.E. 1996. The effect of prerigor holding temperature on calpain and calpastatin activity and meat tenderness. Pages 414-415 dans 42nd International Congress of Meat Science and Technology, Lillehammer, NO.

Smith, I.J. et Dodd, S.L. 2007. Calpain activation causes a proteasome-dependent increase in protein degradation and inhibits the Akt signalling pathway in rat diaphragm muscle. *Exp. Physiol.* 92: 561-573.

Smulders, F.J.M., Marsh, B.B., Swartz, D.R., Russell, R.L. et Hoenecke, M.E. 1990. Beef tenderness and sarcomere length. *Meat Sci.* 28: 349-363.

Sørheim, O., Idland, J., Halvorsen, E.C., Frøystein, T., Lea, P. et Hildrum, K.I. 2001. Influence of beef carcass stretching and chilling rate on tenderness of m. longissimus dorsi. *Meat Sci.* 57: 79-85.

Stanton, C. et Light, N. 1987. The effects of conditioning on meat collagen: part 1- Evidence for gross in situ proteolysis. *Meat Sci.* 21: 249-265.

Stanton, C. et Light, N. 1988. The effects of conditioning on meat collagen: part 2-Direct biochemical evidence for proteolytic damage in insoluble perimysia collagen after conditioning. *Meat Sci.* 23: 179-199.

Stein, L.A., Schwarz, R.P., Jr., Chock, P.B. et Eisenberg, E. 1979. Mechanism of actomyosin adenosine triphosphatase. Evidence that adenosine 5'-triphosphate hydrolysis can occur without dissociation of the actomyosin complex. *Biochemistry* 18: 3895-3909.

Sullivan, P., White, A., Cairns, M. et Mullen, A.M. 2006. Manipulation of the rate of proteolysis in bovine M. Longissimus Dorsi. Pages 291-292 dans 52nd International Congress of Meat Science and Technology, Dublin, IE.

Suzuki, A. 1971. Histochemical classification of individual skeletal muscle fibers in the sheep. *Jap. J. Zootechnol. Sci.* 42: 39-54.

Sylvestre, M.N., Balcerzak, D., Feidt, C., Baracos, V.E. et Brun Bellut, J. 2002. Elevated rate of collagen solubilization and postmortem degradation in muscles of lambs with high growth rates: possible relationship with activity of matrix metalloproteinases. *J. Anim. Sci.* 80: 1871-1878.

Taillandier, D., Aurousseau, E., Meynial-Denis, D., Bechet, D., Ferrara, M., Cottin, P., Ducastaing, A., Bigard, X., Guezennec, C.Y., Schmid, H.P. et al. 1996. Coordinate activation of lysosomal, Ca²⁺-activated and ATP-ubiquitin-dependent proteinases in the unweighted rat soleus muscle. *Biochem. J.* 316 (Pt 1): 65-72.

Taillandier, D., Combaret, L., Pouch, M.N., Samuels, S.E., Bechet, D. et Attaix, D. 2004. The role of ubiquitin-proteasome-dependent proteolysis in the remodelling of skeletal muscle. *Proc. Nutr. Soc.* 63: 357-361.

Takahashi, G., Lochnert, J.V. et Marsh, B.B. 1984. Effects of low-frequency electrical stimulation on beef tenderness. *Meat Sci.* 11: 207-225.

Takahashi, G., Wang, S.-M., Lochner, J.V. et Marsh, B.B. 1987a. Effects of 2-Hz and 60-Hz electrical stimulation on the microstructure of beef. *Meat Sci.* 19: 65-76.

- Takahashi, K. 1992. Non-enzymatic weakening of myofibrillar structures during conditioning of meat: calcium ions at 0.1 mM and their effect on meat tenderization. *Biochimie* 74: 247-250.
- Takahashi, K. 1996. Structural weakening of skeletal muscle tissue during post-mortem ageing of meat: the non-enzymatic mechanism of meat tenderization. *Meat Sci.* 43: 67-80.
- Takahashi, K. 1999. Tenderization mechanism of meat during post-mortem aging: The calcium theory of meat tenderization. *Anim. Sci. J.* 70: 1-11.
- Takahashi, K., Yamanoue, M., Murakami, T., Nishimura, T. et Yoshikawa, R. 1987b. Paratropomyosin, a new myofibrillar protein, weakens rigor linkages formed between actin and myosin. *J. Biochem.* 102: 1187-1192.
- Tanabe, R., Muroya, S. et Chikuni, K. 1998. Sequencing of the 2a, 2x, and slow isoforms of the bovine myosin heavy chain and the different expression among muscles. *Mamm. Genome* 9: 1056-1058.
- Taylor, J., Toohey, E.S., van de Ven, R. et Hopkins, D.L. 2012. SmartStretch™ technology. IV. The impact on the meat quality of hot-boned beef rosbiff (m. gluteus medius). *Meat Sci.* 91: 527-532.
- Taylor, R.G., Geesink, G.H., Thompson, V.F., Koohmaraie, M. et Goll, D.E. 1995a. Is Z-disc degradation responsible for postmortem tenderization. *J. Anim. Sci.* 73: 1351-1367.
- Taylor, R.G. et Koohmaraie, M. 1998. Effects of postmortem storage on the ultrastructure of the endomysium and myofibrils in normal and callipyge longissimus. *J. Anim. Sci.* 76: 2811-2817.
- Taylor, R.G., Tassy, C., Briand, M., Robert, N., Briand, Y. et Ouali, A. 1995b. Proteolytic activity of proteasome on myofibrillar structures. *Mol. Biol. Rep.* 21: 71-73.
- Thompson, J.M., Hopkins, D.L., D'Souza, D.N., Walker, P.J., Baud, S.R. et Pethick, D.W. 2005. The impact of processing on sensory and objective measurements of sheep meat eating quality. *Aust. J. Exp. Agric.* 45: 561-573.
- Tidball, J.G. et Spencer, M.J. 2000. Calpains and muscular dystrophies. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 32: 1-5.
- Toohey, E.S., de Ven, R.v., Thompson, J.M., Geesink, G.H. et Hopkins, D.L. 2012a. SmartStretch™ Technology: V. The impact of SmartStretch™ technology on beef topsides (m. semimembranosus) meat quality traits under commercial processing conditions. *Meat Sci.* 92: 24-29.
- Toohey, E.S., Hopkins, D.L., McLeod, B.M. et Nielsen, S.G. 2006. Quantifying the rate of pH and temperature decline in lamb carcasses at three abattoirs in New South Wales. *Aust. J. Exp. Agric.* 46: 875-878.
- Toohey, E.S., Hopkins, D.L., Stanley, D.F. et Nielsen, S.G. 2008. The impact of new generation pre-dressing medium-voltage electrical stimulation on tenderness and colour stability in lamb meat. *Meat Sci.* 79: 683-691.

Toohey, E.S., van de Ven, R., Thompson, J.M., Geesink, G.H. et Hopkins, D.L. 2012b. SmartStretch™ Technology. I. Improving the tenderness of sheep topsides (m. semimembranosus) using a meat stretching device. *Meat Sci.* 91: 142-147.

Toohey, E.S., van de Ven, R., Thompson, J.M., Geesink, G.H. et Hopkins, D.L. 2012c. SmartStretch™ Technology. II. Improving the tenderness of leg meat from sheep using a meat stretching device. *Meat Sci.* 91: 125-130.

Toohey, E.S., van de Ven, R., Thompson, J.M., Geesink, G.H. et Hopkins, D.L. 2013. SmartStretch™ technology. III. The impact of medium voltage stimulation and SmartStretch™ technology on sheep topside (m. semimembranosus) meat quality traits under commercial processing conditions. *Meat Sci.* 93: 187-193.

Tornberg, E. 1996. Biophysical aspects of meat tenderness. *Meat Sci.* 43: 175-191.

Touraille, C. 1994. Influence of muscle characteristics on sensory properties of meat. *Renc. Rech. Ruminants* 1: 169-176.

Tribot Laspière, P., Turin, F., Chatelin, Y.-M. et Coulon, G. 2008. La cartographie de la maturation de la viande bovine : comparaison de 5 muscles de jeunes bovins et de vaches de réforme. 35 p.

Tskhovrebova, L. et Trinick, J. 2010. Roles of titin in the structure and elasticity of the sarcomere. *J. Biomed. Biotechnol.* 2010: 612482.

Tsujinaka, T., Ebisui, C., Fujita, J., Kishibuchi, M., Morimoto, T., Ogawa, A., Katsume, A., Ohsugi, Y., Kominami, E. et Monden, M. 1995. Muscle undergoes atrophy in association with increase of lysosomal cathepsin activity in interleukin-6 transgenic mouse. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 207: 168-174.

Underwood, K.R., Means, W.J. et Du, M. 2008. Caspase 3 is not likely involved in the postmortem tenderization of beef muscle. *J. Anim. Sci.* 86: 960-966.

Uytterhaegen, L., Claeys, E. et Demeyer, D. 1992. The effect of electrical stimulation on beef tenderness, protease activity and myofibrillar fragmentation. *Biochimie* 74: 275-281.

Uytterhaegen, L., Claeys, E. et Demeyer, D. 1994. Effects of exogeneous protease effectors on beef tenderness development an myofibrillar degradation and solubility. *J. Anim. Sci.* 72: 1209-1223.

Veiseth, E. et Koohmaraie, M. 2005. Beef tenderness: significance of the calpain proteolytic system. Pages 111-126 dans *Indicators of milk and beef quality*. J. F. Hocquette and S. Gigli (éds.). Wageningen Academic Publishers, Wageningen, NL.

Veiseth, E., Shackelford, S.D., Wheeler, T.L. et Koohmaraie, M. 2001. Effect of postmortem storage on u-calpain and m-calpain in ovine skeletal muscle. *J. Anim. Sci.* 79: 1502-1508.

Veiseth, E., Shackelford, S.D., Wheeler, T.L. et Koohmaraie, M. 2004. Indicators of tenderization are detectable by 12 h postmortem in ovine longissimus. *J. Anim. Sci.* 82: 1428-1436.

- Vermaelen, M., Sirvent, P., Raynaud, F., Astier, C., Mercier, J., Lacampagne, A. et Cazorla, O. 2007. Differential localization of autolyzed calpains 1 and 2 in slow and fast skeletal muscles in the early phase of atrophy. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 292: C1723-1731.
- Wang, K.K., Posmantur, R., Nadimpalli, R., Nath, R., Mohan, P., Nixon, R.A., Talanian, R.V., Keegan, M., Herzog, L. et Allen, H. 1998. Caspase-mediated fragmentation of calpain inhibitor protein calpastatin during apoptosis. *Arch. Biochem. Biophys.* 356: 187-196.
- Warner, R.D., Ferguson, D.M., McDonagh, M.B., Channon, H.A., Cottrell, J.J. et Dunshea, F.R. 2005. Acute exercise stress and electrical stimulation influence the consumer perception of sheep meat. *Aust. J. Exp. Agric.* 45: 553-560.
- Weaver, A.D., Bowker, B.C. et Gerrard, D.E. 2008. Sarcomere length influences postmortem proteolysis of excised bovine semitendinosus muscle. *J. Anim. Sci.* 86: 1925-1932.
- Weaver, A.D., Bowker, B.C. et Gerrard, D.E. 2009. Sarcomere length influences mu-calpain-mediated proteolysis of bovine myofibrils. *J. Anim. Sci.* 87: 2096-2103.
- Wei, W., Fareed, M.U., Evenson, A., Menconi, M.J., Yang, H., Petkova, V. et Hasselgren, P.O. 2005. Sepsis stimulates calpain activity in skeletal muscle by decreasing calpastatin activity but does not activate caspase-3. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 288: R580-590.
- Wheeler, T.L. et Koohmaraie, M. 1994. Prerigor and postrigor changes in tenderness of ovine longissimus muscle. *J. Anim. Sci.* 72: 1232-1238.
- Wheeler, T.L. et Koohmaraie, M. 1999. The extent of proteolysis is independent of sarcomere length in lamb longissimus and psoas major. *J. Anim. Sci.* 77: 2444-2451.
- Whipple, G., Koohmaraie, M., Dikeman, M.E., Crouse, J.D., Hunt, M.C. et Klemm, R.D. 1990. Evaluation of attributes that affect longissimus muscle tenderness in bos taurus and bos indicus cattle. *J. Anim. Sci.* 68: 2716-2728.
- Whitaker, J.R. 1959. Chemical changes associated with aging of meat with emphasis on the proteins. *Adv. Food Res.* 9: 1.
- White, A., O'Sullivan, A., O'Neil, E.E. et Troy, D.J. 2006. Manipulation of the pre-rigor phase to investigate the significance of proteolysis and sarcomere length in determining the tenderness of bovine M. longissimus dorsi. *Meat Sci.* 73: 204-208.
- Whiting, R.C. 1980. Calcium uptake by bovine muscle mitochondria and sarcoplasmic reticulum. *J. Food Sci.* 45: 288-292.
- Wiklund, E., Finstad, G., Johansson, L., Aguiar, G. et Bechtel, P.J. 2008. Carcass composition and yield of Alaskan reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*) steers and effects of electrical stimulation applied during field slaughter on meat quality. *Meat Sci.* 78: 185-193.
- Wiklund, E., Stevenson-Barry, J.M., Duncan, S.J. et Littlejohn, R.P. 2001. Electrical stimulation of red deer (*Cervus elaphus*) carcasses - effects on rate of pH-decline, meat tenderness, colour stability and water-holding capacity. *Meat Sci.* 59: 211-220.

Williams, A.B., Decourten-Myers, G.M., Fischer, J.E., Luo, G., Sun, X. et Hasselgren, P.O. 1999. Sepsis stimulates release of myofilaments in skeletal muscle by a calcium-dependent mechanism. *Faseb J.* 13: 1435-1443.

Wisner-Pedersen, J. 1971. Water. Pages 177-191 dans *The science of meat and meat products*. J. F. Price and B. S. Schweigert (éds.). San Francisco, CA.

Wu, F.Y. et Smith, S.B. 1987. Ionic strength and myofibrillar protein solubilization. *J. Anim. Sci.* 65: 597-608.

Young, O.A. et Braggins, T.J. 1993. Tenderness of ovine semimembranosus: is collagen concentration or solubility the critical factor? *Meat Sci.* 35: 213-222.

Young, O.A. et Dobbie, J.L. 1994. Characteristics of intramuscular collagen in two sheep breeds. *N.Z. J. Agric. Res.* 37: 93-97.

Zamora, F., Chaib, F. et Dransfield, E. 1998. Calpains and calpastatin from cold-shortened bovine M-longissimus lumborum. *Meat Sci.* 49: 127-133.

Zins Beaudesne et associés. 2010. Plan stratégique 2010-2015 pour le secteur ovin du Québec. Fédération des producteurs d'agneaux et moutons du Québec [En ligne]. Disponible à l'adresse : http://www.agneauduquebec.com/FPAMQ/upload/pdf/projet/Plan_strategique_2010-2015_Industrie_ovine_Quebec.pdf (Page consultée le 6 juin 2012).

Chapitre 2 Effects of low voltage electrical stimulation and aging on heavy lamb meat quality

Ce chapitre a été publié dans la revue « Canadian Journal of Animal Science » sous la référence suivante :
Pouliot, E. Gariépy, C. Thériault, M. Avezard, C. Fortin, J. Simmons, N.J. and Castonguay, F.W. 2012. Effects of low voltage electrical stimulation and aging on lamb meat quality. Can. J. Anim. Sci. 92: 59-66

2.1 Résumé

L'objectif de cette étude était d'évaluer l'impact de la stimulation électrique (ES) et de la maturation sur la qualité de la viande d'agneaux lourds du Québec. Soixante-seize agneaux mâles demi-sang Suffolk ont été abattus au poids cible de 48-52 kg. La moitié des carcasses ont été stimulées électriquement 5-10 min postmortem (21 V; 0.25 A; 60 sec). Un suivi de la chute postmortem du pH et de la température a été effectué. Suite à la découpe des carcasses, des sections du *longissimus dorsi* ont été attribuées aléatoirement à des périodes de maturation de 1, 3 ou 8 j. La chute de la température a été la même pour les carcasses ES et témoins ($P = 0,749$). Par contre, la stimulation électrique a engendré un pH inférieur des carcasses au cours des 24 premières heures ($P < 0,001$), sans toutefois affecter le pH ultime ($P = 0,803$). La stimulation électrique ($P < 0,001$) et la maturation ($P < 0,001$) ont amélioré la tendreté de la viande déterminée par la force de cisaillement (39 carcasses) et l'analyse sensorielle (35 carcasses). À tous les temps de maturation, la tendreté de la viande ES a été supérieure et seulement 3 j de maturation ont permis à cette viande d'atteindre le même degré de tendreté que la viande témoin maturée 8 j. Les sarcomères des échantillons de viande ES étaient plus longs alors que l'indice de fragmentation myofibrillaire n'était pas affecté par ce traitement ($P = 0.743$). La stimulation électrique a eu un léger impact sur les paramètres de couleur (a^* , b^* et L^* ; $P < 0,01$) et sur la flaveur ($P = 0,017$). Ces résultats apportent une première évidence que la stimulation électrique peut améliorer la tendreté des carcasses d'agneau du Québec, principalement en réduisant la contraction due au froid.

2.2 Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of electrical stimulation (ES) and aging time on meat quality of heavy lamb as produced in Quebec. Seventy-six Suffolk-sired crossbred male lambs were slaughtered at a target weight of 48-52 kg. Half of them were electrically stimulated (ES vs. control) at 5-10 min postmortem (21 V; 0.25 A; 60 sec). Postmortem pH decline and temperature were monitored. After carcass cutting, *longissimus dorsi* sections were randomly assigned to aging periods of 1, 3 or 8 d. Temperature decline was the same for both treatments ($P = 0.749$). However, ES carcasses always had a lower

pH value than controls during the first 24 h ($P < 0.001$) while the ultimate pH was equivalent ($P = 0.803$). Tenderness, as assessed by either shear force measurement (39 carcasses) or sensory evaluation (35 carcasses) was enhanced by both ES ($P < 0.001$) and aging ($P < 0.001$). At each aging time, tenderness was greater for ES meat. In addition, only 3 d of aging were necessary for ES samples to achieve the tenderness level attained by the controls after 8 d. Sarcomeres were longer ($P < 0.001$) in ES samples than in controls while myofibrillar fragmentation index was not affected by ES treatment ($P = 0.743$). Electrical stimulation also had small effects on color parameters (a^* , b^* and L^* ; $P < 0.01$) and flavor ($P = 0.017$). These results provide the first evidence that tenderness of the meat from heavy lambs produced and processed in Quebec could be enhanced by ES, mostly through cold shortening reduction.

2.3 Introduction

In Quebec, lamb meat is perceived as a premium meat, consumed most of the time on special occasion. In this context, lamb meat quality is a major concern for consumer. With the increasing globalization of market, competition is strong, in terms of price and quantity, but also in terms of quality. To place lamb industry in a strong competitive position, it is essential to develop practices to optimize lamb meat quality.

Among all production factors, post-slaughter processes have the most important impact on lamb meat quality (Sañudo et al. 1998), with chilling and aging period being critical points. In Quebec, most of the heavy lambs (carcass weight > 20 kg) are slaughtered in multi-species slaughterhouses designed to chill beef, veal or pork carcasses. As lamb carcasses are smaller and have the greatest surface to volume ratio of these species, they chill faster under the same conditions, making them susceptible to cold shortening of the muscle and hence toughening of the meat (Pearson et Young 1989; Honikel 2004). Ovine muscles are particularly susceptible to this phenomenon due to their important proportion of oxidative fibres (Pearson et Young 1989). This susceptibility of lamb muscles to cold shortening combined with the non-homogenous chilling conditions prevailing in Quebec's slaughterhouses processing lamb carcasses are quite unlikely to be optimal for the quality

of the meat, especially its tenderness. However, no study on cold shortening has ever been conducted on heavy lambs in the Quebec industry.

Along with carcass cooling, aging is another post-slaughter treatment having a major impact on meat quality. It can affect many aspects of meat quality (color, juiciness and flavor) but tenderization is by far its most beneficial effect (Devine 2004). According to Dransfield *et al.* 1981) lamb meat would achieve 80% of its final tenderness in 7.7 d. Unfortunately, most of the lamb meat produced in Quebec reach the market much earlier and sometime with very little aging, if any (Lévesque *et Tremblay* 2007).

Electrical stimulation (ES) is a technology that can help with the management of postmortem temperature/pH profile evolution in order to enhance meat tenderness. However, the variability of parameters, such as stimulation protocol, pre-slaughter animal status and chilling procedure, makes the response to the ES highly variable (Hwang *et al.* 2003; Simmons *et al.* 2008). Electrical stimulation has been developed in New Zealand for the prevention of meat toughening due to fast chilling (Chrystall *et Devine* 1985). Electrical stimulation elicits muscle contraction, in this way accelerating the glycolytic process and, reducing the available ATP to fuel contraction during the onset of rigor, thus preventing excessive shortening under cold temperature (Hwang *et al.* 2003; Devine *et al.* 2004). Other effects of ES have also been proposed, and mechanisms by which ES affects meat quality are multiple and complex (Hwang *et al.* 2003; Simmons *et al.* 2008). In accelerating ATP depletion, ES hasten rigor onset, allowing for an earlier onset of aging juxtaposed to a higher muscle temperature, in this way promoting enzyme activity involved in tenderization (Simmons *et al.* 2008). Electrical stimulation promotes a faster degradation of different myofibrillar and cytoskeletal proteins (Uytterhaegen *et al.* 1992; Ho *et al.* 1996). As both pH and temperature affect enzymes activities, shortening and proteins denaturation altogether, their control through ES and aging management are expected to enhance meat quality.

Therefore, the goal of this study was to evaluate the effect of ES and aging time on the tenderness and overall meat quality improvement of commercial heavy lamb as produced and processed in Quebec.

2.4 Materials and methods

2.4.1 Animal management

Lambs used in this experiment were handled in accordance with the guidelines of the Canadian Council on Animal Care (2009).

Seventy-six Suffolk-sired crossbred male were selected at weaning on nine commercial farms and entered the test station (Centre d'expertise en production ovine du Québec, La Pocatière, QC) at 59.5 ± 0.5 d of age. During the entire experiment, lambs had ad libitum access to a second-cut hay (mainly timothy grass and brome grass) and a pelleted feed (Purania 16%, Agribands Purina; CP: 16%, NEg: 2.50 Mcal kg⁻¹, ADF: 11%). They were weighed once a week at fixed day until they reached the targeted fasted body weight of 50 ± 2 kg. The lambs were fasted for approximately 18 h prior to slaughter. They were slaughtered at a commercial slaughterhouse once a week during eight weeks. Each week, lambs reaching the targeted weight were randomly assigned to one of the two post-slaughter treatments: electrical stimulation (ES) or no ES (Control). ES lambs were electrically stimulated within 5-10 min of slaughter. Each ES lamb was suspended by the hind legs and stimulation was applied for 1 min via a neck clip and a rectal probe using a commercial low-voltage system (21 V (RMS); 0.25 A; Jarvis, Model ES-4, Middletown, CT). Both ES and control carcasses were eviscerated, dressed, weighed and transferred to the chilling room ($0.62 \pm 0.80^{\circ}\text{C}$) within 20-25 min. During the first 24 h of chilling, temperature and pH decline of the *longissimus dorsi* (LD) muscle were monitored (Mettler-Toledo LoT406-M6-DXK-S7/25, Mettler Toledo Ingold Inc., Bedford, MA) along the left rack (*longissimus thoracis*) at 0.75, 3, 6, 12 and 24 h. After overnight chilling, carcasses were graded according to the standard commercial procedure (Agriculture Canada 1992). At 24 h postmortem, carcasses were cut into primal cuts (shoulder, loin, leg, and flank). The loin was separated from the front by a straight cut passing between the sixth and seventh rib; from the leg by a straight cut passing immediately in front of (anterior to) the pin bone and from the flank by a straight cut parallel to the backbone passing through the 13th rib, at the beginning of the costal cartilage. The rack (anterior portion of the entire loin) and the short loin (posterior part) were separated by a straight cut passing behind



(posterior to) the 13th rib. Three of the four LD sections thus fabricated (left short loin and right rack and short loin) from each carcass were assigned in balance design to aging time of 1, 3 or 8 d in order to obtain the same number of each section for each aging time for both treatments. These entire LD sections were subsequently used for shear force measurements and sensory evaluation. One-cm thick slices were also collected from these sections and assigned to the same aging time for subsequent determination of myofibrillar fragmentation index (MFI) at the three aging times and sarcomere length at 1 d of aging. All samples were aged under vacuum-packaging at 4°C and were then frozen at -20°C until laboratory analyses. The last section of the LD (left rack) was kept fresh until 48 h postmortem for drip loss, color and ultimate pH measurements.

2.4.2 Laboratory analyses

2.4.2.1 *Drip Loss, color and pH*

For drip loss measurements, a slice of 1.5 cm was cut from the fresh LD sections at 48 h postmortem. The slice was weighed and suspended for 48 h in a hermetic plastic container maintained at 4°C following the recommendations of Honikel (1987). Drip loss was then determined as the difference between the initial and final weights, expressed in percentage.

The freshly cut surface of the LD section was exposed to air for a 30-min oxygenation period at 4°C and color measurements (L^* , a^* and b^*) were taken in triplicate using a colorimeter (Chroma Meter CR-300, Minolta Co., Ltd., Osaka, Japan). Ultimate pH (around 48 h postmortem) was also measured in triplicate on the LD section with a probe electrode (Mettler-Toledo LoT406-M6-DXK-S7/25, Mettler Toledo Ingold Inc., Bedford, MA).

2.4.2.2 *Cooking loss and shear force*

Shear force measurement was carried on the LD sections (1, 3 and 8 d of aging) of 40 (20 ES and 20 control) carcasses selected at random out of 76 in proportion of the

number of individuals slaughtered per week (the remaining LD of 18 ES and 18 control carcasses were used for sensory evaluation). The LD sections were cooked to an internal temperature of 68°C using an autoclave (Autoclave Pilot Rotor 900, Herman Stock Maschinenfabrik GmbH, Neumunster, Germany) according to the method described in Pouliot et al. (2009). LD sections were weighted before and after cooking to determine cooking loss. Warner-Bratzler shear force (WBSF) measurements were made for each aging time on 1-cm² meat sticks following the procedure described in Pouliot et al. (2009) using a texturometer (TA-XT2i Texture Analyser, Stable Micro System, Godalming, Surrey, UK).

2.4.2.3 Sarcomere Length

Sarcomere length was measured only on meat slices aged for 1 d, following the procedure described in Gariépy et al. (1992), with a phase contrast microscope (Nikon Eclipse E600, Nikon Canada Instruments inc., Mississauga, ON) equipped with a camera (QImaging Retiga 1300, QImaging, Surrey, BC) on 25 myofibrils having at least 10 sarcomeres.

2.4.2.4 Myofibrillar fragmentation index

Myofibrillar fragmentation index (MFI) was measured after each aging period from a slice obtained from the same LD section as used for the shear force measurement. Duplicate 0.5-g samples of muscle were homogenized on ice in 20 ml of buffer solution (KH₂PO₄ 7 mM, K₂HPO₄ 18 mM, KCl 0.1 M, EDTA 1 mM et NaN₃ 1 mM) during 60 s at 26 000 rpm (Polytron PT 3100, Kinematica, Luzernerstrasse, Lucerne, Switzerland). Myofibrillar fragmentation index was determined using the approach described by Hopkins et al. (2000) based on Culler et al. (1978). Absorption was measured at 540 nm using a spectrophotometer (Varian Cary 50, Varian Instruments, Walnut Creek, CA). Protein concentration was determined using the Bradford method (1976).

2.4.2.5 Sensory Evaluation

A sensory profile was determined by a panel composed of 12 members who were trained according to the modified Spectrum™ method of descriptive analysis (Meilgaard et al. 2007). Training involved five 1 h-sessions of familiarisation with references for specified attributes and intensities as well as three performance tests (repetition with the same four lamb meat samples at each session) to improve the discriminating power, homogeneity and repeatability of the evaluation. To determine the sensory profile of the meat from this project, the judges were asked to indicate over six sessions the perceived intensity of flavor, juiciness and firmness characteristics of 108 LD sections (18 LD sections $\times$ 2 treatments $\times$ 3 aging times) according to Meilgaard et al. (1999). At each session, judges received a sample of each aging time from a stimulated carcass and from a control (six samples). Meats from three animals by treatments were used at each session as one animal was served to four judges. Intensities of flavour, juiciness and firmness were evaluated on a scale of 0 (imperceptible) to 7 (extremely high).

2.4.3 Statistical analysis

Two lambs were removed from the analyses because they showed abnormal pH decline and ultimate pH related to the dark, firm and dry (DFD) meat quality defect. The data were analyzed using the MIXED procedure of SAS (SAS Institute Inc. 2001). Carcasses were randomly assigned to post-slaughter treatment (ES or control) in each of the nine blocks (days of slaughter) resulting in a generalized randomized complete block design. For the pH and temperature data, model included slaughter day, treatment (ES or control), postmortem time (0.75, 3, 6, 12 and 24 h) and treatment $\times$ time interaction as fixed effects. Postmortem time was considered as repeated measures. For cooking loss, shear force and MFI, slaughter day, treatment (ES or control), aging time (1, 3 or 8 d) and treatment $\times$ time interaction were included in the model as fixed effects. The effect of aging time (1, 3 or 8 d) was treated as a repeated measure since three LD sections of each carcass were randomly allocated to aging time. For color parameters (L^* , a^* and b^*) and drip loss assessed at 48 h postmortem, the model included fixed effects of slaughter day and treatment (ES or control). For the sensory characteristics (firmness, juiciness and flavor),

analyses were performed in randomized complete block design with fixed effects of judge $\times$ session, treatment (ES or control), aging time and treatment $\times$ time interaction included in the model. Finally, the frequency distribution of shear force around a threshold of 5 kg was analyzed using the LOGISTIC procedure of SAS. Analysis was performed with day of slaughter, treatment, aging time and treatment $\times$ time interaction as main factors in the model. Main effects and interactions were considered to be significant at $P < 0.05$. When treatment $\times$ time interaction was significant, the SLICE option of the LSMEANS statement was used to test the effect of treatment at each time. The Tukey-Kramer adjusted multiple comparisons procedure was used to compare aging time least squares means.

2.5 Results and discussions

2.5.1 Animals

Lambs randomly assigned to post-slaughter treatments had the same growth parameters, and carcass traits. ES and control lambs had a slaughter weight of 49.5 ± 1.1 kg. Age at slaughter was 130 ± 17 d and 127 ± 17 d for ES and control lambs, respectively. Hot carcass weight was 22.7 ± 1.0 kg for ES and 22.6 ± 1.1 kg for the control carcasses. Both groups had comparable fat cover measured at the GR site (12th rib, 11 cm from the vertebral column) with 8.4 ± 2.8 mm and 8.4 ± 2.2 mm for ES and control carcasses respectively.

2.5.2 Temperature and pH decline

The temperature and pH decline (Figure 2.1) measured during this project are in accordance with preliminary results obtained in three slaughterhouses in Quebec (data not shown). As expected, temperature decline was the same for ES and control carcasses ($P = 0.749$). They reached 10°C within 4 h postmortem and 5°C within 5 h. ES carcasses had a lower pH throughout the first 24 h postmortem ($P < 0.001$). The pH difference between control and ES carcasses was about 0.48 pH unit at 45 min postmortem, which is consistent with results from Morton and Newfold (1982), Chrystal and Devine (1985) and Polidori et

al. (1999). In control carcasses, mean pH value was around 6.6 when they reached 10°C. Under these conditions of pH and temperature, carcasses are susceptible to cold-shortening since there is significant amount of ATP in the muscle at a temperature where calcium sequestration is reduced (Devine *et al.* 2004; Honikel 2004). Electrical stimulation however depleted ATP allowing carcasses to reach a pH lower than 6.1 at 10°C, reducing the extent of cold shortening. Muscle shortening is known to be minimal when rigor mortis is achieved at 15°C (Locker et Hagyard 1963; Marsh et Leet 1966). More generally, cold-induced toughening would be avoided when pH 6.0 is reached before temperatures fall under 10°C (Devine *et al.* 2004; Simmons *et al.* 2008). Given the impact of ultimate pH on all quality parameters, it is important to notice that both type of carcasses attained the same ultimate pH at 48 h postmortem (pH = 5.71; $P = 0.803$).

2.5.3 Color and drip loss

Electrical stimulation had an effect on meat color measured 48 h after slaughter (Table 2.1). The L^* (lightness), a^* (redness) and b^* (yellowness) values were all significantly higher for ES meat, which means that this meat was brighter with a superior tinge of red and yellow compared to the control. Similar effects of ES on LD color were reported following high voltage (Riley et al. 1981; Kerth et al. 1999) and low voltage treatments (Warner et al. 2005). Some studies however did not find any color differences after ES (Toohey et al. 2008). In the present study, these effects on meat color were not due to ultimate pH difference as ES and control carcasses showed comparable values. The faster glycolysis induced by ES might have affected oxygen consumption capacity, allowing for a greater oxygenation of the meat before color measurements (Simmons *et al.* 2008) leading to the higher $L^*a^*b^*$ color values obtained. This faster glycolysis however did not increase drip loss in meat from ES carcasses in comparison with the control ($P > 0.763$; Table 2.1) which indicates that pH decline induced by ES was not faster than desired.

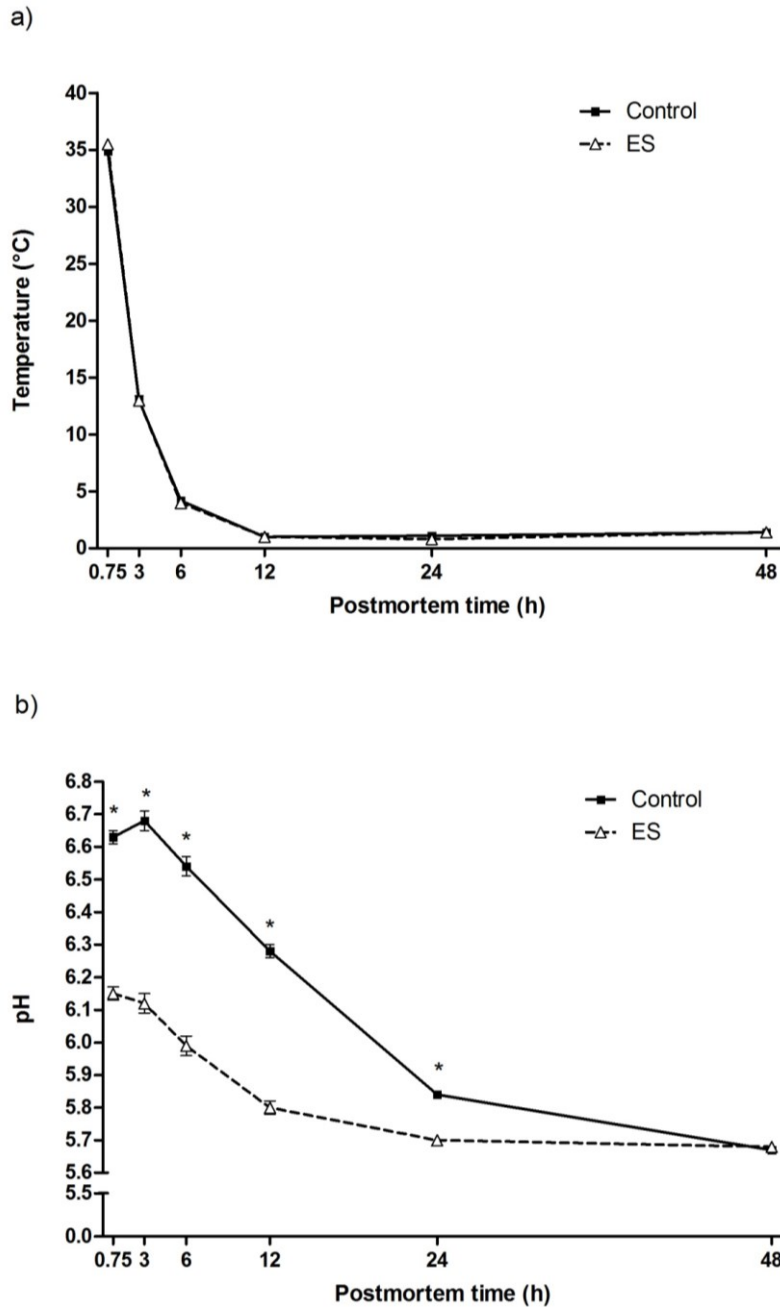


Figure 2.1. Temperature (a) and pH declines (b) of non-stimulated (Control; $n = 37$) and electrically stimulated (ES; $n = 37$) heavy lambs carcasses during the postmortem period. * $P < 0.05$.

Table 2.1. Drip loss and color parameters of 48 h postmortem meat from non-stimulated (Control; n = 37) and electrically stimulated (ES; n = 37) heavy lambs carcasses

Variables	Post-slaughter treatments		SEM	P value
	Control	ES		
Color				
<i>a</i> *	13.17	14.42	0.28	0.001
<i>b</i> *	6.70	7.83	0.20	< 0.0001
<i>L</i> *	38.24	39.47	0.32	0.004
Drip loss (%)	1.20	1.23	0.08	0.763

2.5.4 Cooking loss, tenderness and sensory analysis

Electrical stimulation also had no effect on cooking losses ($P = 0.923$) but aging resulted in lower cooking losses (Table 2.2; $P = 0.042$). A similar effect of aging on reduced cooking loss of lamb meat has also been reported by Abdullah and Qudsieh (2009). This effect could be due to a greater water holding capacity of the meat following aging (Hamm 1986) attributable to the alleviation of the physical constraint following cytoskeletal proteins degradation (Huff-Lonergan et Lonergan 2005). Since drip loss in our study was measured after 48 h, it cannot be ruled out that any subsequent water loss during aging can also potentially influence the cooking loss (Kim et al. 1993).

Electrical stimulation and aging time of the meat both enhanced meat tenderness as estimated by WBSF (Table 2.2; $P < 0.0001$). Independently of ES treatment, WBSF decreased with aging time (6.5, 5.2 and 3.5 kg for 1, 3 and 8 d of aging, respectively; $P < 0.0001$); an effect that was paralleled by an increase of the MFI over the same period of time (89.5, 103.3 and 112.8 for 1, 3 and 8 d of aging, respectively; $P < 0.0001$), indicating the tenderization associated with ageing was due to protein degradation. Such effect of aging is well documented (Olson et al. 1976; Culler et al. 1978). Myofibrillar and cytoskeletal proteins are degraded over time following rigor mortis (Taylor *et al.* 1995) due, in part, to calpain proteases (Koohmaraie et Geesink 2006). An improvement in tenderness higher than 30% was obtained for samples aged for 8 d compared to 3 d (3.5 vs. 5.2 kg, respectively). This finding is consistent with results by Dransfield et al. (1981) who

Table 2.2. Tenderness parameters of meat from non-stimulated (Control; n = 20) and electrically stimulated (ES; n = 19) heavy lambs carcasses after three periods of aging (1, 3 and 8 d)

Variables	Post-slaughter treatments						SEM	<i>P</i> value ^y		
	Control			ES				S	A	S×A
	1 d	3 d	8 d	1 d	3 d	8 d				
Cooking loss (%)	21.5	21.0	20.2	21.1	21.0	20.4	0.7	0.923	0.042	0.776
Shear force (kg)	7.69	6.00	4.25	5.39	4.36	2.81	0.38	0.0001	< 0.0001	0.292
Sarcomere length (μm)	1.67			1.75			0.014	0.0002		
MFI ^z	89.7	104.8	112.9	89.3	101.8	112.6	4.18	0.743	< 0.0001	0.774

^z Myofibrillar fragmentation index

^y S = Stimulation; A = Aging

reported that 80% of the tenderization occurred in 7.7 d in lamb while only 50% occurred in 3.3 d.

Regardless of aging time, ES enhanced meat tenderness, as shown by lower WBSF (4.2 vs. 6.0 kg for ES and control carcasses, respectively; $P = 0.0001$). This finding is consistent with numerous studies that have demonstrated the beneficial effect of stimulation on tenderness (Hwang et al. 2003; Devine et al. 2004). Contrary to the aging effect being dependant on the myofibrillar protein degradation, the positive effect of ES on tenderness seems to be due to difference in sarcomere length, which were longer in ES meat ($P = 0.0002$; Table 2.2). It is generally accepted that sarcomere length reduction due to muscle shortening induces muscle toughening (Marsh et Leet 1966; Bouton et al. 1973) despite the lack of relationship between the two parameters reported in some studies (Culler et al. 1978). The classic works of Marsh and Leet (1966) and Herring et al. (1967) showed that tenderness decrease rapidly when muscle shortens between 20 to 40%. In our study, the difference in sarcomere length and tenderness between ES and control meat, together with the pH and temperature declines recorded, confirm that control carcasses were subject to the phenomenon of cold shortening. Cooling conditions used were obviously too severe for lamb carcasses and caused a decrease in the tenderness of the final product. The reduction in ATP, reflected in a more rapid pH drop, as a result of ES reduced cold shortening and improved tenderness, as reported in many studies (Chrystall et Hagyard 1976; Davey *et al.* 1976). In our study however, ES meat displayed shorter sarcomeres than those reported by Warner et al. (2005). Since pH 6.0 was achieved at temperature below 10°C in ES carcasses, occurrence of some muscle shortening cannot be entirely ruled out (Devine *et al.* 2004; Simmons *et al.* 2008).

In spite of earlier onset of rigor mortis, as supported by the faster pH decline in ES meat (Fig. 1), significant acceleration of aging due to ES as suggested by Geesink et al. (2001) and Simmons et al. (2008) is unlikely in our study. The muscle temperatures at rigor mortis in the ES group was already close to the final temperature of 1°C (Figure 2.1), allowing this way little measurable or practical benefit in terms of ageing. Myofibrillar fragmentation index also supports this assumption since MFI values were similar for both ES and control at each aging time (Table 2.2). Our results therefore show that, in conditions

of rapid chilling, the benefits of ES can be attributed to avoiding the toughening effects of cold shortening, rather than accelerating ageing.

In the literature, a 5 kg shear force value corresponds to the tenderness acceptability threshold for lamb meat consumers (Shorthose et al. 1986; Safari et al. 2002). Based on this cut-off, the frequency distribution for the shear force values (Figure 2.2) showed that most ES lamb in our study was acceptable for the consumer (70.9% of WBSF lower than 5 kg). The controls however only had one third of the carcasses within the desired range ($P < 0.0001$). The distribution also indicated that aging time improves consumer acceptability of the meat (24.3, 46.0 and 84.2% of meat below 5.0 kg of WBSF at 1, 3 and 8 d; $P < 0.0001$). Moreover, 100% of the ES meat aged for 8 d had WBSF below the 5 kg threshold. Therefore, ES and aging for 8 d could represent a meat tenderness guarantee for Quebec heavy lambs.

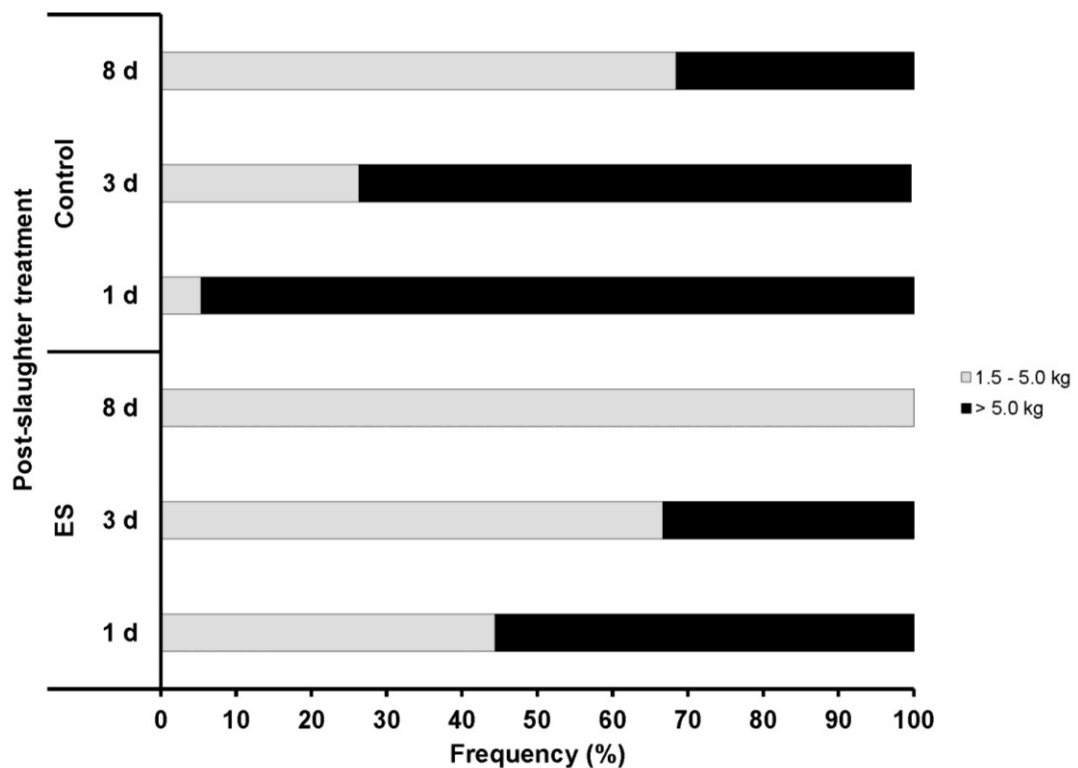


Figure 2.2. Frequency of meat from non-stimulated (Control; $n = 20$) and electrically stimulated (ES; $n = 19$) heavy lambs carcasses below and over the acceptability threshold of 5 kg for the three periods of aging (1, 3 and 8 d)



Results of the sensory analysis, showed a significant treatment $\times$ aging interaction for firmness ($P = 0.023$; Table 2.3) that was not observed with the carcasses assessed by WBSF. Sensory profiles showed that ES meat was more tender than the control at both 3 and 8 d of aging. Similar to WBSF results, firmness score decreased with aging for ES, indicating improved tenderness (Table 2.3). For the control, a positive effect of aging was perceived only after 8 d. It is noteworthy that mean shear forces for 1 and 3 d aged control and 1 d aged ES (Table 2.2) were higher than the 5 kg threshold reported for consumer acceptability (Shorthose et al. 1986; Safari et al. 2002), which could have reduced the ability of panelists to discriminate meat according to firmness.

It is important to emphasize that ES meat aged for 3 d was as tender as the control aged for 8 d on the basis of shear force, sensory analysis and acceptability. In all cases, ES meat aged for 8 d gave the best results.

No significant effect of both ES and aging was perceived by the trained panel on juiciness of the meat (Table 2.3), which confirms that the effect of aging on cooking losses was minor.

Electrical stimulation had an effect on meat flavor as perceived by the sensory panel (Table 2.3). Results indicated that typical ovine flavor was less intense in ES meat than in control. Although small in magnitude, such result can either be regarded as positive or negative depending on consumer preferences for lamb flavor. Electrical stimulation has been reported to improve slightly the flavor desirability scores of beef but not that of lamb (Savell et al. 1977; Riley et al. 1981). Consistent with Boland et al. (2006) who demonstrated that longer chewing increases the release of volatile compounds in gels, it could be hypothesized that tenderness improvement following ES reduced the chewing necessary to degrade the structure of the meat, liberation of flavour compounds and hence flavour perception.

Table 2.3. Sensory analysis of lamb meat from non-stimulated (Control; n = 17) and electrically stimulated (ES; n = 18) carcasses after three periods of aging (1, 3 and 8 d)

Variables	Post-slaughter treatments						SEM	<i>P</i> value ^z		
	Control			ES				S	A	S×A
	1 d	3 d	8 d	1 d	3 d	8 d				
Firmness	4.88	4.71	3.74	4.48	3.56	2.97	0.17	0.0003	< 0.0001	0.023
Juiciness	3.03	2.89	2.63	2.62	2.87	2.77	0.15	0.541	0.298	0.076
Flavor	3.86	3.77	3.92	3.55	3.63	3.59	0.11	0.017	0.822	0.633

^z S = Stimulation; A = Aging

0 = imperceptible to 7 = extremely high

2.6 Conclusions and implications

The present study showed that lamb meat tenderness is not optimal under the current post-slaughter processes in Quebec. Heavy lamb carcasses are chilled too rapidly, causing toughening of the meat. Most of the lamb carcasses reach the Quebec's markets after 3 d postmortem, an aging time where meat tenderness is far from that could be achieved after 8 d as shown in the present study. However, extended maturation requires extra-storage spaces which are generally not available in commercial slaughterhouses. Electrical stimulation in combination with 3 d of aging could be used to enhance the lamb meat tenderness to the level attained after 8 d without ES. Further research could be done to optimize the combination of ES and aging treatments to provide a tenderness guarantee for Quebec lamb.

2.7 Acknowledgements

This study was made possible by the financial support of the Conseil pour le développement de l'agriculture du Québec, Agriculture and Agri-Food Canada (AAC), the Fonds de recherche sur la nature et les technologies du Québec and the Centre d'expertise en production ovine du Québec (CEPOQ). The authors also wish to thank Agribrands Purina Canada, Sélection BERARC, Abattoir Luceville inc., Abattoir Rolland Pouliot et Fils inc., Abattoir Forget Ltée. and the staff of the CEPOQ and of AAC Food Research and Development Centre.

2.8 References

- Abdullah, A. Y. and Qudsieh, R. I. 2009. Effect of slaughter weight and aging time on the quality of meat from Awassi ram lambs. *Meat Sci.* 82: 309-316.
- Agriculture Canada. 1992. Livestock and poultry carcass grading regulation (SOR/92-541). *Canada Gazette, Part II.* 126: 3848.
- Boland, A. B., Delahunty, C. M. and van Ruth, S. M. 2006. Influence of the texture of gelatin gels and pectin gels on strawberry flavour release and perception. *Food Chem.* 96: 452-460.

Bouton, P. E., Carroll, F. D., Harris, P. V. and Shorthose, W. R. 1973. Influence of pH and fiber contraction state upon factors affecting the tenderness of bovine muscle. *J. Food Sci.* 38: 404-407.

Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.

Chrystall, B. B. and Devine, C. E. 1985. Electrical stimulation: Its early development in New Zealand. Pages 73-119 in A. M. Pearson, T. R. Dutson, eds. *Advances in meat research*. AVI publishing company, inc., Westport, CT.

Chrystall, B. B. and Hagyard, C. J. 1976. Electrical stimulation and lamb tenderness. *N.Z. J. Agric. Res.* 19: 7-11.

Conseil canadien de protection des animaux. 2009. Lignes directrices du CCPA sur : le soin et l'utilisation des animaux de ferme en recherche, en enseignement et dans les tests. CCAC, Ottawa, ON.

Culler, R. D., Parrish, F. C., Smith, G. C. and Cross, H. R. 1978. Relationship of myofibril fragmentation index to certain chemical, physical and sensory characteristics of bovine longissimus muscle. *J. Food Sci.* 43: 1177-1180.

Davey, C. L., Gilbert, K. V. and Carse, W. A. 1976. Carcass electrical stimulation to prevent cold shortening toughness in beef. *N.Z. J. Agric. Res.* 19: 13-18.

Devine, C. E. 2004. Conversion of muscle to meat : Ageing. Pages 330-338 in W. Jensen, C. Devine, M. Dikeman, eds. *Encyclopedia of Meat Sciences*. Elsevier Academic Press, Oxford, UK.

Devine, C. E., Hopkins, D. L., Hwang, I. H., Ferguson, D. M. and Richards, I. 2004. Electrical stimulation. Pages 413-423 in W. Jensen, C. Devine, M. Dikeman, eds. *Encyclopedia of Meat Sciences*. Elsevier Academic Press, Oxford, UK.

Dransfield, E., Jones, R. C. D. and MacFie, H. J. H. 1981. Tenderising in *M. longissimus dorsi* of beef, veal, rabbit, lamb and pork. *Meat Sci.* 5: 139-147.

Gariépy, C., Amiot, J., Pommier, S. A., Flipot, P. M. and Girard, V. 1992. Electrical stimulation and 48 hours aging of bull and steer carcasses. *J. Food Sci.* 57: 541-544.

Hamm, R. 1986. Functional properties of the myofibrillar system and their measurements. Pages 135-199 in P. J. Bechtel, ed. *Muscle as food*. Academic Press, Orlando, FL.

Herring, H. K., Cassens, R. G., Suess, G. G., Brungardt, V. H. and Briskey, E. J. 1967. Tenderness and associated characteristics of stretched and contracted bovine muscles. *J. Food Sci.* 32: 317-323.

Ho, C. Y., Stromer, M. H. and Robson, R. M. 1996. Effect of electrical stimulation on postmortem titin, nebulin, desmin, and troponin-T degradation and ultrastructural changes in bovine longissimus muscle. *J. Anim. Sci.* 74: 1563-1575.

Honikel, K. O. 1987. Critical evaluation of methods detecting waterholding capacity in meat. Pages 225-239 in A. Romita, C. Valin, A. A. Taylor, eds. Accelerated processing of meat. Elsevier Applied Science, London, UK.

Honikel, K. O. 2004. Conversion of muscle to meat : Cold and heat shortening. Pages 318-323 in W. Jensen, C. Devine, M. Dikeman, eds. Encyclopedia of meat sciences. Elsevier Academic Press, Oxford, UK.

Hopkins, D. L., Littlefield, P. J. and Thompson, J. M. 2000. A research note on factors affecting the determination of myofibrillar fragmentation. Meat Sci. 56: 19-22.

Huff-Lonergan, E. and Lonergan, S. M. 2005. Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. Meat Sci. 71: 194-204.

Hwang, I. H., Devine, C. E. and Hopkins, D. L. 2003. The biochemical and physical effects of electrical stimulation on beef and sheep meat tenderness. Meat Sci. 65: 677-691.

Kerth, C. R., Cain, T. L., Jackson, S. P., Ramsey, C. B. and Miller, M. F. 1999. Electrical stimulation effects on tenderness of five muscles from Hampshire × Rambouillet crossbred lambs with the callipyge phenotype. J. Anim. Sci. 77: 2951-2955.

Kim, B. C., Warner, R. D. and Kauffman, R. G. 1993. Changes in expressible fluid losses of porcine musculature at different times post-rigor. Proc. 39th International Congress of meat and technology, Calgary, AB.

Koohmaraie, M. and Geesink, G. H. 2006. Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. Meat Sci. 74: 34-43.

Lévesque, J. and Tremblay, M. E. 2007. Analyse des points critiques relatifs à la qualité de l'agneau lourd du Québec. Guide Provincial,

Locker, R. H. and Hagyard, C. J. 1963. A cold shortening effect in beef muscle. J. Sci. Food Agric. 14: 787.

Marsh, B. B. and Leet, N. G. 1966. Studies on meat tenderness. III. Effect of cold shortening on tenderness. J. Food Sci. 31: 450.

Meilgaard, M., Civille, G. V. and Carr, B. T. 1999. Sensory evaluation techniques. 3rd ed. CRC Press, Boca Raton, FL. 387 pp.

Meilgaard, M., Civille, G. V. and Carr, B. T. 2007. Sensory evaluation techniques. 4th ed. CRC Press, Boca Raton, FL. 464 pp.

Morton, H. C. and Newbold, R. P. 1982. Pathways of high and low voltage electrical stimulation in sheep carcasses. Meat Sci. 7: 285-297.

Olson, D. G., Parrish, F. C. and Stromer, M. H. 1976. Myofibril fragmentation and shear resistance of three bovine muscles during postmortem storage. J. Food Sci. 41: 1036-1041.

Pearson, A. M. and Young, R. B. 1989. Muscle and meat biochemistry. Academic press, San Diego, CA. 457 pp.

- Polidori, P., Lee, S., Kauffman, R. G. and Marsh, B. B. 1999. Low voltage electrical stimulation of lamb carcasses: effect on meat quality. *Meat Sci.* 53: 179-182.
- Pouliot, E., Gariépy, C., Thériault, M., Avezard, C., Fortin, J. and Castonguay, F. W. 2009. Growth performance, carcass traits and meat quality of heavy lambs reared in a warm or cold environment during winter. *Can. J. Anim. Sci.* 89: 229-239.
- Riley, R. R., Savell, J. W., Smith, G. C. and Shelton, M. 1981. Improving appearance and palatability of meat from ram lambs by electrical stimulation. *J. Anim. Sci.* 52: 522-529.
- Safari, E., Channon, H. A., Hopkins, D. L., Hall, D. G. and van de Ven, R. 2002. A national audit of retail lamb loin quality in Australia. *Meat Sci.* 61: 267-273.
- Sañudo, C., Sanchez, A. and Alfonso, M. 1998. Small ruminant production systems and factors affecting lamb meat quality. *Meat Sci.* 49: s29-s64.
- SAS Institute Inc. 2001. Version 8.2. SAS Institute, Inc, Cary, NC.
- Savell, J. W., Smith, G. C., Dutson, T. R., Carpenter, Z. L. and Suter, D. A. 1977. Effect of electrical stimulation on palatability of beef, lamb and goat meat. *J. Food Sci.* 42: 702-706.
- Shorthose, W. R., Powell, V. H. and Harris, P. V. 1986. Influence of electrical stimulation, cooling rates and aging on the shear force values of chilled lamb. *J. Food Sci.* 51: 889-892.
- Simmons, N. J., Daly, C. C., Cummings, T. L., Morgan, S. K., Johnson, N. V. and Lombard, A. 2008. Reassessing the principles of electrical stimulation. *Meat Sci.* 80: 110-122.
- Taylor, R. G., Geesink, G. H., Thompson, V. F., Koohmaraie, M. and Goll, D. E. 1995. Is Z-disc degradation responsible for postmortem tenderization. *J. Anim. Sci.* 73: 1351-1367.
- Toohey, E. S., Hopkins, D. L., Stanley, D. F. and Nielsen, S. G. 2008. The impact of new generation pre-dressing medium-voltage electrical stimulation on tenderness and colour stability in lamb meat. *Meat Sci.* 79: 683-691.
- Uytterhaegen, L., Claeys, E. and Demeyer, D. 1992. The effect of electrical stimulation on beef tenderness, protease activity and myofibrillar fragmentation. *Biochimie* 74: 275-281.
- Warner, R. D., Ferguson, D. M., McDonagh, M. B., Channon, H. A., Cottrell, J. J. and Dunshea, F. R. 2005. Acute exercise stress and electrical stimulation influence the consumer perception of sheep meat. *Aust. J. Exp. Agric.* 45: 553-560.

Chapitre 3 Use of electrical stimulation and chilling to enhance heavy lamb meat tenderness

Ce chapitre a été publié dans la revue « Canadian Journal of Animal Science » sous la référence suivante : Pouliot, E., Gariépy, C., Thériault, M. and Castonguay, F. W. 2014. Use of electrical stimulation and chilling to enhance meat tenderness of heavy lambs. Can. J. Anim. Sci. 94: 627-637.

Rapport-Gratuit.com

3.1 Résumé

L'objectif de cette étude était de déterminer si la stimulation électrique et le refroidissement peuvent permettre de moduler la dynamique de chute de pH et de température des carcasses afin d'améliorer la tendreté de la viande des agneaux lourds produits au Québec et déterminer s'il y a une fenêtre de température optimum à laquelle les carcasses doivent atteindre le pH 6,0. Un total de 128 agneaux lourds (poids à jeun entre 38 et 52 kg) ont été sélectionnés à l'abattoir au cours de huit journées d'abattage (16 agneaux/j) et assignés à un des quatre traitements dans un plan factoriel 2×2 : stimulation électrique (ES) ou non (NES) et refroidissement normal (NC) ou lent (SC). Les carcasses SC sont demeurées plus chaudes pendant les 12 premières heures postmortem ($P < 0,001$) puis ont atteint la même température que les carcasses NC. Elles ont également présenté un pH inférieur entre 2 et 12 h ($P < 0,05$). La stimulation électrique a engendré une chute plus rapide du pH durant les 24 premières heures ($P < 0,001$), sans affecter le pH ultime ($P = 0,738$). Les forces de cisaillement ont été améliorées par la ES et la maturation ($P < 0,001$), tandis que la vitesse de refroidissement n'a eu aucun impact ($P = 0,400$). Les interactions stimulation $\times$ maturation pour la force de cisaillement ($P = 0,019$) et l'indice de fragmentation myofibrillaire ($P = 0,097$) indiquent que la maturation a débuté plus rapidement suite à la ES. Les sarcomères étaient plus longs pour les échantillons de viande ES que NES ($P < 0,001$), ce qui indique que les carcasses NES étaient sujettes au phénomène de contraction due au froid. La viande provenant des carcasses NES était plus susceptible d'être dure, bien qu'une proportion importante des carcasses NES ont produit une viande tendre ce qui illustre l'importance de la variation individuelle sur la tendreté et la multitude de facteurs impliqués dans son développement. Aucune fenêtre optimale pour la température à pH 6,0 n'a été observée.

3.2 Abstracts

The aim of this study was to determine if electrical stimulation and chilling can modulate pre-rigor pH-temperature dynamics in order to enhance meat tenderness of heavy lambs produced in Quebec and determine if there is an optimum carcass temperature window to reach pH 6.0. A total of 128 heavy lambs (fasted body weight between 38 and

52 kg) were selected at the abattoir over eight slaughter days (16 lambs/d) and assigned to four processing treatments in a 2×2 factorial design: electrical stimulation (ES) or not (NES) and normal (NC) or slow (SC) chilling. Slow-chilled carcasses stayed warmer during the first 12 h postmortem ($P < 0.001$), but reached the same temperature as NC ones thereafter. They also had a lower pH between 2 and 12 h ($P < 0.05$). Stimulated carcasses had a lower pH than NES throughout the first 24 h postmortem ($P < 0.001$), while ultimate pH was similar ($P = 0.738$). Shear force values were improved ($P < 0.001$) by both ES and aging, although chilling had no effect ($P = 0.400$). Stimulation $\times$ aging interactions for shear force values ($P = 0.019$) and myofibrillar fragmentation index ($P = 0.097$) indicate that aging began earlier following ES. Sarcomeres were longer for ES compared to NES carcasses ($P < 0.001$) indicating that the latter were subject to cold shortening. Meat from NES carcasses was more prone to be tough, although an important part of NES carcasses provided tender meat. This illustrates the importance of individual variations on tenderness and the multiplicity of factors involved in its development. No optimal window was observed for temperature at pH 6.0.

3.3 Introduction

Among all production factors, post-slaughter processes have the most important impact on lamb tenderness (Sañudo et al. 1998), with chilling and aging period being critical factors. In Quebec, most heavy lambs are slaughtered in multi-species abattoirs designed to chill beef, veal or pork carcasses (MAPAQ 2008). Due to their smaller size and their fibre type composition, ovine carcasses are susceptible to cold shortening and hence toughening of the meat in these conditions (Pearson and Young 1989). In fact, a recent study showed that meat tenderness from heavy lambs produced and processed in Quebec could be enhanced by electrical stimulation (ES), mostly through reduction of cold shortening (Pouliot et al. 2012a). Since lamb is perceived as a premium meat in Quebec and tenderness is one of the most important factors for consumer appreciation (Safari et al. 2002), established packing plant practices are needed to achieve optimal quality to meet consumer expectations and to stay competitive.

Managing pH and temperature decline appears to be crucial control points, as these parameters affect cold and heat shortening (Honikel 2004), enzymatic activity (Dransfield et al. 1992; Uytterhaegen et al. 1992; Hwang and Thompson 2001a), protein denaturation (Penny 1969; Offer 1991) and hence meat quality. Temperature of lamb carcass at pH 6.0 appears to affect tenderness and eating quality and Thompson et al. (2005) suggested there was an optimal carcass temperature window to achieve pH 6.0. The Meat Standards Australia lamb and sheep meat program first targeted the 18-25°C window (Thompson et al. 2005; Toohey et al. 2008) which was subsequently increased to 18-35°C (Pearce et al. 2010).

Electrical stimulation of lamb carcasses is a postmortem processing procedure to attain the desired pH-temperature window. In addition to cold shortening reduction (Chrystall and Devine 1985; Devine et al. 2004), the benefits of ES on meat tenderness may be due to aging acceleration caused by faster ATP depletion, hastening rigor onset and allowing for tenderization to begin sooner and at higher temperature (Hwang et al. 2003; Simmons et al. 2008). It is well recognized that myofibrillar and cytoskeletal proteolysis occurs during aging and enhances meat tenderness (Koohmaraie 1994; Taylor et al. 1995; Hopkins and Taylor 2004), even if mechanisms are still under investigation. The calpain/calpastatin system plays a major role in the process (Dransfield 1993; Koohmaraie 1994; Koohmaraie and Geesink 2006), but other proteases (Ouali et al. 2006; Kemp and Parr 2012) or mechanisms (Wu and Smith 1987; Takahashi 1996) could be implicated. Faster proteolysis of cytoskeletal and myofibrillar proteins following ES have been reported (Uytterhaegen et al. 1992; Ho et al. 1996), as ES impacts on calpain/calpastatin system activities (Uytterhaegen et al. 1992; Lee et al. 2000; Hwang and Thompson 2001a).

However, there is extensive variation in ES response among studies, due in part to variability in ES protocols, pre-slaughter animal status and chilling conditions. Mechanisms by which ES enhances meat quality are not completely understood (Hwang et al. 2003). In this context, the aim of this study was to determine if electrical stimulation and chilling can modulate the pre-rigor pH-temperature dynamics in order to enhance meat tenderness of heavy lambs produced in Quebec and determine if there is an optimum carcass temperature window to reach pH 6.0.

3.4 Materials and methods

3.4.1 Treatments and samplings

Between June and August 2010, 128 male market lambs were selected in a federally inspected abattoir over eight slaughter days (16 lambs/d) based on weight (fasted body weight between 38 and 52 kg) and randomly assigned to one of four treatments (4 lambs/treatment on each slaughter day) in a 2×2 factorial design:

NES_NC = No electrical stimulation (NES) and normal chilling (NC);

ES_NC = Electrical stimulation (ES) and normal chilling (NC);

ES_SC = Electrical stimulation (ES) and slow chilling (SC);

NES_SC = No electrical stimulation (NES) and slow chilling (SC).

Each ES carcass was hung by the hind legs and electrical stimulation was applied 5-10 min after slaughter for 30 sec using a neck clip and a rectal probe and a commercial low-voltage system (21 V RMS; 0.25 A; 5 ms pulse width; Jarvis, Model ES-4, Middletown, CT). Both ES and NES carcasses were pelted, dressed, weighed and submitted to either a conventional (“normal”) or slow chilling process within 25 min postmortem. The average room temperature for the NC treatment was $1.1 \pm 1.4^{\circ}\text{C}$. For the SC treatment, carcasses were chilled for 3 h at $9.6 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$ and then transferred in NC conditions, in an attempt to reach pH 6.0 between 18-25°C, as determined in preliminary tests. Temperature and pH decline were monitored along the left *longissimus lumborum* (LL) muscle at 0.75, 2, 3, 6, 12 and 24 h post-slaughter. The pH meter (200 series pH meter, Beckman Instruments, inc, Brea, CA) equipped with a puncture electrode (Mettler-Toledo LoT406-M6-DXK-S7/25, Mettler Toledo Ingold Inc., Bedford, MA) was calibrated at a near carcass temperature at every single time and a temperature compensation probe was used during measurements. Carcasses were graded according to the standard commercial procedure (Agriculture and Agri-food Canada 1992), based on visual assessment of shoulder, loin and leg conformation using a scale from 1 (deficient muscling) to 5 (excellent muscling) and ruler measurement of total tissue depth at the GR site (12th rib, 11 cm from the vertebral column). At 24 h postmortem, carcasses were cut into primal cuts (shoulder, loin, leg and flank). Left and right racks were separated from the front by a straight cut between the 6th and 7th rib; from

the short loin by a straight cut behind (posterior to) the 13th rib and from the flank by a straight cut parallel to the backbone passing through the 13th rib, at the beginning of the costal cartilage. One-cm thick slices were also collected at the caudal end of these racks for determination of myofibrillar fragmentation (MFI). Racks and slices were vacuum-packaged and assigned in balanced design to 3 or 8 d of aging at 4°C before being frozen at -30°C. Slices were assigned to the same aging time than the corresponding racks. Ultimate pH (pHu) was measured at 48 h on the left short loin (*LL*) maintained at 4°C. At the same moment, a slice was taken and frozen at -20°C for sarcomere length analysis.

3.4.2 Laboratory analyses

3.4.2.1 Color, cooking loss and shear force

Racks aged for 3 and 8 d were thawed at 4°C for 48 h. Color measurements (L^* , a^* and b^*) were taken in triplicate on the *longissimus thoracis* (*LT*) muscle from a slice cut from thawed racks and exposed to air at 4°C for a 30-min oxygenation period with a colorimeter (Chroma Meter CR-300, Minolta Co., Ltd., Osaka, Japan) calibrated on a white tile. Racks were deboned and *LT* muscles were trimmed of fat and epimysium. The trimmed muscles were weighed and were then cooked in a convection oven (Market Forge 2600PHE, Market Forge Industries, Burlington, VT) to an internal temperature of 68°C as individually determined with thermocouples. Cooked *LT* sections were weighed again to determine cooking loss by weight difference. Warner-Bratzler shear force (WBSF) measurements were made on 1-cm² meat sticks following the procedure described by Pouliot et al. (2009) using a texturometer (TA-XT2i Texture Analyser, Stable Micro Systems, Godalming, UK).

3.4.2.2 Sarcomere length

Sarcomere length was measured from meat slices aged for 48 h. Following homogenization of 2.5-g samples of muscle in 50 ml sucrose buffer (0.2 M) using a 40-sec burst at 14 000 rpm (IKA T-18 Basic Ultra Turrax Homogenizer, IKA Works inc., Wilmington, NC), 25 images of myofibrils having at least 10 consecutive sarcomeres were taken for each sample with a phase contrast microscope (Nikon Eclipse TE2000-E, Nikon

Canada Instruments inc., Mississauga, ON) equipped with a camera (ORCA-ER, Hamamatsu Photonics, Hamamatsu city, Japan). The average length of sarcomere was determined using the open source image analysis software ImageJ (<http://rsbweb.nih.gov/ij/>).

3.4.2.3 *Myofibrillar fragmentation index*

Myofibrillar fragmentation index was determined on 1-cm thick slices aged for 3 or 8 d using the approach described by Hopkins et al. (2000) based on Culler et al. (1978). A sub-sample of 160 slices was used (20 slices $\times$ 4 post-slaughter ES/chilling treatments $\times$ 2 aging times). Duplicate 2-g samples of muscle were homogenized on ice in 25 ml of buffer solution (KH_2PO_4 7 mM, K_2HPO_4 18 mM, KCl 0.1 M, EDTA 1 mM et NaN_3 1 mM) using two bursts of 30 s at 14 000 rpm (IKA T-18 Basic Ultra Turrax Homogenizer, IKA Works inc., Wilminaton, NC). Homogenates were filtered using a polyethylene strainer (1 mm²). Myofibril suspensions were centrifuged (10 min, 2100 rpm, 2°C) and washed two times before being finally re-suspended in 40 ml cold buffer. Protein concentration was determined using the Biuret protein assay (Gornall et al. 1949) and samples were diluted to 0.5 mg/ml in triplicate. Absorption was measured at 540 nm using a spectrophotometer (Genesys 10 UV, Thermo Spectronic, Rochester, NY).

3.4.3 Statistical analysis

Carcasses were randomly assigned to post-slaughter treatments (ES and chilling) in each of the eight blocks (days of slaughter) resulting in a generalized randomized complete block design. Out of the 128 carcasses, 21 were identified as DFD based on pHu higher than 5.8 (mean: 6.07; range: 5.86-6.65) and were removed from all analyses. The distribution of these high pHu carcasses was not different according to treatments or days of slaughter. The 5.8 threshold was chosen based on studies on lamb and beef quality (Purchas 1990; Watanabe et al. 1996; Geesink et al. 2001). Two NES carcasses were also excluded from the study due to abnormal pH decline. For the remaining 105 carcasses, the data were analyzed using the MIXED procedure of SAS (SAS Institute Inc. Cary, NC). For temperature and pH decline, the model included ES and chilling treatments, postmortem time and interactions as fixed effects with hot carcass weight and GR as covariates.

Slaughter day was included as random effect. Observations of postmortem time were considered as repeated measures. For color, cooking loss, shear force and MFI, ES and chilling treatments, aging time (3 or 8 d) and interactions were included in the model as fixed effects with hot carcass weight and GR as covariates. Slaughter day was included as random effect. The effect of aging time was treated as a repeated measure since both racks of each carcass were allocated to aging times. For sarcomere length, ES and chilling treatments and interactions were included in the model as fixed effects with hot carcass weight and GR as covariates. Slaughter day was included as random effect. In all cases, non-significant interactions and covariates were sequentially excluded from the model. When significant interactions were found, the slice option of SAS was used to perform an analysis of simple effects.

Temperature at pH 6.0 was determined for each carcasses using Matlab software (MathWork, Natick, MA). A spline interpolation was used to estimate the time at pH 6.0 and then this time was used to estimate the temperature at pH 6.0 for each carcass. Carcasses were grouped in different classes according to their temperature at pH 6.0 for distribution determination: $T \leq 10^{\circ}\text{C}$; $10^{\circ}\text{C} < T < 35^{\circ}\text{C}$ (with a subclass of $18^{\circ}\text{C} < T < 25^{\circ}\text{C}$) and $T \geq 35^{\circ}\text{C}$. The relation between temperature at pH 6.0 (linear and quadratic) and shear force, sarcomere length and MFI was also tested using the MIXED procedure of SAS (SAS Institute Inc. Cary, NC), with slaughter day included as random effect. Based on the graphical exploration of the data, a 5°C threshold was used to test the effect of carcasses reaching pH 6.0 below and over 5°C . Then, the effect of temperature at pH 6.0 (linear and quadratic) was tested on the subset reaching pH 6.0 over 5°C .

3.5 Results and discussion

3.5.1 Carcasses

Although there were some differences in carcass traits between slaughter dates, carcass traits did not differ among ES and chilling treatments neither within a slaughter date nor for the entire project ($n=105$, $P > 0.5$, data not shown). Hot carcass weight,

conformation and fat cover measured at the GR site were respectively 22.4 ± 1.9 kg, 3.3 ± 0.4 and 11.2 ± 3.0 mm (means $\pm$ SD).

3.5.2 Temperature and pH decline

As expected, within chilling procedures temperature decline was the same for ES and NES carcasses ($P = 0.691$). Therefore, the data from ES and NES carcasses are combined in figure 3.1. A time $\times$ chilling interaction was observed ($P < 0.001$) as slow-chilled carcasses were warmer during the first 12 h, but had similar temperatures to normally chilled carcasses thereafter.

Irrespective of treatment, an important proportion of carcasses (16.7%) had a pHu higher than 5.8 and were removed from pH decline analysis. Color differences in terms of L^* , a^* and b^* confirmed that this pHu was high enough to induce DFD-like defects (Pouliot et al. 2012b). The incidence of these high pHu carcasses was not related to post-slaughter treatments applied in this study, slaughter dates or transport distance (data not shown). To our knowledge, this is the first report indicating that the incidence of pH-related DFD-like condition could be important in Quebec, which suggests that some pre-slaughter practices are not optimal for lamb meat quality. Further investigations are needed to determine the real incidence of this condition across abattoir and season and to identify the pre-slaughter practices implicated.

At 45 min postmortem, pH values for *longissimus* from ES carcasses averaged 6.16, which was 0.59 pH unit lower than values for *longissimus* from NES carcasses (Figure 3.1). This response to low-voltage ES is in accordance with previous results obtained with the same ES system (Pouliot et al. 2012a), although only half the ES time was required in the present study (30 sec vs 60 sec). Genetic and pre-slaughter factors could be responsible for the variation in response to ES between the two studies as they have an impact on fibre type, metabolism and energy status. According to Pearce et al. (2010), optimal settings for the same ES systems differ among abattoirs and between slaughter dates.

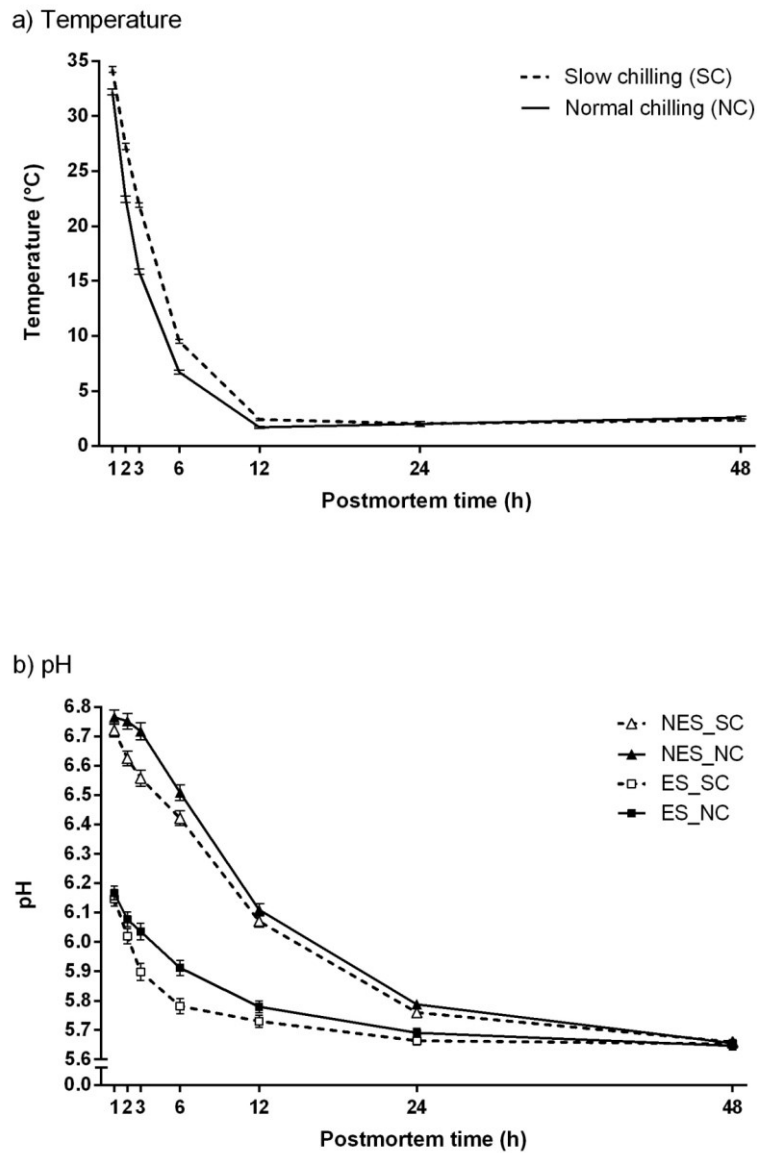


Figure 3.1. Temperature (a) and pH (b) decline of lamb carcasses (n = 105) following electrical stimulation (ES) or not (NES) and normal (NC) or slow (SC) chilling

The authors recommended that optimal settings must be determined for each abattoir and that in-house testing must be done on a regular basis to ensure that ES systems work optimally.

A time $\times$ stimulation interaction for pH ($P < 0.001$; Figure 3.1) was observed due to the lower pH of ES carcasses throughout the first 24 h postmortem compared to NES carcasses ($P < 0.001$), with no differences in pHu ($P = 0.738$). Irrespective of ES treatment, a time $\times$ chilling interaction was also found ($P < 0.001$), owing to the faster pH decline for SC carcasses between 2 and 12 h ($P < 0.05$). This result can be explained by a faster rate of glycolysis and pH decline under warmer conditions (Marsh 1954; Jeacocke 1977). There were no differences thereafter ($P > 0.05$).

Grouping of carcasses based on their temperature at pH 6.0 showed that almost all NES carcasses, under both chilling procedures, reached pH 6.0 below 10°C (Table 3.1), making them susceptible to cold-shortening (Honikel 2004). In fact, these NES carcasses reached 10°C at pH 6.4-6.5, indicating that there is still significant amount of ATP in the muscle at a temperature where calcium sequestration is reduced. Comparable results have been reported by Pouliot et al. (2012a).

Table 3.1. Carcass distribution into pH-temperature groups according to electrical stimulation (ES) or not (NES) and normal (NC) or slow (SC) chilling

Temperature at pH 6.0	NES		ES	
	NC	SC	NC	SC
$\leq 10^{\circ}\text{C}$	24	27	8	1
$> 10^{\circ}\text{C}$ and $< 35^{\circ}\text{C}$	0	1	18	20
($> 18^{\circ}\text{C}$ and $< 25^{\circ}\text{C}$)	(0)	(0)	(9)	(6)
$\geq 35^{\circ}\text{C}$	0	0	1	5

Some ES carcasses were below 10°C at pH 6.0, indicating that ES can reduce the risk of cold-shortening, but not completely prevent it. Moreover, the distribution of ES carcasses between the pH-temperature groups showed an important variation in response to ES in the lamb population (Table 3.1). Some carcasses reached pH 6.0 above 35°C, indicating such fast postmortem metabolism could potentially induce defects as PSE-like condition (Simmons et al. 2008), rigor shortening or poor aging due to a fast autolysis of calpains (Simmons et al. 1996; Hwang and Thompson 2001b). This over-responsiveness to ES with its consequent steep pH drop caused these carcasses to almost reach a pH of 6.0 at

45 min postmortem (individual data not shown). This phenomenon appeared more important in slow chilling conditions probably owing to a faster glycolysis at warmer carcass temperature (Marsh, 1954; Jeacocke, 1977). These observations indicate that response variability to ES between animals and chilling temperatures is relatively important and command for a better mastering of this technology. Important individual variation in response to low-voltage ES has also been reported in beef by Hollung et al. (2007). Notwithstanding, temperature at pH 6.0 was higher for ES_SC carcasses than ES_NC carcasses (25.6 vs. 15.8°C; $P < 0.001$) and both of them had higher temperature at pH 6.0 than NES (2.4 and 1.4°C for SC and NC respectively; $P = 0.581$). Almost 72% (38/53) of the ES carcasses in both chilling procedures in our study reached pH 6.0 between 10 and 35°C (Table 3.1), a window of carcass temperature where most defects are prevented according to Thompson (2002). However, only 28% (15/53; Table 3.1) of ES carcasses were in the pH-temperature window recommended by the Australian Sheep Meat Quality program (pH 6.0 at 18-25°C), which is between the 43% and 20% of ES carcasses reported by Australian studies using a different stimulation system and protocol (Pearce et al. 2006; Toohey et al. 2008). In the study by Toohey et al. (2008), 68% of ES carcasses reached pH 6.0 at or over 18°C compared to 25% for NES. In the present study, 62% of ES carcasses reached pH 6.0 at or over 18°C, but no NES carcasses were (data not shown). Few years ago, the MSA recommendations have changed to a new target window of 18-35°C (Pearce et al. 2010).

3.5.3 Color

Electrical stimulation affected meat color after 3 and 8 d of aging (Table 3.2) according to the higher L^* , a^* and b^* values for ES meat compared to NES meat ($P \leq 0.037$). Similar results have been reported in a previous study in Quebec using the same ES system (Pouliot et al. 2012a) and in other lamb studies using high or low voltage systems (Riley et al. 1981; Kerth et al. 1999; Warner et al. 2005). Aging also increased L^* and a^* values (Table 3.2). In fact, there were trends for chilling $\times$ aging interactions for a^* and b^* parameters ($P = 0.063$ and $P = 0.064$), where aging had significant effects in the SC condition ($P < 0.05$), but not in the NC condition ($P > 0.5$). The effect of ES and aging on

meat color could be due to a difference in blooming, a term used to describe the oxygenation of the purple myoglobin pigment to the bright red oxymyoglobin pigment. It has been shown that oxygen consumption rates for muscle decrease with aging time (Atkinson 1969; McKenna et al. 2005) due to a decrease in mitochondrial activity (Bendall and Taylor 1972) and that blooming is faster in aged meat than fresh meat (Young and West 2001). According to Ledward (1992), ES can also damage the enzyme systems responsible for oxygen consumption. As samples were vacuum-packaged and only exposed to oxygen for 30 min prior to color measurements, the oxygenation time was the same for each sample. It is possible that ES and aged meat consumed less oxygen during the oxygenation period, which was therefore available for blooming and may explain color differences. Such an explanation however, does not rule out any potential physico-chemical effect that faster pH decline at high temperature in ES carcasses can have on protein denaturation and hence color differences. The potential role of protein denaturation in color differences observed in this study is supported by the fact that aging seems to only have an impact on a^* and b^* in SC condition, where pH fall was also faster and temperature fall slower.

3.5.4 Cooking loss and tenderness

Cooking losses were not affected by ES, chilling or aging treatments (Table 3.3). The absence of an aging effect differs with our previous results where cooking losses were reduced by aging time (Pouliot et al. 2012a). This difference could be due to different cooking methods resulting overall in more important cooking losses in the present study (around 30%) compared to the previous one (around 20%), albeit in the range reported by other studies (Safari et al. 2002; Hopkins et al. 2006). Cooking methods have been shown to influence cooking loss in beef (Panea et al. 2008).

Shear force values however were improved ($P < 0.001$) by both ES and aging as expected, although chilling had no effect (Table 3.3). A significant stimulation $\times$ aging interaction ($P = 0.019$) indicates that aging from 3 to 8 days had a more important effect on shear force values of NES compared to ES carcasses (respectively -1.80 and -1.31 kg improvement) which is probably due to the fact that ES meat was already tender at 3 d and

improved less thereafter. This is in accordance with the MFI results where a trend for a stimulation $\times$ aging interaction ($P = 0.097$; Table 3.3) indicates that the difference between ES and NES was more important at 3 d ($P = 0.001$), than at 8 d ($P = 0.155$). However, at 8 d ES meat was still more tender than NES. In fact, ES meat aged for 3 d had the same shear force value than NES meat aged for 8 d; these findings are supported by our previous study (Pouliot et al. 2012a) where, however, ES did not affect MFI values. The literature is not clear on the effect of ES on MFI in lamb. Past studies did not report any effect of ES on MFI (Kerth et al. 1999; Martin et al. 2006; Toohey et al. 2008), while other studies found higher MFI following ES (Kadim et al. 2009; Abbasvali et al. 2012). Differential response to ES between studies may have arisen from inherent experimental conditions. It has been proposed that ES can improve tenderness due to an acceleration of aging and proteolysis (Hwang et al. 2003; Simmons et al. 2008). According to Simmons et al. (2008), stimulation could accelerate onset of rigor mortis and allow tenderization to begin sooner, when carcass temperature is higher, giving a head start to ES meat in term of tenderization. Indeed, faster proteolysis of cytoskeletal and myofibrillar proteins following ES have been reported (Uytterhaegen et al. 1992; Ho et al. 1996), which support this assumption. Effects of ES on calpain activity have been reported (Dransfield et al. 1992; Uytterhaegen et al. 1992; Lee et al. 2000; Hwang and Thompson 2001a; Hwang and Thompson 2001b) and more recently, a study on the proteome changes between ES and NES samples also suggested an acceleration of proteolysis following ES (Bjarnadóttir et al. 2011).

Table 3.2. Color parameters of lamb *longissimus thoracis* aged for 3 or 8 d following electrical stimulation (ES) or not (NES) and normal (NC) or slow (SC) chilling.

	Aging 3 d				Aging 8 d				SEM	P value ^x			
	NES		ES		NES		ES			A	S	C	C × A
	NC	SC	NC	SC	NC	SC	NC	SC					
<i>L</i> [*]	37.7	37.5	39.0	39.1	38.1	38.1	39.1	39.7	0.6	0.024	0.035	0.869	
<i>a</i> [*]	12.2	12.5	13.6	13.2	12.5	13.0	13.6	14.1	0.4	0.008	0.006	0.488	0.063
<i>b</i> [*]	7.3	7.4	8.4	8.1	7.4	7.6	8.2	8.5	0.4	0.366	0.037	0.840	0.064

^x A, Aging; S, Stimulation; C, Chilling

Table 3.3. Tenderness parameters of lamb *longissimus thoracis* aged for 3 or 8 d following electrical stimulation (ES) or not (NES) and normal (NC) or slow (SC) chilling.

	Aging 3 d				Aging 8 d				SEM	P value ^x				
	NES		ES		NES		ES			A	S	C	A × S	S × C
	NC	SC	NC	SC	NC	SC	NC	SC						
Cooking loss (%)	30.3	29.2	29.3	30.2	29.9	30.2	29.3	29.9	0.6	0.793	0.653	0.759		
Shear Force (kg)	5.49	5.72	4.03	4.24	3.56	4.06	2.77	2.87	0.31	<0.001	<0.001	0.400	0.019	
SL (μm) ^y	1.60	1.69	1.73	1.73					0.02		<0.001	0.061		0.087
MFI ^z	69.4	62.8	73.8	75.6	96.7	95.1	98.0	101.0	2.7	<0.001	0.004	0.675	0.097	

^x A, Aging; S, Stimulation; C, Chilling

^y SL, Sarcomere length

^z MFI, Myofibrillar fragmentation index

Electrical stimulation can also enhance meat tenderness by preventing or reducing the incidence of cold shortening, as it was originally intended for (Chrystall and Devine 1985). According to the trend for stimulation $\times$ chilling interaction ($P = 0.087$), ES meat had longer sarcomeres compared to NES group, but the difference was found to be significant for the NC conditions only (NC: $P < 0.001$; SC: $P = 0.167$) with the shortest sarcomeres measured in NES carcasses chilled conventionally (Table 3.3). In fact, 50% of NES_NC and 25% of NES_SC had sarcomeres that were smaller than the shortest length measured in ES carcasses under both chilling conditions (data not shown). These results indicate that NES carcasses were subjected to a cold induced contraction, at least in the so-called NC conditions of the abattoir. At first sight, these measurements suggest that SC allowed for longer sarcomeres in NES carcasses. However, the temperature and pH data rather showed that NES_SC carcasses were as much in the cold shortening risk zone than NES_NC, namely under 10°C when ATP was still available for contraction as indicated by their pH decline curve (Fig 1). In fact, pH of these NES_SC carcasses was over 6.4 when their temperature reached 10°C and they reached pH 6.0 at 2.5°C, well under a temperature zone where cold shortening is prevented (Devine et al. 2004; Honikel 2004). In spite of the tendency for NES_SC meat to have longer sarcomeres compared to those from NES_NC, these two treatments were not different in terms of shear force values. Such results are difficult to explain. Overall, sarcomeres were short in this study compared to those measured in Warner et al. (2005) but are comparable to those obtained in a previous study conducted under similar conditions (Pouliot et al. 2012a). In the study reported herein, a wide range in sarcomere lengths was observed for both ES and NES meat (Figure 3.2).

Although there was no correlation between sarcomere length and WBSF ($P > 0.5$, data not shown), a curvilinear relation between sarcomere length and WBSF at 3 d of aging was observed for NES meat ($R^2 = 0.19$; $P = 0.031$), but not in the case of ES meat ($R^2 = 0.05$; $P = 0.221$; Figure 3.2). In their classic work, conducted on pre-rigor excised muscle, Marsh and Leet (1966) found that tenderness was not affected by muscle contraction until a decrease of 20% of the initial muscle length, at which point tenderness decreases as shortening progresses to 40%, and then started to increase thereafter as shortening progresses further due to structural damage (Marsh et al. 1974). However, their data set showed an almost 3-fold range of shear force values in the 25-35% shortening

window, indicating that for a similar shortening, muscles can present a wide range of shear force. Similarly in the present study, the toughest NES muscle had sarcomeres between 1.60 and 1.70 μm , an area with a 3-fold range of shear force values (Figure 3.2). Even if it is generally well accepted that shortened muscles are tougher than stretched muscles, the evidence came from studies comparing a large range of shortening and stretching on excised muscles (Marsh and Leet 1966; Herring et al. 1967). Shortening of skeletally restrained muscles from hung carcasses could be less important (Locker 1960; McCrae et al. 1971) and result in more subtle and complex impacts on shear force than shortening of excised muscles. At the same sarcomere length, ES meat was more tender than NES meat (Figure 3.2), which suggests that the enhancement of tenderness following ES is more complex than only reducing cold shortening. In fact, a substantial proportion of ES meat was tender despite having sarcomere lengths associated with tough meat for NES carcasses. The higher MFI observed for ES meat could explain, in part, this observation or at least indicated the importance of both parameters for meat tenderness.

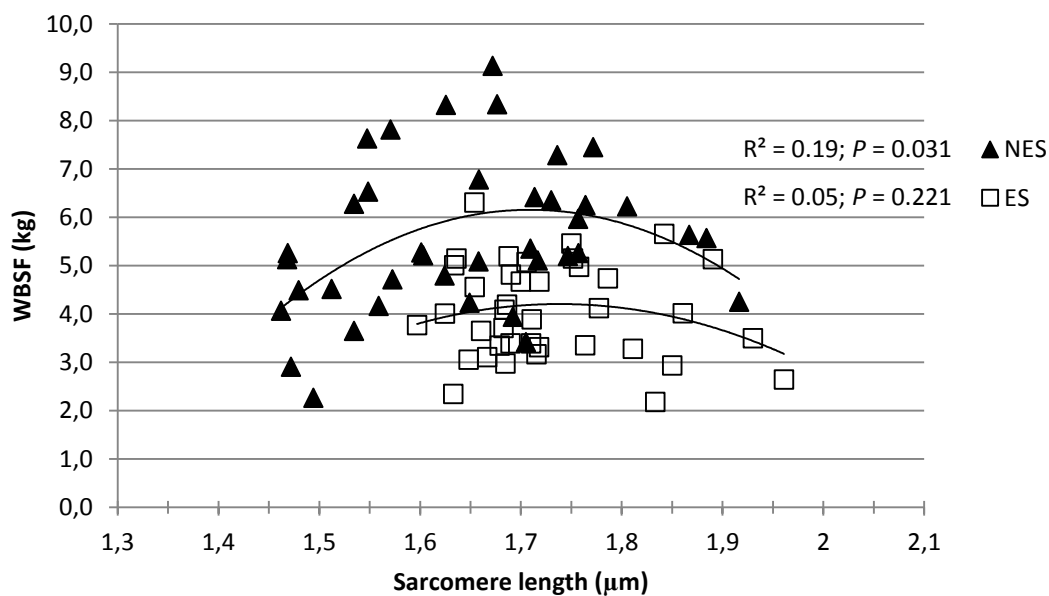


Figure 3.2. Relationship between Warner Bratzler shear force at 3 d of aging and sarcomere length following electrical stimulation (ES) or not (NES)

Based on the 5-kg shear force value threshold for consumer acceptability reported in the literature (Shorthose et al. 1986; Safari et al. 2002), only 35% of NES meat was acceptable at 3 d compared to 76% for ES (data not shown). After 8 d of aging, 100% of ES meat was below the 5-kg threshold compared to 79% of NES meat (data not shown). Even if more NES meat had acceptable shear force values than in a previous study (Pouliot et al. 2012a), too many pieces presented unacceptable shear forces, especially after 3 d of aging. It appears therefore that electrical stimulation is efficient in reducing negative eating experiences related to tough meat after 3 d of aging, which is representative of the aging period used in Quebec, and could even offer some kind of guarantee for tenderness when combine with 8 d of aging.

3.5.5 Temperature at pH 6.0

Beyond the effects of ES and chilling on meat quality improvement, the second goal of this study was to validate if the pH-temperature window proposed for optimal lamb meat quality in Australia also applies to carcasses from heavy lambs such as produced in Quebec. For that purpose, the ES x chilling factorial design used in this study provided us with a wide range of temperature decline and glycolysis rates ensuing different muscle temperatures at pH 6.0. As seen in figure 3.3, despite the large range in temperature at pH 6.0 and shear force, no relationship is apparent between the two parameters, except for the obvious difference between carcasses reaching pH 6.0 at either below or above 5°C ($P < 0.001$). Carcasses reaching pH 6.0 below 5°C produced the toughest meat, but presented a large range of shear force values over a very narrow window of temperature. Many carcasses in this group were as tender as others reaching pH 6.0 at higher temperatures. Above 5°C, no effect of temperature at pH 6.0 was observable on shear force values ($P = 0.576$). A similar pattern was also obtained with sarcomere measurements, with a wide range in length occurring especially at temperatures below 5°C, where the shortest sarcomeres were found along with sarcomeres having the same length as those from carcasses reaching pH 6.0 at a more favorable temperature (Figure 3.3). Therefore, below 5°C, some carcasses are at risk of cold shortening and meat is more prone to be tough, although a substantial proportion of carcasses could also provide tender meat in these

conditions which illustrates the importance of individual variations on tenderness and the multiplicity of factors involved in its development. However, sarcomeres were shorter for carcasses that reached pH 6.0 below 5°C than over it ($P = 0.011$).

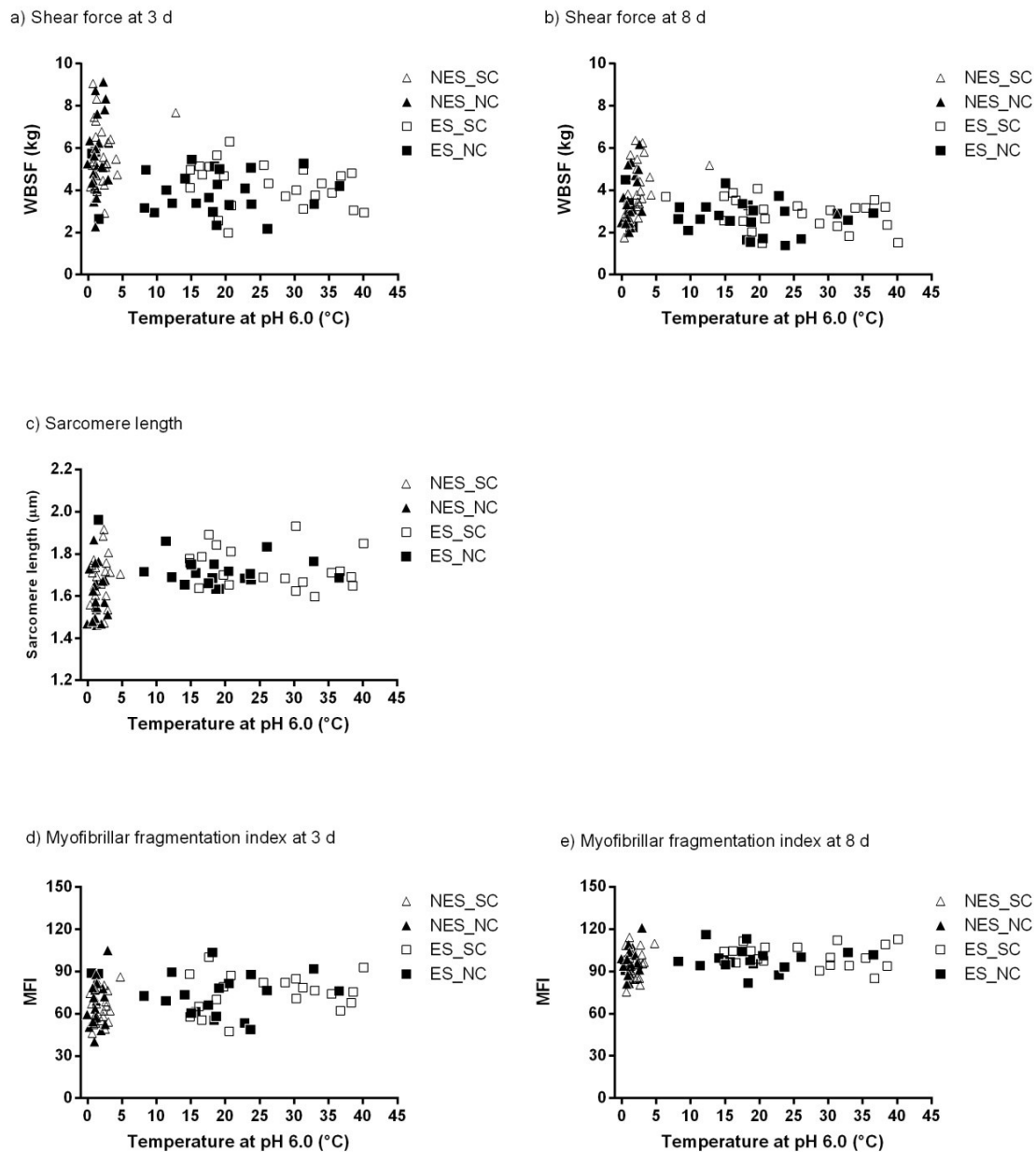


Figure 3.3. Relation between temperature at pH 6 and Warner Bratzler shear force at 3 (a) and 8 (b) days, sarcomere length (c) and myofibrillar fragmentation index at 3 (d) and 8 (e) days following electrical stimulation (ES) or not (NES) and normal (NC) or slow (SC) chilling.

The same conclusions applied to MFI, where smaller average MFI were obtained below 5°C ($P = 0.017$; Figure 3.3) altogether with an absence of any relationship over this temperature at pH 6.0 ($P = 0.800$). In fact, above 5°C, there were no relationships existing between temperature at pH 6.0, WBSF, sarcomere length and MFI ($P > 0.5$) although meat was more tender and had longer sarcomeres and higher MFI than at below 5°C. As carcasses reaching pH 6.0 above 5°C were in major part ES carcasses, it is impossible to conclude altogether if resulting tenderness is caused by higher temperature at pH 6.0 (Devine et al. 2004; Honikel 2004), some kind of indirect effect of ES mediating pH fall, or even to a direct, but not measured effect of ES on onset of aging or on the fibre structure (Savell et al. 1978; Takahashi et al. 1984; Takahashi et al. 1987). As aging starts near or at rigor according to Devine and Graafhuis (1995), absence of the expected relationship between temperature at pH 6.0 and MFI does not allow us to support the assumption that ES accelerates proteolysis due, in part, to higher temperature (Simmons et al. 2008). Considering MFI was higher for ES meat and was negatively correlated to shear force at both 3 and 8 d (respectively $r = -0.36$ and $r = -0.28$; $P < 0.018$), it appears possible that ES promoted proteolysis independently of temperature, simply due to an early onset of aging and calpains activation. Overall, our results do not support the Australian recommendation with respect to attaining a temperature window at pH 6.0 for optimum eating quality of lamb (Thompson et al. 2005; Pearce et al. 2010). It is important to note that their recommendation was based on eating quality, not on shear force value.

3.6 Conclusions and implications

Tenderness is not optimal for heavy lamb carcasses from Quebec under current post-slaughter conditions. This study showed that ES enhances lamb tenderness at 3 and 8 d of aging, but the mechanisms still remain to be elucidated. Sarcomere length seems to play a role, but the important variation between carcasses under the same conditions (stimulation and chilling) and the weak relationship with shear force indicate that its role is not as important as thought. Myofibrillar fragmentation index indicate that proteolysis was faster for ES carcasses and correlated to tenderness. However, the results do not indicate there is an optimum window of temperature at pH 6.0 for tenderness, suggesting that ES may act in

part independently of temperature. Electrical stimulation combined with 8 d of aging could offer some kind of guarantee for meat tenderness of heavy lambs, but protocols must be adjusted based on response measurements in abattoirs.

3.7 Acknowledgements

This study was made possible by the financial support of the ministère de l'Agriculture des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec, Agriculture and Agri-Food Canada, the Fédération des producteurs d'agneaux et de moutons du Québec and the Centre d'expertise en production ovine du Québec. The authors wish to thank Abattoir Luceville inc. and Sélection BERARC inc.

3.8 References

- Abbasvali, M., Shekarforoush, S. S., Aminlari, M. and Ebrahimnejad, H. 2012. Effects of medium-voltage electrical stimulation on postmortem changes in fat-tailed sheep. *J. Food Sci.* 77: S47-S53.
- Agriculture and Agri-food Canada. 1992. Livestock and poultry carcass grading regulation (SOR/92-541). *Canada Gazette*, Part II. 126: 3848.
- Atkinson, J. J. 1969. Post-mortem changes in the oxygen uptake and NAD content of lamb *muscularis semimembranosus*. *Nature* 223: 1372-1373.
- Bendall, J. R. and Taylor, A. A. 1972. Consumption of oxygen by the muscles of beef animals and related species. II. Consumption of oxygen by post-rigor muscle. *J. Sci. Food Agric.* 23: 707-719.
- Bjarnadóttir, S. G., Hollung, K., Høy, M. and Veiseth-Kent, E. 2011. Proteome changes in the insoluble protein fraction of bovine *Longissimus dorsi* muscle as a result of low-voltage electrical stimulation. *Meat Sci.* 89: 143-149.
- Chrystall, B. B. and Devine, C. E. 1985. Electrical stimulation: Its early development in New Zealand. Pages 73-119 in A. M. Pearson, T. R. Dutson, eds. *Advances in meat research: Electrical Stimulation*. AVI publishing company, inc., Westport, CT.
- Culler, R. D., Parrish, F. C., Smith, G. C. and Cross, H. R. 1978. Relationship of myofibril fragmentation index to certain chemical, physical and sensory characteristics of bovine *longissimus* muscle. *J. Food Sci.* 43: 1177-1180.
- Devine, C. E. and Graafhuis, A. E. 1995. The basal toughness of unaged lamb. *Meat Sci.* 39: 285-291.

Devine, C. E., Hopkins, D. L., Hwang, I. H., Ferguson, D. M. and Richards, I. 2004. Electrical stimulation. Pages 413-423 in W. Jensen, C. Devine, M. Dikeman, eds. Encyclopedia of Meat Sciences. Elsevier Academic Press, Oxford, UK.

Dransfield, E. 1993. Modelling post-mortem tenderisation-IV: Role of calpains and calpastatin in conditioning. Meat Sci. 34: 217-234.

Dransfield, E., Etherington, D. J. and Taylor, M. A. J. 1992. Modelling post-mortem tenderisation - II: Enzyme changes during storage of electrically stimulated and non-stimulated beef. Meat Sci. 31: 75-84.

Gornall, A. G., Bardawill, J. and David, M. M. 1949. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. J. Biol. Chem. 177: 751-766.

Herring, H. K., Cassens, R. G., Suess, G. G., Brungardt, V. H. and Briskey, E. J. 1967. Tenderness and associated characteristics of stretched and contracted bovine muscles. J. Food Sci. 32: 317-323.

Ho, C. Y., Stromer, M. H. and Robson, R. M. 1996. Effect of electrical stimulation on postmortem titin, nebulin, desmin, and troponin-T degradation and ultrastructural changes in bovine longissimus muscle. J. Anim. Sci. 74: 1563-1575.

Hollung, K., Veiseth, E., Froystein, T., Aass, L., Langsrud, O. and Hildrum, K. I. 2007. Variation in the response to manipulation of post-mortem glycolysis in beef muscles by low-voltage electrical stimulation and conditioning temperature. Meat Sci. 77: 372-383.

Honikel, K. O. 2004. Conversion of muscle to meat : Cold and heat shortening. Pages 318-323 in W. Jensen, C. Devine, M. Dikeman, eds. Encyclopedia of meat sciences. Elsevier Academic Press, Oxford, UK.

Hopkins, D. L., Littlefield, P. J. and Thompson, J. M. 2000. A research note on factors affecting the determination of myofibrillar fragmentation. Meat Sci. 56: 19-22.

Hopkins, D. L. and Taylor, R. G. 2004. Post-mortem muscle proteolysis and meat tenderness. Pages 363-388 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, Wallingford, UK.

Hwang, I. H., Devine, C. E. and Hopkins, D. L. 2003. The biochemical and physical effects of electrical stimulation on beef and sheep meat tenderness. Meat Sci. 65: 677-691.

Hwang, I. H. and Thompson, J. M. 2001a. The effect of time and type of electrical stimulation on the calpain system and meat tenderness in beef longissimus dorsi muscle. Meat Sci. 58: 135-144.

Hwang, I. H. and Thompson, J. M. 2001b. The interaction between pH and temperature decline early postmortem on the calpain system and objective tenderness in electrically stimulated beef *longissimus dorsi* muscle. Meat Sci. 58: 167-174.

Jeacocke, R. E. 1977. The temperature dependence of anaerobic glycolysis in beef muscle held in a linear temperature gradient. J. Sci. Food Agric. 28: 551-556.

- Kadim, I. T., Mahgoub, O., Al-Marzooqi, W., Khalaf, S., Al-Sinawi, S. S. H. and Al-Amri, I. S. 2009. Effects of transportation during the hot season and low voltage electrical stimulation on histochemical and meat quality characteristics of sheep longissimus muscle. *Livest. Sci.* 126: 154-161.
- Kemp, C. M. and Parr, T. 2012. Advances in apoptotic mediated proteolysis in meat tenderisation. *Meat Sci.* 92: 252-259.
- Kerth, C. R., Cain, T. L., Jackson, S. P., Ramsey, C. B. and Miller, M. F. 1999. Electrical stimulation effects on tenderness of five muscles from Hampshire × Rambouillet crossbred lambs with the callipyge phenotype. *J. Anim. Sci.* 77: 2951-2955.
- Koohmaraie, M. 1994. Muscle proteinases and meat aging. *Meat Sci.* 36: 93-104.
- Koohmaraie, M. and Geesink, G. H. 2006. Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. *Meat Sci.* 74: 34-43.
- Ledward, D. A. 1992. Colour of raw and cooked meat. Pages 129-144 in D. E. Johnson, M. K. Knight, D. A. Ledward, eds. *The chemistry of muscle-based foods*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK.
- Lee, S., Polidori, P., Kauffman, R. G. and Kim, B. C. 2000. Low-voltage electrical stimulation effects on proteolysis and lamb tenderness. *J. Food Sci.* 65: 786-790.
- Locker, R. H. 1960. Degree of muscular contraction as a factor in tenderness of beef. *J. Food Sci.* 25: 304-307.
- Marsh, B. B. 1954. Rigor mortis in beef. *J. Sci. Food Agric.* 5: 70-75.
- Marsh, B. B. and Leet, N. G. 1966. Studies in meat tenderness. III. The effects of cold shortening on tenderness. *J. Food Sci.* 31: 450-459.
- Marsh, B. B., Leet, N. G. and Dickson, M. R. 1974. The ultrastructure and tenderness of highly cold-shortened muscle. *Int. J. Food Sci. Technol.* 9: 141-147.
- Martin, K. M., Hopkins, D. L., Gardner, G. E. and Thompson, J. M. 2006. Effects of stimulation on tenderness of lamb with a focus on protein degradation. *Aust. J. Exp. Agric.* 46: 891-896.
- McCrae, S. E., Secombe, C. G., Marsh, B. B. and Carse, W. A. 1971. Studies in meat tenderness. 9. The tenderness of various lamb muscles in relation to their skeletal restraint and delay before freezing. *J. Food Sci.* 36: 566-570.
- McKenna, D. R., Mies, P. D., Baird, B. E., Pfeiffer, K. D., Ellebracht, J. W. and Savell, J. W. 2005. Biochemical and physical factors affecting discoloration characteristics of 19 bovine muscles. *Meat Sci.* 70: 665-682.
- Offer, G. 1991. Modelling of the formation of pale, soft and exudative meat: Effects of chilling regime and rate and extent of glycolysis. *Meat Sci.* 30: 157-184.
- Olson, D. G., Parrish, F. C. and Stromer, M. H. 1976. Myofibril fragmentation and shear resistance of three bovine muscles during postmortem storage. *J. Food Sci.* 41: 1036-1041.

- Ouali, A., Herrera-Mendez, C. H., Coulis, G., Becila, S., Boudjellal, A., Aubry, L. and Sentandreu, M. A. 2006. Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms. *Meat Sci.* 74: 44-58.
- Pearce, K. L., Hopkins, D. L., Toohey, E., Pethick, D. W. and Richards, I. 2006. Quantifying the rate of pH and temperature decline in lamb carcasses using medium voltage electrical stimulation in an Australian abattoir. *Aust. J. Exp. Agric.* 46: 869-874.
- Pearce, K. L., Hopkins, D. L., Williams, A., Jacob, R. H., Pethick, D. W. and Phillips, J. K. 2009. Alternating frequency to increase the response to stimulation from medium voltage electrical stimulation and the effect on objective meat quality. *Meat Sci.* 81: 188-195.
- Pearce, K. L., Van de Ven, R., Mudford, C., Warner, R. D., Hocking Edwards, J., Jacob, R. H., Pethick, D. W. and Hopkins, D. L. 2010. Case studies demonstrating the benefits on pH and temperature decline of optimising medium-voltage electrical stimulation of lamb carcasses. *Anim. Prod. Sci.* 50: 1107-1114.
- Pearson, A. M. and Young, R. B. 1989. *Muscle and meat biochemistry*. Academic press, San Diego, CA. 457 pp.
- Penny, I. F. 1969. Protein denaturation and water-holding capacity in pork muscle. *J. Fd. Technol.* 4: 269-273.
- Pouliot, E., Gariépy, C., Thériault, M., Avezard, C., Fortin, J. and Castonguay, F. W. 2009. Growth performance, carcass traits and meat quality of heavy lambs reared in a warm or cold environment during winter. *Can. J. Anim. Sci.* 89: 229-239.
- Pouliot, E., Gariépy, C., Thériault, M., Avezard, C., Fortin, J., Simmons, N. J. and Castonguay, F. W. 2012a. Effects of low-voltage electrical stimulation and aging on lamb meat quality. *Can. J. Anim. Sci.* 92: 59-66.
- Pouliot, E., Gariépy, C., Thériault, M. and Castonguay, F. W. 2012b. Use of post-slaughter technologies to enhance heavy lamb meat quality: pH response and variation. *Proc. 58th Int. Congr. Meat Sci. Technol.*, Montréal, QC.
- Riley, R. R., Savell, J. W., Smith, G. C. and Shelton, M. 1981. Improving appearance and palatability of meat from ram lambs by electrical stimulation. *J. Anim. Sci.* 52: 522-529.
- Safari, E., Channon, H. A., Hopkins, D. L., Hall, D. G. and van de Ven, R. 2002. A national audit of retail lamb loin quality in Australia. *Meat Sci.* 61: 267-273.
- Sañudo, C., Sanchez, A. and Alfonso, M. 1998. Small ruminant production systems and factors affecting lamb meat quality. *Meat Sci.* 49: s29-s64.
- Savell, J. W., Dutson, T. R., Smith, G. C. and Carpenter, Z. L. 1978. Structural changes in electrically stimulated beef muscle. *J. Food Sci.* 43: 1606-1607.
- Shorthose, W. R., Powell, V. H. and Harris, P. V. 1986. Influence of electrical stimulation, cooling rates and aging on the shear force values of chilled lamb. *J. Food Sci.* 51: 889-892.
- Simmons, N. J., Daly, C. C., Cummings, T. L., Morgan, S. K., Johnson, N. V. and Lombard, A. 2008. Reassessing the principles of electrical stimulation. *Meat Sci.* 80: 110-122.

Simmons, N. J., Singh, K., Dobbie, P. and Devine, C. E. 1996. The effect of prerigor holding temperature on calpain and calpastatin activity and meat tenderness. Proc. 42nd International Congress of Meat Science and Technology, Lillehammer, NO.

Takahashi, G., Lochnert, J. V. and Marsh, B. B. 1984. Effects of low-frequency electrical stimulation on beef tenderness. Meat Sci. 11: 207-225.

Takahashi, G., Wang, S.-M., Lochner, J. V. and Marsh, B. B. 1987. Effects of 2-Hz and 60-Hz electrical stimulation on the microstructure of beef. Meat Sci. 19: 65-76.

Takahashi, K. 1996. Structural weakening of skeletal muscle tissue during post-mortem ageing of meat: the non-enzymatic mechanism of meat tenderization. Meat Sci. 43: 67-80.

Taylor, R. G., Geesink, G. H., Thompson, V. F., Koohmaraie, M. and Goll, D. E. 1995. Is Z-disc degradation responsible for postmortem tenderization. J. Anim. Sci. 73: 1351-1367.

Thompson, J. 2002. Managing meat tenderness. Meat Sci. 62: 295-308.

Thompson, J. M., Hopkins, D. L., D'Souza, D. N., Walker, P. J., Baud, S. R. and Pethick, D. W. 2005. The impact of processing on sensory and objective measurements of sheep meat eating quality. Aust. J. Exp. Agric. 45: 561-573.

Toohy, E. S., Hopkins, D. L., Stanley, D. F. and Nielsen, S. G. 2008. The impact of new generation pre-dressing medium-voltage electrical stimulation on tenderness and colour stability in lamb meat. Meat Sci. 79: 683-691.

Uytterhaegen, L., Claeys, E. and Demeyer, D. 1992. The effect of electrical stimulation on beef tenderness, protease activity and myofibrillar fragmentation. Biochimie 74: 275-281.

Warner, R. D., Ferguson, D. M., McDonagh, M. B., Channon, H. A., Cottrell, J. J. and Dunshea, F. R. 2005. Acute exercise stress and electrical stimulation influence the consumer perception of sheep meat. Aust. J. Exp. Agric. 45: 553-560.

Wu, F. Y. and Smith, S. B. 1987. Ionic Strength and Myofibrillar Protein Solubilization. J. Anim. Sci. 65: 597-608.

Young, O. A. and West, J. 2001. Meat Color. Pages 39-70 in O. A. Young, R. W. Rogers, Y. H. Hui, W.-K. Nip, eds. Meat Science and Applications. CRC Press, Boca Raton, FL.

Chapitre 4 Assessment of postmortem proteolysis and proteases activity to understand lamb meat tenderness and tenderization

4.1 Résumé

Le but de cette étude était de déterminer la dynamique de protéolyse postmortem et le rôle des calpaïnes et des caspases 3/7 au cours du processus d'attendrissement de la viande d'agneau. Pour ce faire, des échantillons présentant des patrons d'attendrissement différents ont été utilisés. Vingt-quatre carcasses ont été sélectionnées et réparties en quatre groupes de six en fonction de la force de cisaillement Warner-Bratzler du muscle *longissimus dorsi* à 3 j de maturation (élevée ou faible) et de l'attendrissement entre 3 et 8 j (faible ou importante). Le pH ultime, la teneur en collagène, la perte à la cuisson, la longueur des sarcomères, l'indice de fragmentation myofibrillaire (IFM), la dégradation de la troponine-T et la desmine (électrophorèse et immunobuvardage), l'activité des calpaïnes et de la calpastatine, l'activité des caspases 3/7 et l'oxydation (TBARS) ont été déterminés et comparés entre les groupes. La tendreté à 3 j semble être liée à la protéolyse, comme l'indiquait l'IFM supérieur et la dégradation de la troponine-T plus importante. L'activité supérieure de la calpastatine à 1 h postmortem chez la viande dure à 3 j suggère qu'elle joue un rôle au tout début de cette période. Il n'y avait pas de lien clair entre la protéolyse (IFM, troponine-T et desmine) et le taux d'attendrissement entre 3 et 8 j. Le taux d'attendrissement entre 3 et 8 j n'était pas lié à l'activité des protéases au cours de cette période. Par contre, le niveau supérieur d'oxydation à 8 j mesuré par TBARS, niveau qui est somme toute faible, chez les groupes qui s'attendrissent entre 3 et 8 j de maturation suggère que ce phénomène pourrait être impliqué dans l'attendrissement de la viande.

4.2 Abstract

The aim of this study was to determine the dynamics of postmortem proteolysis and the role of calpains and caspase 3/7 in tenderization process of lamb meat. To do this, samples with different tenderization patterns were used. Twenty-four carcasses were selected and divided in four groups of six based on Warner-Bratzler shear force at 3 d of aging (High or Low) and tenderization between 3 and 8 d (Flat or Drop). Ultimate pH, collagen content, cooking loss, sarcomere length, myofibrillar fragmentation index (MFI), degradation of troponin-T and desmin (SDS-PAGE and Western blotting), calpains and calpastatin activities, caspases 3/7 activity and oxidation (TBARS) were determined and

compared between groups. The tenderness at 3 d seems to be linked to proteolysis as indicated by higher MFI and troponin-T degradation. The higher calpastatin activity at 1 h postmortem in tough meat at 3 d suggests that it plays a role at the beginning of this period. There was no clear link between proteolysis (MFI, troponin-T and desmin) and tenderization rate between 3 and 8 d of aging. The tenderization rate between 3 and 8 d was not related to proteases activity during this period. The higher while quite small level of oxidation at 8 d as measured by TBARS in the groups that tenderized between 3 and 8 d of aging suggests that this process may have an impact on meat tenderization.

4.3 Introduction

Tenderness is one of the most important factors for meat acceptability by consumers (Touraille 1994; Miller et al. 2001). Tenderness and tenderization rate differ among species (Dransfield et al. 1981), animals and muscles (Ouali 1990). It had received a lot of attention by researchers for many years and even if meat quality program now exist for some species in the meat industry (e.g. Meat Standard Australia), understanding and controlling tenderness is still a huge challenge.

According to Koohmaraie and Geesink (2006), meat tenderness is determined by three factors: the background toughness due to the connective tissue, the contraction state at rigor mortis and the tenderization process during aging of the meat. Tenderization of the meat results from structural changes in the muscle cells as sarcolemma detachment, loss of myofibril lateral attachments and I-band breaks (Taylor et al. 1995a; Taylor and Koohmaraie 1998). These changes are caused by myofibrillar and cytoskeletal proteolysis (Koohmaraie 1994; Taylor et al. 1995a; Hopkins and Taylor 2004). Degradation of troponin-T, titin, nebulin, desmin and vinculin has been reported in postmortem muscle and linked to some extent to meat tenderness (Koohmaraie et al. 1995b; Taylor et al. 1995a; Huff-Lonergan et al. 1996). The degradation of these proteins and associated structural changes are thought to mainly result from enzymatic proteolysis (Geesink et al. 2001; Huff-Lonergan et al. 2010; Kemp et al. 2010) even if other mechanisms could be implicated (Wu and Smith 1987; Takahashi 1996). Among proteases that could be implicated, cathepsins, calpains, proteasome and caspases have received most attention (Hopkins and Taylor 2004;

Ouali et al. 2006; Kemp et al. 2010). Eventhough some studies indicated that cathepsins could contribute to postmortem proteolysis (O'Halloran et al. 1997), this group of enzymes is not recognized to have a important impact on tenderness development (Koohmaraie 1996; Hopkins and Taylor 2004). On the other hand, a lot of observations indicate that calpains and calpastatin play a major role in meat tenderization (Dransfield 1993; Koohmaraie 1994; Koohmaraie and Geesink 2006). For example, key myofibrillar proteins such titin, desmin, nebulin, vinculin and troponin-T are calpains substrats (Goll et al. 2003). Calpains reproduced in vitro the same changes observed in postmortem muscles (Koohmaraie et al. 1986; Huff-Lonergan et al. 1996) and activation or inhibition of calpains accelerated or inhibited tenderization (Ilian et al. 2004; Geesink et al. 2006). The callipyge genotype in sheep stressed out the importance of calpastatin in meat tenderization (Koohmaraie et al. 1995b; Geesink and Koohmaraie 1999). Some researches demonstrated that proteasome may also contribute to postmortem proteolysis (Robert et al. 1999; Lamare et al. 2002; Dutaud et al. 2006a) and it has been proposed that this protease is complementary to μ -calpain (Robert et al. 1999; Houbak et al. 2008). Caspases implication in postmortem muscle and tenderization was first proposed based on their contribution in apoptosis and the potential role of the latter in skeletal muscle (Sentandreu et al. 2002; Ouali et al. 2006). The first evidence of changes in caspase activity in postmortem muscle was reported by Kemp et al. (2006) in pork. By now, caspases activity in postmortem muscle and their possible implication in meat tenderization have been studied in pork, beef, lamb and chicken, but no consensus can be done on the role and importance of this group of proteases (Kemp et al. 2006; Underwood et al. 2008; Huang et al. 2009; Kemp et al. 2009; Pulford et al. 2009; Huang et al. 2011; Mohrhauser et al. 2011).

The aim of this study was to determine the involvement of myofibrillar proteolysis (desmin and troponin-T) and calpains/calpastatin activity in tough and tender lamb *longissimus dorsi* at 3 d of aging that tenderized or not between 3 and 8 d of aging and investigate if caspase 3/7 could be implicated as well.

4.4 Materials and methods

4.4.1 Sampling

Male market heavy lambs (fasted body weight between 38-52 kg) were slaughtered at a federally inspected abattoir. Carcasses were graded according to the standard commercial procedure (Agriculture and Agri-food Canada 1992) based on visual assessment of shoulder, loin and leg conformation and ruler measurement of total tissue depth at the GR site (12th rib, 11 cm from the vertebral column). At 24 h postmortem, carcasses were cut into primal cuts and one-cm slices were cut on both left and right racks (*longissimus thoracis* - *LT*) for determination of myofibrillar fragmentation index (MFI) and collagen. Racks and their corresponding slice were vacuum-packaged and assigned to 3 or 8 d of aging at 4°C before being frozen at -30°C. Samples weighting between 15-20 g were taken on the left short loin (*longissimus lumborum* - *LL*) at 1, 24, 48, 72 and 196 h postmortem, they were cut, frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C until analysis (proteolysis, protease activity). Left short loins were packaged and kept at 4°C until sampling completion. At 48 h postmortem, ultimate pH (pHu) was measured on the *LL* muscle maintained at 4°C with a pH meter (200 series pH meter, Beckman Instruments, inc, Brea, CA) equipped with a puncture electrode (Mettler-Toledo LoT406-M6-DXK-S7/25, Mettler Toledo Ingold Inc., Bedford, MA) and a one-cm slice was taken and frozen at -20°C for ulterior sarcomere length analysis.

4.4.2 Groups formation

Groups of meat were formed based on shear force (see 4.4.3) determined at 3 d and tenderization between 3 and 8 d of aging. Tenderization (%) was defined as follow:

$$\frac{(\text{shear force at 3 d} - \text{shear force at 8 d})}{\text{shear force at 3 d}} \times 100$$

Twenty-four *LT* muscles were selected and grouped according to these criteria:

High_flat : Shear force > 5 kg at 3 d and small ($\leq 15\%$) tenderization between 3 and 8 d

High_drop : Shear force > 5 kg at 3 d and good ($\geq 45\%$) tenderization between 3 and 8 d

Low_flat : Shear force < 5 kg at 3 d and small ($\leq 15\%$) tenderization between 3 and 8 d

Low_drop : Shear force < 5 kg at 3 d and good ($\geq 45\%$) tenderization between 3 and 8 d

Characteristics of the groups are presented in Table 4.1.

Table 4.1. Shear force (kg) and tenderization (%) of the groups formed based on shear force at 3 d (High and Low) and tenderization between 3 and 8 d (Drop and Flat)

Groups		Shear force 3 d (kg)				Shear force 8 d (kg)				Tenderization (%)			
		Mean	SD	Min	Max	Mean	SD	Min	Max	Mean	SD	Min	Max
High	Flat	5.96	0.62	5.13	6.78	5.64	0.63	4.70	6.36	5.4	4.0	0.0	9.5
	Drop	6.76	1.38	5.21	9.13	3.27	0.79	2.26	4.42	51.9	3.6	48.0	56.6
Low	Flat	3.13	0.63	2.27	3.89	2.87	0.67	2.01	3.72	8.7	4.0	4.5	15.3
	Drop	3.60	0.65	2.94	4.71	1.76	0.34	1.38	2.45	51.0	5.3	44.7	58.9

4.4.3 Meat quality measurements

Racks aged for 3 and 8 d were thawed at 4 °C for 48 h. Racks were deboned and *LT* muscles were trimmed of fat and epimysium. The trimmed muscles were weighed and were then cooked in a convection oven (Market Forge 2600PHE, Market Forge Industries, Burlington, VT) to an internal temperature of 68°C as individually determined with thermocouples. Cooked *LT* muscles were weighted to determine cooking loss. Warner-Bratzler shear force (WBSF) measurements were made on 1-cm² meat sticks following the procedure described in Pouliot et al. (2009) using a texturometer (TA-XT2i Texture Analyser, Stable Micro Systems, Godalming, UK).

Sarcomere length was measured from meat slices aged for 48 h. Following homogenization of 2.5-g samples of muscle in 50 ml sucrose buffer (0.2 M) using a 40-sec burst at 14 000 rpm (IKA T-18 Basic Ultra Turrax Homogenizer, IKA Works inc., Wilmington, NC), 25 images of myofibrils having at least 10 consecutive sarcomeres were taken for each sample with a phase contrast microscope (Nikon Eclipse TE2000-E, Nikon Canada Instruments inc., Mississauga, ON) equipped with a camera (ORCA-ER, Hamamatsu Photonics, Hamamatsu city, Japan). The average length of sarcomere was determined using the open source image analysis software ImageJ (Rasband, W.S., ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <http://imagej.nih.gov/ij/>, 1997-2014).

Myofibrillar fragmentation index was determined on 1-cm thick slices aged for 3 or 8 d using the approach described by Hopkins et al. (2000) based on Culler et al. (1978). Duplicate 2-g samples of muscle were homogenized on ice in 25 ml of buffer solution (KH_2PO_4 7 mM, K_2HPO_4 18 mM, KCl 0.1 M, EDTA 1 mM et NaN_3 1 mM) using two bursts of 30 s at 14 000 rpm (IKA T-18 Basic Ultra Turrax Homogenizer, IKA Works inc., Wilminaton, NC). Homogenates were filtered using a polyethylene strainer (1 mm²). Myofibril suspensions were centrifuged (10 min, 2100 rpm, 2°C) and washed two times before being finally re-suspended in 40 ml cold buffer. Protein concentration was determined using the Biuret protein assay (Gornall et al. 1949) and samples were diluted to 0.5 mg/ml in triplicate. Absorption was measured at 540 nm using a spectrophotometer (Genesys 10 UV, Thermo Spectronic, Rochester, NY).

Total collagen content was estimated based on hydroxyproline content using the colorimetric method developed by Kolar (1990). Duplicate 1-g of lyophilised *LL* tissues were rehydrated with 8 ml of Ringer solution and then hydrolysed overnight at 105°C following addition of 30 ml of H_2SO_4 7N. Hydrolysates were diluted with distilled water in a 1:20 ratio to obtain hydroxyproline concentration between 0.3 and 2.4 µg/ml. Oxidation and color complex formation were performed as described by Kolar (1990) and hydroxyproline was determined using a standard curve.

4.4.4 Proteolysis: troponin-T and desmin degradation

Whole muscle extracts were prepared according to Wheeler and Koohmaraie (1999) with slight modification by homogenizing 1 g of muscle in 10 ml of extraction buffer (50 mM Tris, 10 mM EDTA, pH 8.3), for two bursts of 20 s at 17 500 rpm (VDI 25, VWR International, Radnor, PA). The muscle homogenates (0.5 ml) were diluted 1:1 with 2× protein denaturing buffer (125 mM Tris, 4% SDS, 20% glycerol, pH 6.8). Samples were heated at 50°C for 20 min, vortexed and heated again for 5 min, then centrifugated at $16\,000 \times g$ for 20 min at 21°C. Protein concentration was determined using BCA assay (Pierce BCA Protein Assay Kit, Thermo Scientific, Rockford, IL) on supernatant diluted 1:5 with extraction buffer. Supernatant was diluted with 2× Laemmli buffer to a final

volume of 1 ml containing 4 mg of protein and heated at 50°C for 10 min before being frozen and kept at -80°C for few days.

Electrophoresis was performed on 10% and 12.5% gels (37.5:1 ratio of acrylamide to bisacrylamide) for separation of desmin and troponin-T topped with a 5% stacking gel. Twenty µg of protein of each sample were loaded per lane and a “pooled standard” was loaded on every single gel in the middle and outside lanes. The “pooled standard” consisted of a pool of 24 h postmortem *LL* muscle samples from three lambs. Migration was performed at 120 V for 100 or 140 min for 10% and 12.5% gels respectively. Proteins were then transferred on PVDF membrane at 200 mA for 2 h.

Membranes were blocked in TBS-T (20 mM Tris, 150 mM NaCl et 0.1% Tween) + 5% milk protein and then washed in TBS-T. Membranes were incubated during 1 h with primary antibody diluted 1:20 000 in TBS-T for monoclonal anti-desmin (Clone DE-U-10, D1033, Sigma Aldrich, Oakville, ON) and monoclonal anti-troponin-T (Clone JLT-12, T6277, Sigma Aldrich, Oakville, ON). After multiple washes in TBS-T during 30 min, membranes were incubated with secondary antibody diluted 1:15 000 (anti-mouse IgG (Fc specific)–Peroxidase, A2554, Sigma Aldrich, Oakville, ON). After 1 h of incubation and 30 min of wash, membranes were revealed by chemiluminescence (Western Lightning Plus ECL, NEL103001EA, Perkin Elmer, Woodbridge, ON). Image were taken and analysed with a chemiluminescence imaging system (Fusion FX7, Montreal Biotech, Montreal, QC). Desmin degradation was determined by expressing the density of the 53 kDa band (intact desmin) and the 38 kDa band (degradation product) of each sample relative to the same band from the “pooled standard”. In the same way, troponin-T degradation was determined by expressing the density of the 30 and 32 kDa (degradation products) bands of each sample relative to that of the “pooled standard”.

4.4.5 Proteases: calpains, calpastatin and caspase 3/7 activities

Calpains (µ and m) and caspase-3/7 activities were determined following the same extraction procedure according to results obtained during validation steps. The selected extraction buffer was the same used by Kemp et al. (2006) for caspase assay (25 mM

HEPES (pH 7.5), 0.1% (vol/vol) Triton X-100, 5 mM MgCl₂, 2 mM 1,4-Dithiothreitol (DTT), 74 μM antipain, 0.15 μM aprotinin, 1.3 mM EDTA, 20 μM leupeptin and 15 μM pepstatin). Muscle (*LL*) samples of 0.9 g were homogenized in 9 ml using two bursts of 20 sec at 17 500 rpm (VDI 25, VWR International, Radnor, PA). The samples were centrifugated at 16 000 × g during 30 min at 4°C and the supernatant was kept on ice. Protein concentration was determined according to Bradford (1976).

Casein zymography was used to determine calpains (μ and m) activity according to Veiseth et al. (2001) based on Raser et al. (1995). Gels (75:1 ratio of acrylamide to bisacrylamide) were composed of a 4.8% stacking gel and a 10% resolving gel containing 0.2% casein (wt/vol). Samples were diluted 1:1 in sample buffer (pH 6.8, 125 mM Tris, 20% glycerol, 0.75% β-mercaptoethanol and 0.02% bromophenol blue) and a volume corresponding to 40 μg of protein were load on pre-run gel. Gels were run on ice during 150 min at 125 V (running buffer: 25 mM Tris, 125 mM Glycine 1 mM EDTA and 0.05% β-mercaptoethanol). Gels were incubated overnight at room temperature in calcium containing buffer (pH 7.5, 50 mM Tris, 5 mM CaCl₂ and 0.05% β-mercaptoethanol). They were colored with coomassie blue (Fast staining G-250, Dgel Sciences, Montreal, QC) and image were taken and analysed with ImageJ software (Rasband, W.S., ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <http://imagej.nih.gov/ij/>, 1997-2014). Each gel included a “pooled standard” run in the middle and outer lanes and were use to normalize among gels as bands densities were expressed as percentage of the standard bands. The “pooled standard” was a pool of at-death (1 h postmortem) samples from three lambs *LL* muscle.

Following a 1:1 dilution (sample:extraction buffer), caspase-3/7 activity was measured using Apo-One Homogeneous Caspase-3/7 Assay (Promega, Madison, WI) as described by Kemp et al. (2006). The reaction was incubated at room temperature for 7.5 h. Caspase-3/7 activity was expressed as relative fluorescence per ug of protein.

Calpastatin was isolated based on the approach developed by Shackelford et al. (1994) and calpastatin activity of the heated extract was determined as described by Koohmaraie (1990). Muscle (*LL*) samples of 0.9 g were homogenized in 9 ml of extraction

buffer (pH 7.5, 20 mM Tris, 2 mM EDTA and 1 mM DTT) using two bursts of 20 sec at 17 500 rpm (VDI 25, VWR International, Radnor, PA). The samples were centrifugated at $29\,000 \times g$ during 30 min at 4°C and aliquots of supernatant were heated at 96°C during 15 min. Samples were then cooled in iced water during 5 min and centrifugated at $25\,000 \times g$ during 30 min at 4°C. The m-calpain required for this experiment was extracted according to the method developed by Iversen et al. (1993) and aliquots were kept few days at -80°C during the process. Each day of calpastatin activity measurement, aliquots of m-calpain were thawed on ice, pooled and used to determine calpastatin activity based on Koohmaraie (1990). One unit of inhibitory activity was defined as the amount of the inhibitor that inhibits one unit of m-calpain activity.

4.4.6 Oxydation

Lipid oxidation was measured on 3 and 8 d samples by the thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) assay developed by Raharjo et al. (1993) based on Witte et al. (1970) and Salih et al. (1987) with slight modifications. Homogenization of 5-g samples were performed in 20 ml of 5% trichloroacetic acid (TCA) and 50 µl of 2.5% butylated hydroxytoluene (BHT) at 13 500 rpm (Polytron PT 3100, Kinematica, Luzernerstrasse, Lucerne, CH). After volume adjustment to 30 ml with 5% TCA and filtration, 3 ml of sample were combined to 3 ml of 20 mM thiobarbituric acid (TBA) and heated in a water bath during 30 min at 100°C. After cooling, absorbance at 531 nm was measured and TBARS value was determined as mg of malonaldehyde equivalents kg⁻¹ of meat.

4.4.7 Statistical analysis

The data were analyzed using the MIXED procedure of SAS (SAS Institute Inc. Cary, NC). For carcass traits and muscle characteristics, the model included group based on shear force at 3 d (high and low), group based on tenderization between 3 and 8 d (flat and drop) and the interaction of these criteria as fixed effect and samples nested in groups (shear force*tenderization) as random. For proteolysis and protease activity, the model included group based on shear force at 3 d (high and low), group based on tenderization

between 3 and 8 d (flat and drop), postmortem time and interactions as fixed effect and ID nested in groups (shear force*tenderization) as random effect. Postmortem time was considered as repeated measures. Since there were some interactions with time, a time by time model was used to enable analysis and interpretation of differences among groups based on shear force and tenderization. At each postmortem time, the model for proteolysis and protease activity included group based on shear force at 3 d (high and low), group based on tenderization between 3 and 8 d (flat and drop) and the interaction of these criteria as fixed effect. Main effects and interactions were considered to be significant at $P < 0.05$. As there were only few samples, the tendencies approaching $P = 0.1$ will be discussed with caution. Pearson correlations were also used to test for linear relationship between some of the variables.

4.5 Results

4.5.1 Carcass traits and muscle characteristics

Regarding carcass traits (Table 4.2), there was no difference between groups based on shear force at 3 d and tenderization between 3 and 8 d for hot carcass weight and conformation. Meat presenting low shear force tended to come from carcasses with more fat measured at GR site (12.58 vs 10.25; $P = 0.076$).

Table 4.2. Carcass traits between meat groups based on shear force at 3 d (High and Low) and tenderization between 3 and 8 d (Drop and Flat).

	High		Low		SEM	P value ^z		
	Drop	Flat	Drop	Flat		SF	T	SF × T
HCW (kg) ^y	22.4	22.8	22.7	23.8	0.65	0.337	0.259	0.522
Conformation	3.3	3.3	3.2	3.2	0.18	0.448	0.879	0.879
GR (mm) ^x	10.8	9.7	13.0	12.2	1.25	0.076	0.433	0.895

^z SF, shear force at 3 d; T, tenderization between 3 and 8 d

^y Hot carcass weight

^x Total tissue depth at the GR site (12th rib, 11 cm from the vertebral column)

No difference in ultimate pH, collagen at 3 d, collagen at 8 d and sarcomere length was observed between groups (Table 4.3). There was a trend for a difference in cooking loss at 3 d of aging between high and low shear force meat with high group presenting higher losses than low group (30.6 vs 28.8; $P = 0.062$). No difference in cooking loss was observed at 8 d of aging. On the other side, MFI was significantly different at 3 d between high and low shear force meat, with low group having higher MFI at 3 d (80.6 vs 63.5; $P = 0.002$). There was also a small trend if any for differences between tenderization groups, with the drop group having higher MFI at 3 d (76.0 vs 68.0; $P = 0.114$). These differences were not observed after 8 d of aging.

Table 4.3. Muscle characteristics between meat groups based on shear force at 3 d (High and Low) and tenderization between 3 and 8 d (Drop and Flat).

	High		Low		SEM	P value ^z		
	Drop	Flat	Drop	Flat		SF	T	SF × T
pHu	5.58	5.62	5.63	5.65	0.030	0.216	0.325	0.822
Collagene 3 d (mg/g) ^y	20.97	19.95	19.68	19.25	1.055	0.381	0.524	0.792
Collagene 8 d (mg/g) ^y	20.63	19.01	18.44	19.02	1.507	0.460	0.724	0.454
Sarcomere length (μm)	1.69	1.73	1.68	1.64	0.056	0.414	0.953	0.430
Cooking loss 3 d (%)	31.3	29.8	29.1	28.6	0.88	0.062	0.262	0.576
Cooking loss 8 d (%)	30.6	29.8	29.6	27.8	1.04	0.169	0.243	0.614
MFI 3 d ^x	68.8	58.2	83.2	77.9	4.83	0.002	0.114	0.594
MFI 8 d ^x	101.9	91.8	100.4	98.6	3.86	0.503	0.140	0.294

^z SF, shear force at 3 d; T, tenderization between 3 and 8 d

^y Expressed on dry tissue basis

^x Myofibrillar fragmentation index

4.5.2 Proteolysis: troponin-T and desmin degradation

Overall proteolysis of troponin-T and desmin occur between 1 and 196 h postmortem ($P < 0.001$; data not shown). Two major troponin-T fragments of 30 and 32 kDa appeared over time and their appearance was faster in the low shear force group (time*shear force interaction; $P = 0.032$). Desmin degradation also occurred during the postmortem period, but the appearance of the 38 kDa fragment was more sensitive than

degradation of the 53 kDa band to observe differences between groups. However, there was a triple interaction between time*shear force*tenderization ($P = 0.058$) which requires time by time analysis to obtain a thorough understanding of the differences between groups.

Looking at group effects, there were more 30-32 kDa fragments of troponin-T in the low shear force group at every postmortem time except at 48 h where the difference was not significant ($P < 0.05$; Table 4.4).

Table 4.4. Troponin-T (TnT 30-32) and desmin postmortem proteolysis differences between meat groups based on shear force at 3 d (High and Low) and tenderization between 3 and 8 d (Drop and Flat).

	High		Low			P value ^z		
	Drop	Flat	Drop	Flat	SEM	SF	T	SF × T
TnT 30-32 ^{yv}								
1 h	19	18	30	28	4.9	0.045	0.821	0.903
24 h	40	60	100	173	28.6	0.007	0.122	0.363
48 h	267	147	260	369	71.0	0.144	0.936	0.122
72 h	344	146	431	506	83.1	0.014	0.467	0.118
196 h	822	660	1037	1183	164.5	0.042	0.964	0.373
Desmin 53 ^{xv}								
1 h	97	102	104	90	8.9	0.793	0.660	0.298
24 h	97	96	99	92	10.8	0.937	0.717	0.775
48 h	92	105	104	80	9.8	0.508	0.579	0.079
72 h	85	94	90	84	9.3	0.782	0.869	0.448
196 h	63	79	62	60	11.1	0.386	0.533	0.423
Desmin 38 ^{wv}								
1 h	71	78	82	69	5.4	0.899	0.619	0.076
24 h	81	76	87	115	17.3	0.209	0.504	0.351
48 h	208	81	114	296	68.1	0.386	0.686	0.034
72 h	433	82	184	465	138.9	0.632	0.804	0.034
196 h	1011	329	455	1020	292.9	0.820	0.844	0.046

^z SF, shear force at 3 d; T, tenderization between 3 and 8 d

^y Time*shear force interaction ($P = 0.032$)

^x Time*shear force*tenderization interaction ($P = 0.101$)

^w Time*shear force*tenderization interaction ($P = 0.058$)

^v Proteins are expressed as the density of the band relative to the same band from the "pooled standard" (%).

In fact, at 48 and 72 h, there was a trend for interaction between groups based on shear force at 3 d and tenderization ($P = 0.122$ at 48 h and $P = 0.118$ at 72 h), with high shear force samples differing from low shear force samples for the flat groups (high_flat vs low_flat; $P = 0.038$ at 48 h and $P = 0.006$ at 72 h), but not for the drop groups (high_drop vs low_drop; $P = 0.947$ at 48 h and $P = 0.463$ at 72 h).

In the case of desmin degradation (Table 4.4), there was no difference according to tenderness at 3 d or tenderization between 3 and 8 d for neither disappearance of intact desmin (53 kDa) nor appearance of degradation product (38 kDa). Otherwise, there was a trend for an interaction at 48 h between groups based on shear force at 3 d and tenderization for disappearance of intact desmin ($P = 0.079$) and significant interactions at 48, 72 and 196 h for appearance of degradation product ($P < 0.05$). Samples from high_drop and low_flat groups had more degradation product at 48, 72 and 196 h postmortem than high_flat and low_drop groups.

4.5.3 Proteases: calpains, calpastatin and caspase 3/7 activities

Postmortem time had an impact on proteases activity ($P < 0.001$; data not shown). As determined by casein zymography, μ -calpain activity decreased to 83% of at-death activity after 24 h, to 41% after 72 h and to 10% after 196 h (data not shown). On the other hand, even if the decrease in activity was significant for m-calpain, there was still 92% of at-death activity after 196 h postmortem. In the case of calpastatin, inhibitory activity decreased between 1 and 24 h ($P < 0.001$), but remained almost unchanged thereafter ($P > 0.25$). In the case of caspase 3/7 activity, there was a decrease of activity overall, but a triple interaction between time*shear force*tenderization.

There was no difference in μ -calpain activity between groups based on shear force at 3 d and tenderization between 3 and 8 d (Table 4.5). However, μ -calpain activity tended to remain higher at 196 h for high shear force group (13.5 vs 6.9; $P = 0.103$).

At 24 h postmortem there was a trend ($P = 0.081$) for an interaction between groups for m-calpain activity caused by the fact that activity between flat and drop groups differed significantly in the high shear force group (high_flat vs high_drop; $P = 0.051$) but not in the

low shear force group (low_flat vs low_drop; $P = 0.630$). By 196 h postmortem, m-calpain activity was higher for drop group than flat group (96 vs 88; $P = 0.038$).

Table 4.5. Calpain, calpastatin and caspase 3/7 postmortem activities between meat groups based on shear force at 3 d (High and Low) and tenderization between 3 and 8 d (Drop and Flat).

	High		Low			P value ^z		
	Drop	Flat	Drop	Flat	SEM	SF	T	SF × T
μ-calpain ^w								
1 h	100	95	95	94	3.8	0.433	0.392	0.601
24 h	82	91	82	78	5.7	0.214	0.660	0.244
48 h	61	62	46	57	7.7	0.179	0.407	0.525
72 h	49	38	40	39	8.7	0.688	0.489	0.603
196 h	15	12	5	9	3.7	0.103	0.949	0.388
m-calpain ^w								
1 h	112	106	110	101	5.0	0.551	0.127	0.750
24 h	101	111	102	99	3.6	0.105	0.258	0.081
48 h	105	101	99	95	4.6	0.207	0.307	0.964
72 h	102	100	99	91	3.9	0.109	0.192	0.510
196 h	96	93	97	83	3.8	0.215	0.038	0.139
Calpastatin ^w								
1 h	10.7	9.8	7.6	8.4	0.83	0.015	0.940	0.322
24 h	5.1	4.3	2.6	4.3	0.82	0.138	0.628	0.157
72 h	4.8	4.6	4.0	4.2	0.72	0.406	0.950	0.788
196 h	4.7	3.8	2.9	3.7	1.01	0.369	0.935	0.413
Caspase 3/7 ^{xw}								
1 h	31.5	32.2	26.8	27.6	2.80	0.098	0.796	0.988
24 h	25.6	32.2	27.2	26.5	2.13	0.332	0.153	0.082
48 h	16.7	14.1	14.6	16.4	1.08	0.940	0.716	0.062
72 h	9.9	11.7	9.8	10.7	1.04	0.594	0.165	0.660
196 h	4.0	3.8	3.5	3.5	0.37	0.279	0.755	0.701

^z SF, shear force at 3 d; T, tenderization between 3 and 8 d

^y Time*tenderization interaction ($P = 0.041$)

^x Time*shear force*tenderization interaction ($P = 0.007$)

^w Calpains activity were expressed as the percentage of the at-death (1 h) standard activity; One unit of calpastatin inhibitory activity was defined as the amount of the inhibitor that inhibits one unit of m-calpain activity; Caspase 3/7 was expressed as relative fluorescence per ug of protein.

Calpastatin inhibitory activity was higher at 1 h postmortem for high shear force groups (10.2 vs 8.0; $P = 0.015$). No significant difference was observed thereafter.

In the case of caspase 3/7 activity, at 1 h postmortem, samples from high shear force group tended to have more caspase activity ($P = 0.098$). At 24 h there was a trend for an interaction ($P = 0.082$) between shear force at 3 d and tenderization as activity was different between tenderization group (flat had more activity than drop) for the higher shear force group only (high_flat vs high_drop; $P = 0.033$ and low_flat vs low_drop; $P = 0.803$). At 48 h, the trend for the interaction ($P = 0.062$) came from the fact that the activity between flat and drop group was inversed in high force group and low force group with high_drop and low_flat having more activity than high_flat and low_drop.

4.5.4 Oxidation

No significant difference in the extend of lipid oxidation as measured by the TBARS assay was observed between groups at 3 d. However, at 8 d there was a difference between groups based on tenderization between 3 and 8 d with the drop group presenting higher value than the flat one (0.36 vs 0.25 mg/kg; $P = 0.060$).

Table 4.6. Lipid oxidation of *LT* muscle between meat groups based on shear force at 3 d (High and Low) and tenderization between 3 and 8 d (Drop and Flat).

	High		Low		SEM	P value ^z		
	Drop	Flat	Drop	Flat		SF	T	SF × T
TBARS 3 d ^x	0.24	0.28	0.38	0.23	0.068	0.504	0.355	0.136
TBARS 8 d ^x	0.33	0.23	0.39	0.26	0.060	0.483	0.060	0.835

^z SF, shear force at 3 d; T, tenderization between 3 and 8 d

^x mg malondialdehyde equivalents / kg of muscle

4.6 Discussion

The difference in shear force at 3 d and the extend of subsequent tenderization could have been attributed to background toughness, state of contraction at rigor and proteolysis

(Koochmaraie and Geesink 2006). It is well known that connective tissue, and its major protein collagen, is responsible for background toughness (Bailey and Light 1989; Purslow 2005). In this study, background toughness did not seem to be responsible for shear force differences among groups, as collagen content at 3 d or 8 d was not different between groups. Although total collagen content did not explain differences in tenderness between groups, some might speculate that collagen solubility could be responsible for the observed results, as collagen insolubility has been correlated to shear force in lamb muscle (Young and Braggins 1993). It is not possible to rule out this possibility as insoluble collagen was not measured, but it is important to note that meat samples came from Quebec heavy lambs which are recognized for their young age at slaughter due to Quebec production system. Okeudo et al. (2005) have reported small effect of total collagen on shear force and no effect of insolubility for young lambs of 4 months of age. The data presented by Miller et al. (1989) suggested that changes in collagen insolubility in lamb muscle are small between 3 and 7 months of age. In Quebec, most heavy lambs are slaughtered between 3.5 and 6.0 months of age, so it is unlikely that variation in collagen insolubility could explain tenderness differences observed in this study.

The trend observed for low shear force meat to be produced by carcasses with more fat at the GR site might indicate that chilling had an impact on contraction state at rigor, since it has been demonstrated that Quebec heavy lambs are at risk of cold shortening and toughening of the meat (Pouliot et al. 2012; Pouliot et al. 2014). Subcutaneous fat could have an isolating effect, slowing down temperature fall and reducing muscle contraction. However, sarcomere length was not different between groups, which indicate that contraction state was not a major factor that explained tenderness between groups in this study.

Does the thicker tissue at the GR site might have slightly slowed the drop of carcasses temperature, providing warmer environment for enzyme activity? It is known that temperature affects biological processes as metabolism (Pearson and Young 1989) and enzyme activity. In the case of calpain system, high temperature and low pH seems to favor a rapid activation of the enzyme (μ -calpain), but a limited action due to rapid inactivation (Simmons et al. 1996; Geesink et al. 2000). It is unlikely that such conditions were met as



temperature fall of heavy lamb slaughter in Quebec has been shown to be fast in previous studies with comparable lamb carcasses and chilling conditions (Pouliot et al. 2012; Pouliot et al. 2014). Moreover, the calpain data do not support this hypothesis.

Therefore, does the trend for GR depth to have a positive impact on tenderness at 3 d can be explained differently? Does it testify of more finish carcasses with maybe more marbling? Intramuscular fat has been shown to be an early depot in lamb *LL* muscle, present in significant amounts at four months of age (McPhee et al. 2008). Studies have shown negative correlation between marbling and shear force in lamb (Smith and Carpenter 1970; Okeudo and Moss 2005; Hopkins et al. 2013). So it is possible that the difference in marbling could explain a part of the shear force difference between groups.

Low shear force meat at 3 d also tended to have less cooking loss at 3 d than high shear force meat, which might contribute to the difference in shear force (Hopkins et al. 2010). A part of this impact could result from postmortem structural changes. It has been proposed that differences in postmortem degradation of cytoskeletal protein like desmin could result in a better water-holding capacity (Kristensen and Purslow 2001; Melody et al. 2004; Huff-Lonergan and Lonergan 2005). The degradation of proteins linking myofibrils together as well as linking them to the cell membrane could limit the transmission of the lateral shrinkage of the myofibrils to the cell, which could allow more water to be retained in the cell. Desmin degradation pattern observed in this study did not support this idea. However, the more important troponin-T degradation for the low shear force group at 3 d might indicate more proteolysis and perhaps more proteolysis of other myofibrillar and cytoskeletal proteins not measured in this study as vinculin, dystrophin, talin or even titin and nebulin. It can not be concluded whether or not lower cooking losses in low shear force group explained a part of the tenderness differences or resulted from the structural changes that explain tenderness difference.

MFI difference among groups based on shear force at 3 d indicated that myofibrillar degradation was more important in the low shear force group and could be responsible for the tenderness difference observed between low and high shear force groups. The small trend for MFI at 3 d to differ between groups based on tenderization rate also supported the hypothesis that shear force differences were caused by differences in proteolysis. The

appearance of the 30 and 32 kDa fragments confirmed that proteolysis was lower in high shear force group and especially for the flat one according to the trends observed at 48 and 72 h postmortem. It has been reported that such troponin-T fragments appeared in the early postmortem period in lamb and beef muscle (Huff-Lonergan et al. 1996; Hopkins and Thompson 2001; Kuber et al. 2003) and that their appearances were faster for tender meat (McBride and Parrish 1977; Huff-Lonergan et al. 1996; Kuber et al. 2003). Unfortunately, the desmin data did not clearly confirm the importance of proteolysis to explain shear force differences between groups, as degradation of desmin was higher in high_drop and low_flat groups, but lower for high_flat and low_drop groups at 48, 72 and 196 h. Although there was still not a lot of degradation in the high_flat group, a group of meat with high shear force throughout the aging process, it is hard to explain why low_drop group presented a similar pattern for desmin degradation, which did not correspond to MFI and troponin-T information. It should be noted that the complexity of the tenderization process may not be explained by single protein degradation (Hopkins and Thompson 2002), but most probably by a considerable number of events leading to the observed tenderization. The three main structural changes observed during aging are sarcolemma detachment, loss of myofibril lateral attachments and I-band breakage (Taylor et al. 1995a; Taylor and Koohmaraie 1998). They are caused by proteins degradation such desmin linking myofibrils together at the Z line level, desmin, vinculin and dystrophin linking myofibrils to the sarcolemma or by titin and nebulin degradation linking Z-line to M-line or to actin filaments respectively (Taylor et al. 1995a). Troponin-T degradation have been linked to tenderness in many studies (McBride and Parrish 1977; Penny and Dransfield 1979; Kuber et al. 2003), but it is not clear if this protein is directly involved or if it is just an indicator of proteolysis (Hopkins and Thompson 2002).

Globally, for all the groups, the decrease in μ -calpain activity observed in this study was quite lower than the activity decrease reported previously. For lamb *LD* muscle, Ilian et al. (2001) observed that 25% of μ -calpain at-death activity remains after 1 d postmortem while Veiseth et al. (2001) found 58% and 5% of μ -calpain at-death activity after 1 and 3 d and Delgado et al. (2001) found 42% and 19% for the same times and no more activity at 10 d. The decrease in activity seems to be even faster in bovine (Boehm et al. 1998; Camou et al. 2007). The higher activity observed in the present study may be due, in part, to

difference in methods used and amounts of protein loads compared to other studies, but also to intrinsic factors related to the samples itself such genetic, growth rate and age.

The absence of significant difference between groups for μ -calpain is surprising given the importance of this enzyme for meat tenderization (Geesink et al. 2006; Koohmaraie and Geesink 2006). However, the trend for high shear force group to have more μ -calpain activity at 196 h is interesting and suggests that the enzyme was less active in the muscle and retained potential activity that was measured during assay. In fact, calpain activity determined in vitro may rather reflect the potential activity of the muscle sample, than the activity that has actually occurred in the meat. Positive correlations ($r = 0.42-0.55$, $P < 0.05$) were observed between μ -calpain and calpastatin activity during the postmortem period and might indicate that higher μ -calpain activity at 196 h during assay reflects less activity *in situ* due to inhibition by calpastatin. Moreover, in vitro assay may overestimated real activity at the muscle level as pH, temperature, ionic strength, calcium are optimised and calpastatin is removed during most assay. So, it can not be excluded that some differences in activity that could explain meat tenderness were not observed in this assay, but based on the results, μ -calpain did not explain differences between groups in this study.

Compared to μ -calpain decrease in activity over time, the difference in m-calpain activity was very small, which is consistent with previous results (Delgado et al. 2001; Veiseth et al. 2001). In fact, there was more decrease in activity during the first 24 h for μ -calpain than during the entire period of 196 h for m-calpain. According to the limited role attributed to m-calpain for postmortem proteolysis (Koohmaraie et al. 1987; Veiseth et al. 2001) and the small variation observed in this study, it seem unlikely that m-calpain was responsible for tenderness differences, even if it can not be totally excluded.

The observed decrease of calpastatin activity between 1 and 24 h followed by a constant activity thereafter, is consistent with data presented by Kemp et al. (2009) in lamb *LD* muscle. However, Delgado et al. (2001) still observed a decreased in activity in lamb *LD* muscle between 3 d and 10 d postmortem. In bovine studies, decline in calpastatin activity throughout the postmortem period has been reported (Koohmaraie et al. 1995a; Boehm et al. 1998).

Calpastatin activity was higher in the high shear force group at 1 h after death, which suggested that *in situ* inhibition of calpain could have been more important at the beginning of the postmortem period in this group. The lack of difference in calpastatin activity between groups at 24 h postmortem and after is somewhat surprising. However, numerically, the low_drop group presented the lowest calpastatin activity at every single time. Positive correlations between calpastatin activity at 24 h and shear force at 14 d have been reported in lamb and beef (Koochmaraie et al. 1995a). In the present study, positive correlations between calpastatin at 1 h and shear force at 3 and 8 d were observed ($r = 0.59$ and 0.48 respectively; $P < 0.05$).

As previously observed in lamb, pork and beef (Kemp et al. 2006; Kemp et al. 2009; Pulford et al. 2009; Cao et al. 2010), caspase 3/7 activity decreased during the postmortem period. The beginning of the decrease differs among species and may be preceded by a slight rise in activity (Kemp et al. 2006; Kemp et al. 2009; Pulford et al. 2009; Cao et al. 2010).

According to experimental groups based on tenderness and tenderization, there were only trends for caspase 3/7 activity to differ between them and these trends are difficult to explain and interpret. The trends for higher activity at 1 h in high shear force group and at 24 h for the high_flat one seem to indicate that tough meat presented a high caspase activities earlier in the process, but then at 48 h higher activity was observed in high_drop and low_flat groups. After that time, caspase 3/7 did not differ between groups. According to the role of caspases in apoptosis and their proposed implication in meat tenderization (Sentandreu et al. 2002; Ouali et al. 2006; Kemp and Parr 2012), if caspase 3/7 had to play a role, it might be in the early postmortem period. Kemp et al. (2006) were the first to report correlation between caspase 3/7 activity and shear force in pork muscle. According to their observations in pork *LD*, Kemp et al. (2006) suggested that rapid decline in caspase activity postmortem (0-32 h) was associated to low shear force at 8 d of aging. However, Underwood et al. (2008) did not find relationship between shear force and caspase 3 at-death activity in bovine. Further results obtained by Kemp et al. (2009) with normal and callipyge lambs suggested that the effect of caspase on meat tenderness could be dependant of calpastatin and therefore calpain systems. The higher caspase 3/7 and calpastatin at 1 h

observed in the present study for the high shear force group did not confirm the negative correlation observed by Kemp between calpastatin at 0 and 2 d and peak caspase activity (Kemp et al. 2009). In fact, in the present study, a positive correlation between calpastatin and caspase 3/7 at 1 h postmortem was rather observed ($r = 0.62$; $P = 0.004$). However, at 72 h the correlation was negative ($r = -0.45$; $P = 0.047$). As calpastatin is a substrate of caspases (Wang et al. 1998), it is possible that caspase activity might have contributed to the decrease in calpastatin activity (Kemp et al. 2009). Using inhibitors of calpain and caspase on chicken muscle, Chen et al. (2012) have observed that calpain reduced activity of caspase, while caspase enhanced activity of calpain, which probably resulted from the degradation of calpastatin by caspase. However, in the present study neither calpastatin nor caspase at 72 h were different among groups based on tenderness and tenderization, making these correlations less relevant to explain tenderness and tenderization differences.

The contribution of caspase in tenderization is not clear for the moment. Kemp and Parr (2008) observed myofibrillar protein degradation when pork myofibrils were incubated with recombinant caspase. They also observed an enhancement of proteolysis when lamb muscle samples were incubated with recombinant caspase 3 and a reduction when incubated with caspase 3 inhibitor (Kemp and Wheeler 2011). Mohrhauser et al. (2011), using purified bovine myofibril, did not observe any proteolysis effect of caspase 3 on myofibril. Incubation of bovine myofibril with caspase 3 or 6 reproduced only some of the changes observed during the postmortem period (Huang et al. 2011). This indicated that caspase could contribute to postmortem proteolysis, but they probably work with other proteases, namely calpains. Species differences as well as fibre type differences could be responsible for these conflicting results.

It has been suggested in a review that susceptibility to oxidation could differ between animals and/or muscles and influence enzyme activity, proteolysis and tenderization (Huff-Lonergan et al. 2010). Based on TBARS values it seems that more lipid oxidation occurred in the drop group at 8 d than in the flat group. Even if TBARS assay is a measurement of lipid oxidation instead of protein oxidation, it could indicate that meat in the drop group was more oxidized at 8 d as the measurement was taken on meat samples. As racks were vacuum package in the present study, the level of oxidation must have been quite small

during storage and may reflect the intrinsic oxidative/reducing capacity of samples. The low TBARS values observed at 8 d (0.31 ± 0.14 mg/kg meat) compared to other studies in lamb meat (≥ 1.2 mg/kg at 6-8 d) indicate that the oxidative stress was effectively small (Kim et al. 2012; Inserra et al. 2014). During conversion of muscle into meat and during aging, muscles have low reducing capacity compared to live muscle to face oxidative stress, so small differences in this capacity between animals could result in differences in oxidation.

Studies have shown that oxidation can reduce tenderness (Rowe et al. 2004; Lund et al. 2007; Kim et al. 2010; Kim et al. 2012; Zakrys-Waliwander et al. 2012). Studies on modified atmosphere packaging in pork, beef and lamb reported higher protein oxidation and higher shear force for meat package under O₂-enriched atmosphere (Lund et al. 2007; Kim et al. 2010; Kim et al. 2012; Zakrys-Waliwander et al. 2012). The negative effect of oxidation on meat tenderness was attributed, in part, to myosin cross-linking (Lund et al. 2007; Kim et al. 2010; Kim et al. 2012; Zakrys-Waliwander et al. 2012). Oxidation effect on proteolysis has also been reported (Rowe et al. 2004; Maddock Carlin et al. 2006). Rowe (2004) observed that meat irradiation, a technique known to generate free radicals and to prevent bacterial growth, produced tougher meat than non irradiated meat. In their study, there were less degradation of desmin and troponin-T and μ -calpain caseinolytic activity was higher for irradiated meat when measured in the assay, which suggest that μ -calpain was minimally active *in situ* (Rowe 2004). The higher calpastatin activity measured in irradiated meat supported this idea. An *in vitro* study of Maddock Carlin et al. (2006) reported that oxidative stress produce by chemical oxidants like H₂O₂ and Fe²⁺ reduced proteolytic activity of μ -calpain. However, contrary to Rowe (2004), these authors observed a reduction of calpastatin inhibitory activity in their experimental conditions, which may in part masked the inactivation effect of oxidation on calpain (Maddock Carlin et al. 2006). Lametsch et al. (2008) observed a reduction of μ -calpain activity *in vitro* under oxidative conditions due to formation of disulfide bond in the active site of the enzyme, which is reversible under reducing conditions. So, μ -calpain activity seems to be reduced *in vitro* by direct oxidation. However, *in vitro* studies using isolated myofibrils have reported that some myofibrillar proteins are more prone to proteolysis by calpains and caspase 3 following oxidation (Smuder et al. 2010; Xue et al. 2012).

In live muscle, oxidative stress has been suspected to trigger muscle atrophy resulting from different diseases, from disuse and from aging (Powers et al. 2005; Powers et al. 2007; Aiken et al. 2011). It has been proposed that oxidized proteins are degraded by the proteasome to maintain cell homeostasis (Davies 2001; Grune et al. 2004; Powers et al. 2005; Powers et al. 2007; Aiken et al. 2011). However, when proteasome-dependent degradation is compromised or under high level of oxidation, proteins form aggregates. These aggregates can inhibit proteasome activities (Davies 2001; Grune et al. 2004; Powers et al. 2005; Powers et al. 2007; Aiken et al. 2011). Then, the effect of oxidation on protein proteolysis could be biphasic, with low level of oxidation promoting it, while higher level inhibiting it (Davies 2001; Grune et al. 2004; Powers et al. 2005; Powers et al. 2007; Aiken et al. 2011).

Based on the results obtained in this study and the possible effects of oxidation reported in the literature, it is possible that the higher level of oxidation at 8 d observed for the drop group could explain, at least in part, the difference in tenderness. Could the small oxidative stress have promoted proteasome activity at the later stage of aging? Following ATP depletion, ATP-dependend 26S proteasome can dissociate into 20S ATP-independant proteasome (Peters et al. 1994). This form of proteasome conserved more than one-third of its at-death activity after 1-2 weeks postmortem (Lamare et al. 2002; Dutaud et al. 2006b) and many myofibrillar protein are degraded in vitro by purified 20S proteasome (Taylor et al. 1995b; Robert et al. 1999). Some authors proposed a synergistic and sequential action of proteases in postmortem muscle, where calpain first degrades the myofibrillar structure and proteasome thereafter hydrolyzes peptides (Robert et al. 1999; Houbak et al. 2008). The same pattern of synergistic action has been proposed in disuse muscle atrophy (Powers et al. 2005; Powers et al. 2007).

4.7 Conclusions and implications

The model used in this study did not provide undoubted evidences about the mechanism and contribution of proteolysis to tenderness and tenderization. It shows and confirms the complexity of tenderness and the multiple factors involved in its development.

However, even if the use of extreme groups of meat for shear force at 3 d and tenderization between 3 and 8 d did not allow for a comprehensive understanding, results and tendencies observed in this study provide some interesting insight.

The tenderness at 3 d seems to be linked to proteolysis as indicated by higher MFI and troponin-T degradation. Calpastatin activity in the early moment after death was linked to shear force at 3 d and could have indirectly affected calpain activity *in situ*. Although there were trends for caspase 3/7 activity, no clear role has been identified. The tenderization between 3 and 8 d was not related to protease activity during this period. However, there were tendencies for high_flat group to present lower troponin-T degradation and lower desmin degradation, which may indicated that limited proteolysis induced tough meat, but did not explain enhancement of tenderness in tender meat. Oxidation may play a role later in the tenderization process as the drop group showed higher level, while quite small, of oxidation. Under small oxidative stress, proteins could be more susceptible to degradation during this period and the proteasome could be implicated. Effects on other protein such nebulin, titin could not be discarded. Tenderness at 3 d could be linked to proteolysis of myofibrillar protein and early calpastatin activity could play a role, while tenderness at 8 d could be attributed to subsequent degradation promoted by oxidation. More researches are clearly needed to fully understand the very important processes of tenderness and tenderization.

4.8 Acknowledgements

This study was made possible by the financial support of the ministère de l'Agriculture des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec, Agriculture and Agri-Food Canada, the Fédération des producteurs d'agneaux et de moutons du Québec and the Centre d'expertise en production ovine du Québec. The authors wish to thank Abattoir Luceville inc. and Sélection BERARC inc.

4.9 References

- Agriculture and Agri-Food Canada. 1992. Livestock and poultry carcass grading regulation (SOR/92-541). Canada Gazette, Part II. 126: 3848.
- Aiken, C. T., Kaake, R. M., Wang, X. and Huang, L. 2011. Oxidative stress-mediated regulation of proteasome complexes. *Mol Cell Proteomics* 10: R110 006924.
- Bailey, A. J. and Light, N. 1989. Connective tissue in meat and meat products. Elsevier science publisher, New York, NY. 355 pp.
- Boehm, M. L., Kendall, T. L., Thompson, V. F. and Goll, D. E. 1998. Changes in the calpains and calpastatin during postmortem storage of bovine muscle. *J. Anim. Sci.* 76: 2415-2434.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.
- Camou, J. P., Marchello, J. A., Thompson, V. F., Mares, S. W. and Goll, D. E. 2007. Effect of postmortem storage on activity of μ - and m-calpain in five bovine muscles. *J. Anim. Sci.* 85: 2670-2681.
- Cao, J., Sun, W., Zhou, G., Xu, X., Peng, Z. and Hu, Z. 2010. Morphological and biochemical assessment of apoptosis in different skeletal muscles of bulls during conditioning. *J. Anim. Sci.* 88: 3439-44.
- Chen, L., Feng, X., Zhang, W., Xu, X. and Zhou, G. 2012. Effects of inhibitors on the synergistic interaction between calpain and caspase-3 during post-mortem aging of chicken meat. *J. Agric. Food Chem.* 60: 8465-8472.
- Culler, R. D., Parrish, F. C., Smith, G. C. and Cross, H. R. 1978. Relationship of myofibril fragmentation index to certain chemical, physical and sensory characteristics of bovine longissimus muscle. *J. Food Sci.* 43: 1177-1180.
- Davies, K. J. A. 2001. Degradation of oxidized proteins by the 20S proteasome. *Biochimie* 83: 301-310.
- Delgado, E. F., Geesink, G. H., Marchello, J. A., Goll, D. E. and Koohmaraie, M. 2001. The calpain system in three muscles of normal and callipyge sheep. *J. Anim. Sci.* 79: 398-412.
- Dransfield, E. 1993. Modelling post-mortem tenderisation-IV: Role of calpains and calpastatin in conditioning. *Meat Sci.* 34: 217-234.
- Dransfield, E., Jones, R. C. D. and MacFie, H. J. H. 1981. Tenderising in *M. longissimus dorsi* of beef, veal, rabbit, lamb and pork. *Meat Sci.* 5: 139-147.
- Dutaud, D., Aubry, L., Guignot, F., Vignon, X., Monin, G. and Ouali, A. 2006a. Bovine muscle 20S proteasome. II: Contribution of the 20S proteasome to meat tenderization as revealed by an ultrastructural approach. *Meat Sci.* 74: 337-344.
- Dutaud, D., Aubry, L., Sentandreu, M. A. and Ouali, A. 2006b. Bovine muscle 20S proteasome: I. Simple purification procedure and enzymatic characterization in relation with postmortem conditions. *Meat Sci.* 74: 327-336.

- Geesink, G. H., Bekhit, A. D. and Bickerstaffe, R. 2000. Rigor temperature and meat quality characteristics of lamb longissimus muscle. *J. Anim. Sci.* 78: 2842-8.
- Geesink, G. H. and Koohmaraie, M. 1999. Postmortem proteolysis and calpain/calpastatin activity in callipyge and normal lamb biceps femoris during extended postmortem storage. *J. Anim. Sci.* 77: 1490-1501.
- Geesink, G. H., Kushay, S., Chisthi, A. H. and Koohmaraie, M. 2006. u-Calpain is essential for postmortem proteolysis of muscle proteins. *J. Anim. Sci.* 84: 2834-2840.
- Geesink, G. H., Taylor, R. G., Bekhit, A. E. D. and Bickerstaffe, R. 2001. Evidence against the non-enzymatic calcium theory of tenderization. *Meat Sci.* 59: 417-422.
- Goll, D. E., Thompson, V. F., Li, H., Wei, W. and Cong, J. 2003. The calpain system. *Physiol. Rev.* 83: 731-801.
- Gornall, A. G., Bardawill, J. and David, M. M. 1949. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem.* 177: 751-766.
- Grune, T., Jung, T., Merker, K. and Davies, K. J. A. 2004. Decreased proteolysis caused by protein aggregates, inclusion bodies, plaques, lipofuscin, ceroid, and 'aggresomes' during oxidative stress, aging, and disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 36: 2519-2530.
- Hopkins, D. L., Allingham, P. G., Colgrave, M. and van de Ven, R. J. 2013. Interrelationship between measures of collagen, compression, shear force and tenderness. *Meat Sci* 95: 219-23.
- Hopkins, D. L., Littlefield, P. J. and Thompson, J. M. 2000. A research note on factors affecting the determination of myofibrillar fragmentation. *Meat Sci.* 56: 19-22.
- Hopkins, D. L. and Taylor, R. G. 2004. Post-mortem muscle proteolysis and meat tenderness. Pages 363-388 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, Wallingford, UK.
- Hopkins, D. L. and Thompson, J. M. 2001. Inhibition of protease activity. Part 2. Degradation of myofibrillar proteins, myofibril examination and determination of free calcium levels. *Meat Sci.* 59: 199-209.
- Hopkins, D. L. and Thompson, J. M. 2002. The degradation of myofibrillar proteins in beef and lamb using denaturing electrophoresis- an overview. *J. Muscle Food* 13: 81-102.
- Hopkins, D. L., Toohey, E. S., Warner, R. D., Kerr, M. J. and van de Ven, R. 2010. Measuring the shear force of lamb meat cooked from frozen samples: comparison of two laboratories. *Anim. Prod. Sci.* 50: 382-385.
- Houbak, M. B., Ertbjerg, P. and Therkildsen, M. 2008. In vitro study to evaluate the degradation of bovine muscle proteins post-mortem by proteasome and mu-calpain. *Meat Sci.* 79: 77-85.
- Huang, F., Huang, M., Zhou, G., Xu, X. and Xue, M. 2011. In vitro proteolysis of myofibrillar proteins from beef skeletal muscle by caspase-3 and caspase-6. *J. Agric. Food Chem.* 59: 9658-63.

- Huang, M., Huang, F., Xu, X. and Zhou, G. 2009. Influence of caspase3 selective inhibitor on proteolysis of chicken skeletal muscle proteins during post mortem aging. *Food Chem.* 115: 181-186.
- Huff-Lonergan, E. and Lonergan, S. M. 2005. Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat Sci.* 71: 194-204.
- Huff-Lonergan, E., Mitsuhashi, T., Beekman, D. D., Parrish, F. C., Jr., Olson, D. G. and Robson, R. M. 1996. Proteolysis of specific muscle structural proteins by mu-calpain at low pH and temperature is similar to degradation in postmortem bovine muscle. *J. Anim. Sci.* 74: 993-1008.
- Huff-Lonergan, E., Zhang, W. and Lonergan, S. M. 2010. Biochemistry of postmortem muscle - Lessons on mechanisms of meat tenderization. *Meat Sci.* 86: 184-95.
- Ilian, M. A., Bekhit, A. E. D., Stevenson, B., Morton, J. D., Isherwood, P. and Bickerstaffe, R. 2004. Up- and down-regulation of longissimus tenderness parallels changes in the myofibril-bound calpain 3 protein. *Meat Sci.* 67: 433-445.
- Ilian, M. A., Morton, J. D., Kent, M. P., Le Couteur, C. E., Hickford, J., Cowley, R. and Bickerstaffe, R. 2001. Intermuscular variation in tenderness: association with the ubiquitous and muscle-specific calpains. *J. Anim. Sci.* 79: 122-32.
- Inserra, L., Priolo, A., Biondi, L., Lanza, M., Bognanno, M., Gravador, R. and Luciano, G. 2014. Dietary citrus pulp reduces lipid oxidation in lamb meat. *Meat Sci.* 96: 1489-1493.
- Iversen, P., Ertbjerg, P., Larsen, L. M., Monllao, S. and Moller, A. J. 1993. An FPLC method for determination of calpains and calpastatin in porcine M. longissimus dorsi. *Biochimie* 75: 869-72.
- Kemp, C. M., Bardsley, R. G. and Parr, T. 2006. Changes in caspase activity during the postmortem conditioning period and its relationship to shear force in porcine longissimus muscle. *J. Anim. Sci.* 84: 2841-2846.
- Kemp, C. M., King, D. A., Shackelford, S. D., Wheeler, T. L. and Koohmaraie, M. 2009. The caspase proteolytic system in callipyge and normal lambs in longissimus, semimembranosus, and infraspinatus muscles during postmortem storage. *J. Anim. Sci.* 87: 2943-2951.
- Kemp, C. M. and Parr, T. 2008. The effect of recombinant caspase 3 on myofibrillar proteins in porcine skeletal muscle. *Animal* 2: 1254-64.
- Kemp, C. M. and Parr, T. 2012. Advances in apoptotic mediated proteolysis in meat tenderisation. *Meat Sci.* 92: 252-259.
- Kemp, C. M., Sensky, P. L., Bardsley, R. G., Buttery, P. J. and Parr, T. 2010. Tenderness – An enzymatic view. *Meat Sci.* 84: 248-256.
- Kemp, C. M. and Wheeler, T. L. 2011. Effects of manipulation of the caspase system on myofibrillar protein degradation in vitro. *J. Anim. Sci.* 89: 3262-3271.
- Kim, Y. H., Huff-Lonergan, E., Sebranek, J. G. and Lonergan, S. M. 2010. High-oxygen modified atmosphere packaging system induces lipid and myoglobin oxidation and protein polymerization. *Meat Sci.* 85: 759-767.

- Kim, Y. H. B., Bødker, S. and Rosenvold, K. 2012. Influence of lamb age and high-oxygen modified atmosphere packaging on protein polymerization of long-term aged lamb loins. *Food Chem.* 135: 122-126.
- Kolar, K. 1990. Colorimetric determination of hydroxyproline as measure of collagen content in meat and meat products: NMKL collaborative study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 73: 54-7.
- Koohmaraie, M. 1990. Quantification of Ca²⁺-dependent protease activities by hydrophobic and ion-exchange chromatography. *J. Anim. Sci.* 68: 659-665.
- Koohmaraie, M. 1994. Muscle proteinases and meat aging. *Meat Sci.* 36: 93-104.
- Koohmaraie, M. 1996. Biochemical factors regulating the toughening and tenderization processes of meat. *Meat Sci.* 43: S193-S201.
- Koohmaraie, M. and Geesink, G. H. 2006. Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. *Meat Sci.* 74: 34-43.
- Koohmaraie, M., Killefer, J., Bishop, M. D., Shackelford, S. D., Wheeler, T. L. and Arbona, J. R. 1995a. Calpastatin-based methods for predicting meat tenderness. Pages 395-412 in A. Ouali, D. Demeyer, F. Smulders, eds. *Expression, regulation and role of proteinases in muscle development and meat quality. ECCEAMST, Utrecht, Netherlands.*
- Koohmaraie, M., Schollmeyer, J. E. and Dutson, T. R. 1986. Effect of low-calcium-requiring calcium activated factor on myofibrils under varying pH and temperature conditions. *J. Food Sci.* 51: 28-32.
- Koohmaraie, M., Seideman, S. C., Schollmeyer, J. E., Dutson, T. R. and Crouse, J. D. 1987. Effect of post-mortem storage on Ca⁺⁺-dependent proteases, their inhibitor and myofibril fragmentation. *Meat Sci.* 19: 187-196.
- Koohmaraie, M., Shackelford, S. D., Wheeler, T. L., Lonergan, S. M. and Doumit, M. E. 1995b. A muscle hypertrophy condition in lamb (callipyge): Characterization of effects on muscle growth and meat quality traits. *J. Anim. Sci.* 73: 3596-3607.
- Kristensen, L. and Purslow, P. P. 2001. The effect of ageing on the water-holding capacity of pork: role of cytoskeletal proteins. *Meat Sci.* 58: 17-23.
- Kuber, P. S., Duckett, S. K., Busboom, J. R., Snowden, G. D., Dodson, M. V., Vierck, J. L. and Bailey, J. F. 2003. Measuring the effects of phenotype and mechanical restraint on proteolytic degradation and rigor shortening in callipyge lamb longissimus dorsi muscle during extended aging. *Meat Sci.* 63: 325-331.
- Lamare, M., Taylor, R. G., Farout, L., Briand, Y. and Briand, M. 2002. Changes in proteasome activity during postmortem aging of bovine muscle. *Meat Sci.* 61: 199-204.
- Lametsch, R., Lonergan, S. and Huff-Lonergan, E. 2008. Disulfide bond within μ -calpain active site inhibits activity and autolysis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics* 1784: 1215-1221.

- Lund, M. N., Lametsch, R., Hviid, M. S., Jensen, O. N. and Skibsted, L. H. 2007. High-oxygen packaging atmosphere influences protein oxidation and tenderness of porcine longissimus dorsi during chill storage. *Meat Sci.* 77: 295-303.
- Maddock Carlin, K. R., Huff-Loneragan, E., Rowe, L. J. and Lonergan, S. M. 2006. Effect of oxidation, pH, and ionic strength on calpastatin inhibition of μ - and m-calpain. *J. Anim. Sci.* 84: 925-937.
- McBride, M. A. and Parrish, F. C. 1977. The 30 000-dalton component of tender bovine longissimus muscle. *J. Food Sci.* 42: 1627.
- McPhee, M. J., Hopkins, D. L. and Pethick, D. W. 2008. Intramuscular fat levels in sheep muscle during growth. *Aust. J. Exp. Agric.* 48: 904-909.
- Melody, J. L., Lonergan, S. M., Rowe, L. J., Huiatt, T. W., Mayes, M. S. and Huff-Loneragan, E. 2004. Early postmortem biochemical factors influence tenderness and water-holding capacity of three porcine muscles. *J. Anim. Sci.* 82: 1195-1205.
- Miller, L. F., Judge, M. D., Diekman, M. A., Hudgens, R. E. and Aberle, E. D. 1989. Relationships among intramuscular collagen, serum hydroxyproline and serum testosterone in growing rams and wethers. *J. Anim. Sci.* 67: 698-703.
- Miller, M. F., Carr, M. A., Ramsey, C. B., Crockett, K. L. and Hoover, K. A. 2001. Consumer thresholds for establishing the value of beef tenderness. *J. Anim. Sci.* 79: 3062-3068.
- Miller, R. K. 2004. Chemical and physical characteristics of meat: Palatability. Pages 256-266 in W. Jensen, C. Devine, M. Dikeman, eds. *Encyclopedia of Meat Sciences*. Elsevier Academic Press, Oxford, UK.
- Mohrhauser, D. A., Underwood, K. R. and Weaver, A. D. 2011. In vitro degradation of bovine myofibrils is caused by μ -calpain, not caspase-3. *J. Anim. Sci.* 89: 798-808.
- O'Halloran, G. R., Troy, D. J., Buckley, D. J. and Reville, W. J. 1997. The role of endogenous proteases in the tenderisation of fast glycolysing muscle. *Meat Sci.* 47: 187-210.
- Okeudo, N. J. and Moss, B. W. 2005. Interrelationship amongst carcass and meat quality characteristics of sheep. *Meat Sci.* 69: 1-8.
- Ouali, A. 1990. Meat tenderization: possible causes and mechanisms. A review. *J. Muscle Food* 1: 129-165.
- Ouali, A., Herrera-Mendez, C. H., Coulis, G., Becila, S., Boudjellal, A., Aubry, L. and Sentandreu, M. A. 2006. Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms. *Meat Sci.* 74: 44-58.
- Palka, K. 2004. Heat effects on meat: Physics and chemistry. Pages 567-570 in W. Jensen, C. Devine, M. Dikeman, eds. *Encyclopedia of meat sciences*. Elsevier Academic Press, Oxford, UK.
- Pearson, A. M. and Young, R. B. 1989. *Muscle and meat biochemistry*. Academic press, San Diego, CA. 457 pp.

- Penny, I. F. and Dransfield, E. 1979. Relationship between toughness and troponin T in conditioned beef. *Meat Sci.* 3: 135-141.
- Peters, J. M., Franke, W. W. and Kleinschmidt, J. A. 1994. Distinct 19 S and 20 S subcomplexes of the 26 S proteasome and their distribution in the nucleus and the cytoplasm. *J. Biol. Chem.* 269: 7709-18.
- Pouliot, E., Gariépy, C., Thériault, M., Avezard, C., Fortin, J. and Castonguay, F. W. 2009. Growth performance, carcass traits and meat quality of heavy lambs reared in a warm or cold environment during winter. *Can. J. Anim. Sci.* 89: 229-239.
- Pouliot, E., Gariépy, C., Thériault, M., Avezard, C., Fortin, J., Simmons, N. J. and Castonguay, F. W. 2012. Effects of low-voltage electrical stimulation and aging on lamb meat quality. *Can. J. Anim. Sci.* 92: 59-66.
- Pouliot, E., Gariépy, C., Thériault, M. and Castonguay, F. W. 2014. Use of electrical stimulation and chilling to enhance meat tenderness of heavy lambs. *Can. J. Anim. Sci.* 94: 627-637.
- Powers, S. K., Kavazis, A. N. and DeRuisseau, K. C. 2005. Mechanisms of disuse muscle atrophy: role of oxidative stress. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 288: R337-44.
- Powers, S. K., Kavazis, A. N. and McClung, J. M. 2007. Oxidative stress and disuse muscle atrophy. *J. Appl. Physiol.* 102: 2389-97.
- Pulford, D. J., Dobbie, P., Fraga Vazquez, S., Fraser-Smith, E., Frost, D. A. and Morris, C. A. 2009. Variation in bull beef quality due to ultimate muscle pH is correlated to endopeptidase and small heat shock protein levels. *Meat Sci.* 83: 1-9.
- Purslow, P. P. 2005. Intramuscular connective tissue and its role in meat quality. *Meat Sci.* 70: 435-447.
- Raharjo, S., Sofos, J. N. and Schmidt, G. R. 1993. Solid-phase acid extraction improves thiobarbituric acid method to determine lipid oxidation. *J. Food Sci.* 58: 921-924.
- Raser, K. J., Posner, A. and Wang, K. K. 1995. Casein zymography: a method to study mu-calpain, m-calpain, and their inhibitory agents. *Arch. Biochem. Biophys.* 319: 211-6.
- Robert, N., Briand, M., Taylor, R. and Briand, Y. 1999. The effect of proteasome on myofibrillar structure in bovine skeletal muscle. *Meat Sci.* 51: 149-153.
- Rowe, L. J., Maddock, K. R., Lonergan, S. M. and Huff-Lonergan, E. 2004. Oxidative environments decrease tenderization of beef steaks through inactivation of u-calpain. *J. Anim. Sci.* 82: 3254-3266.
- Salih, A. M., Smidth, D. M., Price, J. F. and Dawson, L. E. 1987. Modified extraction 2-thiobarbituric acid method for measuring lipid oxidation in poultry. *Poult. Sci.* 66: 1483-1488.
- Sentandreu, M. A., Coulis, G. and Ouali, A. 2002. Role of muscle endopeptidases and their inhibitors in meat tenderness. *Trends Food Sci. Tech.* 13: 400-421.
- Shackelford, S. D., Koohmaraie, M., Cundiff, L. V., Gregory, K. E., Rohrer, G. A. and Savell, J. W. 1994. Heritabilities and phenotypic and genetic correlations for bovine postrigor calpastatin

activity, intramuscular fat content, Warner-Bratzler shear force, retail product yield, and growth rate. *J. Anim. Sci.* 72: 857-63.

Simmons, N. J., Singh, K., Dobbie, P. and Devine, C. E. 1996. The effect of prerigor holding temperature on calpain and calpastatin activity and meat tenderness. *Proc. 42nd International Congress of Meat Science and Technology*, Lillehammer, NO.

Smith, G. C. and Carpenter, Z. L. 1970. Lamb carcass quality III. Chemical, physical and histological measurements. *J. Anim. Sci.* 31: 697-706.

Smuder, A. J., Kavazis, A. N., Hudson, M. B., Nelson, W. B. and Powers, S. K. 2010. Oxidation enhances myofibrillar protein degradation via calpain and caspase-3. *Free Radical Biology and Medicine* 49: 1152-1160.

Takahashi, K. 1996. Structural weakening of skeletal muscle tissue during post-mortem ageing of meat: the non-enzymatic mechanism of meat tenderization. *Meat Sci.* 43: 67-80.

Taylor, R. G., Geesink, G. H., Thompson, V. F., Koohmaraie, M. and Goll, D. E. 1995a. Is Z-disc degradation responsible for postmortem tenderization. *J. Anim. Sci.* 73: 1351-1367.

Taylor, R. G. and Koohmaraie, M. 1998. Effects of postmortem storage on the ultrastructure of the endomysium and myofibrils in normal and callipyge longissimus. *J. Anim. Sci.* 76: 2811-2817.

Taylor, R. G., Tassy, C., Briand, M., Robert, N., Briand, Y. and Ouali, A. 1995b. Proteolytic activity of proteasome on myofibrillar structures. *Mol. Biol. Rep.* 21: 71-3.

Touraille, C. 1994. Influence of muscle characteristics on sensory properties of meat. *Renc. Rech. Ruminants* 1: 169-176.

Underwood, K. R., Means, W. J. and Du, M. 2008. Caspase 3 is not likely involved in the postmortem tenderization of beef muscle. *J. Anim. Sci.* 86: 960-966.

Veiseth, E., Shackelford, S. D., Wheeler, T. L. and Koohmaraie, M. 2001. Effect of postmortem storage on u-calpain and m-calpain in ovine skeletal muscle. *J. Anim. Sci.* 79: 1502-8.

Wang, K. K., Posmantur, R., Nadimpalli, R., Nath, R., Mohan, P., Nixon, R. A., Talanian, R. V., Keegan, M., Herzog, L. and Allen, H. 1998. Caspase-mediated fragmentation of calpain inhibitor protein calpastatin during apoptosis. *Arch. Biochem. Biophys.* 356: 187-96.

Wheeler, T. L. and Koohmaraie, M. 1999. The extent of proteolysis is independent of sarcomere length in lamb longissimus and psoas major. *J. Anim. Sci.* 77: 2444-51.

Witte, V. C., Krause, G. F. and Bailey, M. E. 1970. A new extraction method for determining 2-thiobarbituric acid values of pork and beef during storage. *J. Food Sci.* 35: 582-585.

Wu, F. Y. and Smith, S. B. 1987. Ionic strength and myofibrillar protein solubilization. *J. Anim. Sci.* 65: 597-608.

Xue, M., Huang, F., Huang, M. and Zhou, G. 2012. Influence of oxidation on myofibrillar proteins degradation from bovine via μ -calpain. *Food Chem.* 134: 106-112.

Young, O. A. and Braggins, T. J. 1993. Tenderness of ovine semimembranosus: is collagen concentration or solubility the critical factor? *Meat Sci.* 35: 213-222.

Zakrys-Waliwander, P. I., O'Sullivan, M. G., O'Neill, E. E. and Kerry, J. P. 2012. The effects of high oxygen modified atmosphere packaging on protein oxidation of bovine *M. longissimus dorsi* muscle during chilled storage. *Food Chem.* 131: 527-532.

Conclusion générale

Dans le contexte actuel de mondialisation où la concurrence est omniprésente, la qualité organoleptique de la viande est devenue un enjeu majeur afin de séduire le consommateur et de sécuriser sa part de marché. C'est d'ailleurs l'orientation qu'a prise l'industrie ovine australienne depuis la fin des années 90. En effet, après avoir appris que la qualité de l'agneau qu'ils produisaient était souvent insatisfaisante grâce aux études qu'ils ont effectuées sur la satisfaction des consommateurs (Bennett 1997) ainsi que sur la variabilité de la tendreté de l'agneau retrouvé sur leur marché (Safari *et al.* 2002), les Australiens ont démarré au début des années 2000 un programme de recherche afin d'identifier les points critiques dans leur chaîne de production, de la ferme à l'assiette (Russell *et al.* 2005). La résultante de ces efforts et investissements : la mise en place d'un programme commercial de « qualité garantie », le Meat Standard Australia (MSA), qui assure aux consommateurs un degré de satisfaction maximal en fonction de la coupe de viande et de la méthode de cuisson (Meat and Livestock Australia 2007). Loin d'être rassasiés par cette avancée unique dans l'industrie de la viande ovine, ils ont mis sur pied en 2007 le Cooperative Research Center for Sheep Industry Innovation (Sheep CRC) grâce à la collaboration de l'industrie, des universités et des instances gouvernementales. Le mandat du Sheep CRC était de mettre en place un programme de recherche et d'innovation pour soutenir l'industrie ovine australienne tant sur le plan de l'élevage, de la qualité de la laine, de la qualité de la viande, de la génétique et de la génomique ainsi que de l'éducation et la formation (Sheep CRC Ltd 2011). Ce programme de 7 ans dont le budget était de 111 M\$ a été reconduit jusqu'en 2019 suite à la demande de l'industrie.

L'industrie ovine québécoise ne peut certes se comparer à l'Australie ou la Nouvelle-Zélande quant aux volumes de production, aux coûts de production et aux ressources disponibles en recherche et développement. Par contre, elle a, et doit avoir, des ambitions bien ciblées et réalistes, selon son contexte, afin de se démarquer de la concurrence, et ce, en mettant en marché un agneau de qualité supérieure qui répond à la demande des consommateurs. Puisque la tendreté est le critère de qualité organoleptique le plus important pour le consommateur, elle représente un point critique à maîtriser. Parmi les facteurs qui affectent le plus la tendreté, les pratiques et événements postabattage ont le

plus d'influence (Sañudo *et al.* 1998) et occupent une position-clé dans la chaîne de production. Malheureusement, il est plus que probable que les pratiques postabattage actuellement en place dans les abattoirs, notamment le refroidissement des carcasses et la maturation de la viande, ne permettent pas à la viande d'agneau du Québec d'exprimer son plein potentiel en termes de tendreté. C'est donc dans le but d'améliorer ces pratiques, de mieux comprendre leurs effets, d'en apprendre d'avantage sur les événements postmortem et ainsi optimiser la tendreté de l'agneau du Québec que le présent projet a été développé.

Les travaux réalisés au cours de la première étude ont tout d'abord permis de démontrer et de confirmer que la tendreté de la viande d'agneau lourd n'est pas optimale sous les conditions de refroidissement et de maturation utilisées présentement dans les abattoirs du Québec. Le refroidissement est trop rapide et le temps de maturation, qui est en fait le temps entre l'abattage et l'arrivée sur la tablette, est trop court. L'utilisation d'un système commercial de stimulation électrique a permis de démontrer que la viande d'agneau du Québec avait le potentiel d'être plus tendre que ce qu'on retrouve en ce moment. La stimulation électrique des carcasses, telle que pratiquée au chapitre 2, a engendré une amélioration notable de la tendreté de la viande, qu'elle soit mesurée objectivement ou lors d'analyses sensoriels avec un panel de dégustateurs dûment formés. De plus, cette étude a démontré qu'une période de maturation de la viande de huit jours serait bénéfique afin de mettre en marché un produit de qualité supérieure en termes de tendreté. En combinaison avec la stimulation, le temps de maturation pourrait être réduit à trois jours, ce qui correspond bien au temps nécessaire pour que la viande atteigne les tablettes. Par contre, la tendreté maximale est obtenue lorsque la viande stimulée mature pendant huit jours. Au-delà de la moyenne, sous cette combinaison, aucun morceau de viande n'a présenté une tendreté inacceptable. Afin d'offrir au consommateur un produit de qualité supérieure, il serait donc pertinent de favoriser cette dernière combinaison en utilisant une maturation de 6-8 j tout dépendamment du délai entre la vente du fournisseur au boucher/restaurateur et du boucher/restaurateur au client. Puisque la maturation s'effectuait sous vide dans cette étude, l'acceptation de cette technique par l'industrie ne devrait pas causer de perte monétaire pour aucun des acteurs impliqués ni de délai accru

dans les chambres de refroidissement. Finalement, il importe de souligner que la stimulation et la maturation n'ont eu que de faibles impacts sur les autres paramètres de qualité; impacts qui étaient plutôt positifs.

Malgré le potentiel d'amélioration observé lors de la première étude, les résultats laissaient croire qu'il était possible d'améliorer davantage la tendreté de la viande. En effet, lors de cette étude l'amélioration de la tendreté de la viande stimulée résultait essentiellement d'une réduction de la contraction due au froid. Or, il a été suggéré que la stimulation électrique puisse également améliorer la tendreté en favorisant la vitesse d'attendrissement (Hwang *et al.* 2003; Simmons *et al.* 2008). D'ailleurs, le programme australien Sheep Meat Eating Quality maintenant devenu Meat Standard Australia (MSA) recommandait qu'un pH de 6,0 soit atteint dans une fenêtre de température de 18-25 °C afin d'engendrer une viande de qualité (Thompson *et al.* 2005; Toohey *et al.* 2008), fenêtre qui a depuis été revue pour 18-35 °C (Pearce *et al.* 2010). Dans le premier projet, les carcasses ont atteint le pH 6,0 bien en deçà de cette fenêtre, et ce, même chez les carcasses stimulées. De plus, la protéolyse n'était pas plus rapide chez les stimulés. C'est donc dans le but de déterminer s'il est possible d'accélérer l'attendrissement de la viande grâce à la stimulation électrique, et afin de vérifier s'il existe effectivement une fenêtre optimale de température pour atteindre le pH 6,0 que la seconde étude a été mise en place. De plus, elle permettait de valider l'efficacité de la stimulation électrique sur des agneaux dont la génétique et la conduite d'élevage étaient variables et aléatoires contrairement à la première étude.

Premier constat, l'impact de la stimulation électrique sur la vitesse de chute du pH musculaire peut varier d'un animal à l'autre ou d'un groupe à l'autre possiblement en raison de la génétique, de la conduite d'élevage et de leurs impacts sur les types de fibres et les réserves énergétiques. En effet, le temps de stimulation a dû être réduit dans cette seconde étude comparativement à la première afin d'obtenir la chute de pH désirée. L'utilisation de cette technologie dans les abattoirs du Québec demandera donc des ajustements et des vérifications régulières afin de s'assurer que les effets sur la chute du pH seront ceux désirés. Malgré ce constat, les résultats de cette seconde étude ont permis de valider l'effet positif de la stimulation électrique sur la tendreté de la viande d'agneau lourd

de génétique et conduite diverses. La tendreté de la viande était supérieure pour les carcasses stimulées et la combinaison stimulation et huit jours de maturation a engendré une viande dont la force de cisaillement était toujours sous les 5 kg, un seuil arbitraire sous lequel la tendreté est jugée acceptable par le consommateur. Bien qu'une partie de l'effet stimulation semblait toujours provenir de la prévention de la contraction due au froid, cette étude indiquait également que la fragmentation myofibrillaire, un indicateur de l'attendrissement postmortem (Olson *et al.* 1976), était plus importante. D'ailleurs, les résultats de cette étude ont amené l'auteur à s'interroger sur l'importance du lien entre la longueur des sarcomères et la force de cisaillement. En effet, sous le refroidissement lent, les carcasses non stimulées avaient tendance à avoir des sarcomères plus longs que celles sous le refroidissement normal sans qu'il y ait pour autant d'effet sur la tendreté et surtout, malgré le fait que les courbes de pH indiquaient qu'elles étaient tout autant dans la zone à risque de contraction due au froid. De plus, bien que les carcasses stimulées aient présenté des sarcomères significativement plus longs que les carcasses non stimulées, il ne semble exister qu'une faible relation entre la longueur des sarcomères chez les carcasses non stimulées et la force de cisaillement, relation qui est totalement absente chez les stimulées. Ce constat est à priori surprenant. Toutefois, les évidences d'un impact majeur de la contraction due au froid sur la tendreté ont pour la plupart été observées sur des muscles libres de contracter et/ou placés à différentes températures pendant un certain temps (Locker 1960; Locker et Hagyard 1963; Herring *et al.* 1965; Marsh et Leet 1966; Herring *et al.* 1967). Dans le premier cas, l'absence de restriction permet des contractions beaucoup plus importantes que ce qu'on peut retrouver chez les muscles attachés au squelette. Dans le second, un effet de la température sur la protéolyse ne peut pas réellement être écarté. Finalement, la relation entre l'état de contraction et la tendreté, acceptée dans le milieu de la science des viandes, est basée sur des études qui ont démontré la forte relation entre la tendreté et la contraction du muscle plutôt qu'à celle des sarcomères. L'idée ici n'est pas de nier le rôle de la longueur des sarcomères sur la tendreté, effet qui est bien observé lorsque différentes méthodes de suspensions sont utilisées (Hostetler *et al.* 1972; Sørheim *et al.* 2001; Thompson *et al.* 2005; Ahnström *et al.* 2012), mais plutôt d'apporter un questionnement sur l'importance de cette mesure pour des muscles ayant atteint le rigor mortis en étant toujours attachés à la carcasse. Est-ce que la longueur des sarcomères est

réellement la cause de la différence de tendreté ou plutôt un effet collatéral due à la température?

L'effet de la température était un élément central dans la conception de cette seconde étude. À cet effet, la stimulation électrique a été utilisée en combinaison avec deux vitesses de refroidissement afin de générer des carcasses qui ont atteint le pH 6,0 sous différentes températures dans le but de déterminer si cette mesure peut représenter une cible utile pour optimiser la tendreté de la viande produite. Or, les résultats n'ont pas abondé dans ce sens, malgré une importante variation de la température à pH 6,0. Au-delà de 5 °C, il n'y avait pas de relation entre la température à pH 6,0 et la force de cisaillement, la longueur des sarcomères et l'indice de fragmentation (IFM), ce qui est plutôt inattendu. Outre la cible fixée par le MSA (Pearce *et al.* 2010) en se basant sur les travaux de Thompson *et al.* (2005), il est logique de croire qu'une température plus élevée au cours de la période pré-rigor puisse favoriser la tendreté, en partie en favorisant la protéolyse (Dransfield *et al.* 1992; Hwang et Thompson 2001; Simmons *et al.* 2008). Est-ce que la chute rapide de la température des carcasses, qui atteignaient les 10 °C en 6 h et les 5 °C en moins de 12 h, a fait en sorte que le délai entre l'atteinte du pH 6,0 à une température théoriquement favorable et l'atteinte de température froide (< 5 °C) était trop court pour engendrer des différences de tendreté à 3 ou 8 jours? Les études où l'on observe des différences importantes de tendreté due aux températures supérieures durant la période pré-rigor (Zamora *et al.* 1998; Geesink *et al.* 2000; Hwang *et al.* 2004; White *et al.* 2006) ont pour la plupart maintenues les pièces de viande à ces températures de quelques heures à une journée, ce qui laisse beaucoup plus de temps pour qu'il y ait un effet. De plus, dans la présente étude, l'IFM à huit jours n'était pas inférieur pour les carcasses ayant atteint le pH 6,0 à > 35 °C, condition connue pour favoriser l'activation des enzymes, mais également leur épuisement (Simmons *et al.* 1996; Geesink *et al.* 2000). Or, la durée d'exposition des carcasses à ces conditions était très courte puisque la température de ces carcasses était en deçà de 35 °C très rapidement (1-1,5 h) et atteignait moins de 10 °C en 6 h. Cette observation appuie l'hypothèse que la chute très rapide de la température a fait en sorte que les carcasses ne sont pas exposées assez longtemps aux conditions favorables (température à pH 6,0 entre 18 et 35 °C) ou défavorables (pH 6,0 > 35 °C) pour qu'il y ait un effet notable sur la tendreté. D'un autre côté, puisque la majorité des carcasses qui ont présenté

des températures à pH 6,0 au-dessus de 5 °C sont des carcasses stimulées il faut se demander s'il est possible que cette absence de relation soit due au fait que la stimulation électrique ait suffisamment amélioré la tendreté pour masquer un possible effet direct de la température?

Le constat est que lorsque le pH de 6,0 est atteint sous les 5 °C ou sans stimulation électrique, puisque c'était essentiellement les mêmes carcasses, le risque d'avoir une viande plus dure et des sarcomères plus courts est supérieur. Puisque l'effet de la stimulation sur la tendreté et l'IFM ne semble pas dépendant de la température, il est donc possible que la stimulation favorise autrement la dégradation myofibrillaire. Le dernier article avait pour but de mieux comprendre la protéolyse et l'implication des protéases (calpaïnes/calpastatine et caspases 3/7) dans le processus d'attendrissement de la viande. Pour ce faire, les carrés d'agneaux sélectionnés ont été regroupés en quatre groupes selon leur tendreté à trois jours et leur taux d'attendrissement entre trois et huit jours. Le modèle choisi pour cette recherche consistait à comparer la dégradation de certaines protéines myofibrillaires et l'activité des protéases pour ces groupes qui avaient des patrons d'attendrissement bien différents. Le modèle a été choisi et construit de manière à déterminer si les différences de tendreté et d'attendrissement observées étaient causées par la protéolyse de certaines protéines importantes et non par d'autres facteurs (sarcomères, collagène). Par la suite, l'expérience devait permettre de démontrer le rôle crucial des calpaïnes/calpastatine lors de cette protéolyse et ainsi confirmer que le modèle était adéquat. Finalement, ne restait plus qu'à investiguer le rôle de la caspase 3/7 dans ce contexte. Or, les résultats ont démontré que ce n'était pas si simple. Bien que les facteurs comme le collagène et la longueur des sarcomères ne différaient pas entre les groupes et que les indices de fragmentation myofibrillaire semblaient démontrer le rôle clé joué par la protéolyse entre ces groupes, les patrons de dégradation des protéines étudiées n'étaient pas aussi clairs. La troponine-T était plus dégradée à chaque temps mesuré chez la viande qui présentait une tendreté supérieure à 3 j, ce qui correspond bien à la littérature sur le sujet (McBride et Parrish 1977; Huff-Lonergan *et al.* 1996; Kuber *et al.* 2003). Numériquement, le groupe de viande dure à 3 j qui reste dure même après 8 j de maturation présentait le moins de dégradation de la troponine-T, ce qui pourrait témoigner d'une protéolyse moins importante. Cette dégradation moins importante pour ce groupe de viande était également

observée par le biais du produit de dégradation de la desmine. Par contre, l'apparition du produit de dégradation était également moins importante pour le groupe low_drop, un groupe très tendre, ce qui est contradictoire. Toutefois, le fait que la troponine-T soit plus dégradée pour le groupe tendre à 3 j pourrait expliquer la différence entre high_flat et low_drop et indiquer que la tendreté n'est pas la résultante de la dégradation d'une protéine, mais plutôt de la dégradation des différentes protéines myofibrillaires et du cytosquelette. D'autres protéines myofibrillaires et du cytosquelette comme la titine, la nébuline, la vinculine pour ne nommer que celle-ci pourraient avoir été dégradées et avoir participées à l'attendrissement de la viande.

Ce qui est plutôt surprenant dans cette étude, c'est qu'aucune différence d'activité de la μ -calpaïne entre les groupes ne ressorte. Cette protéine est pourtant reconnue comme la grande responsable de la protéolyse postmortem (Koohmaraie 1992; Dransfield 1994; Koohmaraie 1994, 1996). Les viandes dures à 3 j avaient tout de même tendance à présenter une plus grande activité résiduelle de la μ -calpaïne à 196 h ce qui pourrait témoigner d'une inactivité *in vivo*, mais l'ordre de grandeur est assez faible. De son côté, la calpastatine était plus élevée à 1 h chez les viandes dures ce qui correspond bien au rôle qui lui est attribué (Dransfield 1993; Koohmaraie 1994; McDonagh *et al.* 1999). L'absence de différence par la suite peut soit témoigner de son importance durant la période pré-rigor, ou bien d'un manque de sensibilité de la méthode. Les données obtenues n'ont pas démontré que les caspases 3/7 jouaient un rôle de premier plan, malgré une légère tendance à présenter une activité plus importante à 1 h chez les viandes dures. Bien que les données ne semblent pas attribuer un rôle clair à ces deux systèmes protéolytiques, leurs activités semblent tout de même avoir influencé la tendreté de la viande à 3 j. Pour ce qui est de l'attendrissement entre 3 et 8 j, ces protéases ne semblent pas avoir été très impliquées. Il est reconnu que l'activité des calpaïnes/calpastatine diminue très rapidement (Koohmaraie *et al.* 1986; Boehm *et al.* 1998; Camou *et al.* 2007), et ce, malgré le fait qu'une bonne partie de l'attendrissement de la viande se produit par la suite. Afin d'expliquer ceci, certains auteurs ont proposé une action synergétique où les calpaïnes agissent en premier et dégrade la structure myofibrillaire après quoi le protéasome pourrait agir (Robert *et al.* 1999; Houbak *et al.* 2008). Malheureusement, le dosage du protéasome n'a pas été fait dans cette étude. Toutefois, le niveau d'oxydation des lipides a été déterminé et il était plus

important chez les viandes qui s'attendrissaient entre 3 et 8 j. Or, un faible niveau d'oxydation, ce qui semble le cas ici, pourrait favoriser la protéolyse par le protéasome (Davies 2001; Grune *et al.* 2004; Powers *et al.* 2007; Aiken *et al.* 2011). Il ne s'agit que d'une piste puisque l'oxydation mesurée était celle des lipides et non celle des protéines, mais il s'agit tout de même d'une indication intéressante.

La stimulation électrique semble donc être un outil prometteur qui pourrait permettre d'optimiser la tendreté de la viande d'agneau du Québec. Par contre, l'aspect « variable » de la réponse des carcasses démontre qu'il sera important d'effectuer un suivi rigoureux et hebdomadaire pour s'assurer de son efficacité. En fait, ces études ont démontré le bénéfice de cette technologie, mais les modalités de son implantation pour l'industrie restent à définir. Une des avenues envisageables serait d'opter pour le système « intelligent » développé par les Australiens qui est en mesure de moduler la tension en fonction de la carcasse (Shaw *et al.* 2005; Pearce *et al.* 2006).

Le fait que l'IFM ait été affecté par la stimulation électrique au cours d'une des deux études seulement est assez conforme à la littérature où un effet est parfois observé (Kadim *et al.* 2009; Abbasvali *et al.* 2012) et d'autres fois non (Kerth *et al.* 1999; Martin *et al.* 2006; Toohey *et al.* 2008). Il importe toutefois de noter que la méthode de dosage protéique, étape importante dans ce type d'analyse, a été changée dans la seconde étude afin d'améliorer la précision. Est-ce que ce changement peut avoir permis d'observer des différences, ce qui n'avait pas été le cas précédemment? Possible. En fait, les valeurs observées dans la première étude sont plus élevées et il y a moins d'écart entre les temps de maturation que dans la seconde étude ce qui laisse croire que le changement de dosage a engendré un changement de sensibilité.

Les recherches menées au cours de cette thèse ont été faites sur le muscle *longissimus dorsi* (*thoracis et lumborum*) qui compose le carré et la longe courte, les deux coupes à plus haute valeur monétaire. Par contre, comme la tendreté varie d'un muscle à l'autre (Ouali et Talmant 1990), que le refroidissement est différent selon la position et la taille du muscle et que la vitesse d'attendrissement diffère entre les muscles (Tribot

Laspière *et al.* 2008), il serait pertinent d'optimiser les temps de maturation en fonction des différentes découpes, dans un contexte où la maturation s'effectue sous vide. Une telle approche serait novatrice et permettrait d'optimiser la qualité de chacune des coupes tout en minimisant le délai entre l'abattage et la vente.

La possibilité que la tendreté soit la résultante de la « somme » de la dégradation des différentes protéines myofibrillaires ou du cytosquelette pourrait expliquer pourquoi lorsqu'un nombre limité de protéines est étudié des résultats « contradictoires » sont obtenus dans certaines études ou entre les études. Une analyse plus complète de l'ensemble de la dégradation des protéines devrait être envisagée. En fait, la tendreté est probablement la résultante non seulement de la dégradation des protéines, mais surtout de l'effet que cette dégradation produit sur la structure des fibres musculaires et l'affaiblissement de celles-ci. Malheureusement, ce n'est pas l'approche qui avait été envisagée lors de l'élaboration de cette thèse. Bien qu'une approche basée sur la microscopie et l'analyse d'image permettrait d'observer ces changements, elle ne permettrait pas d'en comprendre l'origine. Il serait plutôt justifié d'opter pour une analyse plus globale des protéines dégradées en utilisant notamment l'électrophorèse 2D. Une telle approche permettrait non seulement de comparer l'ensemble des protéines dégradées, mais également elle pourrait permettre d'identifier des protéines qui sont liées à la tendreté dans le contexte étudié, mais qui n'étaient pas soupçonnées au départ.

En ce qui a trait à l'implication des protéases, l'étude *in vitro* de l'activité « résiduelle » semble assez limitée surtout si l'on considère possible que plusieurs protéases agissent, sont régulés et interagissent lors de l'attendrissement. L'auteur de ces lignes croit que le développement et l'utilisation d'un modèle où un muscle est isolé, restreint de manière à conserver sa longueur/forme physiologique, placé dans des conditions mimant la chute de température normalement observée et finalement perfusé avec des inhibiteurs spécifiques des différentes protéases représente un excellent moyen d'étudier leur implication. Les muscles pourraient ensuite être cuits et la force de cisaillement pourrait être mesurée. Un tel modèle permettrait de déterminer les interactions entre les protéases.

Ce travail de recherche a permis de démontrer que la tendreté de l'agneau lourd du Québec n'est pas optimale dans les conditions actuelles. Un des constats qui ne faisait pas partie des objectifs au départ, mais qui est important pour l'industrie québécoise est qu'il est fort possible qu'une partie importante des agneaux abattus au Québec présente un pHu élevé et une viande ayant les caractéristiques qui s'y rattachent, c'est-à-dire le défaut des coupes sombres. Une période de maturation adaptée selon la chaîne de distribution qui permettrait au consommateur d'avoir accès à des carrés et des côtelettes qui ont mûri environ 8 j devrait être envisagée par l'industrie afin d'offrir un produit de qualité supérieure. Le refroidissement des carcasses est trop rapide en ce moment, mais la nature multi-espèce des abattoirs fait en sorte qu'il sera difficile de modifier ce paramètre. La stimulation électrique est un excellent outil afin de contrer le problème et favoriser la tendreté de la viande. De plus, à la lumière de la seconde étude, il est improbable qu'une simple réduction réaliste de la vitesse de refroidissement puisse engendrer une amélioration équivalente à celle causée par la stimulation électrique. En effet, la seconde étude indique que la stimulation électrique pourrait possiblement améliorer la tendreté indépendamment de la température. D'ailleurs, cette étude n'a pas identifié de fenêtre optimale de température à laquelle la carcasse devrait atteindre le pH 6,0 contrairement à ce qui était envisagé au départ. Cette étude a toutefois révélé que l'utilisation efficace de la stimulation électrique demanderait des tests et des vérifications hebdomadaires dans les abattoirs afin de s'assurer que la réponse des carcasses est celle souhaitée. Finalement, le dernier projet a permis de constater que l'étude « individuelle » de quelques protéines dégradées ne permettait pas d'expliquer le développement de la tendreté. Bien qu'aucun constat clair ne ressorte de cette étude en ce qui a trait au rôle des protéases, certains éléments permettent d'émettre l'hypothèse que la protéolyse postmortem puisse impliquer plus d'un système enzymatique et que l'oxydation est possiblement un joueur à envisager.

Référence

Abbasvali, M., Shekarforoush, S.S., Aminlari, M. et Ebrahimnejad, H. 2012. Effects of medium-voltage electrical stimulation on postmortem changes in fat-tailed sheep. *J. Food Sci.* 77: S47-S53.

Ahnström, M.L., Hunt, M.C. et Lundström, K. 2012. Effects of pelvic suspension of beef carcasses on quality and physical traits of five muscles from four gender-age groups. *Meat Sci.* 90: 528-535.

Aiken, C.T., Kaake, R.M., Wang, X. et Huang, L. 2011. Oxidative stress-mediated regulation of proteasome complexes. *Mol Cell Proteomics* 10: R110 006924.

Bennett, J.M. 1997. Eating quality of lamb. Situation paper. Sydney, Australia. 13 p.

Boehm, M.L., Kendall, T.L., Thompson, V.F. et Goll, D.E. 1998. Changes in the calpains and calpastatin during postmortem storage of bovine muscle. *J. Anim. Sci.* 76: 2415-2434.

Camou, J.P., Marchello, J.A., Thompson, V.F., Mares, S.W. et Goll, D.E. 2007. Effect of postmortem storage on activity of μ - and m-calpain in five bovine muscles. *J. Anim. Sci.* 85: 2670-2681.

Davies, K.J.A. 2001. Degradation of oxidized proteins by the 20S proteasome. *Biochimie* 83: 301-310.

Dransfield, E. 1993. Modelling post-mortem tenderisation-IV: Role of calpains and calpastatin in conditioning. *Meat Sci.* 34: 217-234.

Dransfield, E. 1994. Optimisation of tenderisation, ageing and tenderness. *Meat Sci.* 36: 105-121.

Dransfield, E., Etherington, D.J. et Taylor, M.A.J. 1992. Modelling post-mortem tenderisation - II: Enzyme changes during storage of electrically stimulated and non-stimulated beef. *Meat Sci.* 31: 75-84.

Geesink, G.H., Bekhit, A.D. et Bickerstaffe, R. 2000. Rigor temperature and meat quality characteristics of lamb longissimus muscle. *J. Anim. Sci.* 78: 2842-2848.

Grune, T., Jung, T., Merker, K. et Davies, K.J.A. 2004. Decreased proteolysis caused by protein aggregates, inclusion bodies, plaques, lipofuscin, ceroid, and 'aggresomes' during oxidative stress, aging, and disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 36: 2519-2530.

Herring, H.K., Cassens, R.G. et Briskey, E.J. 1965. Sarcomere length of free and restrained bovine muscles at low temperature as related to tenderness. *J. Sci. Food Agric.* 16: 379-384.

Herring, H.K., Cassens, R.G., Suess, G.G., Brungardt, V.H. et Briskey, E.J. 1967. Tenderness and associated characteristics of stretched and contracted bovine muscles. *J. Food Sci.* 32: 317-323.

Hostetler, R.L., Link, B.A., Landmann, W.A. et Fitzhugh, H.A. 1972. Effect of carcass suspension on sarcomere length and shear force of some major bovine muscles. *J. Food Sci.* 37: 132-135.

Houbak, M.B., Ertbjerg, P. et Therkildsen, M. 2008. In vitro study to evaluate the degradation of bovine muscle proteins post-mortem by proteasome and mu-calpain. *Meat Sci.* 79: 77-85.

Huff-Loneragan, E., Mitsuhashi, T., Beekman, D.D., Parrish, F.C., Jr., Olson, D.G. et Robson, R.M. 1996. Proteolysis of specific muscle structural proteins by mu-calpain at low pH and temperature is similar to degradation in postmortem bovine muscle. *J. Anim. Sci.* 74: 993-1008.

Hwang, I.H., Devine, C.E. et Hopkins, D.L. 2003. The biochemical and physical effects of electrical stimulation on beef and sheep meat tenderness. *Meat Sci.* 65: 677-691.

Hwang, I.H., Park, B.Y., Cho, S.H. et Lee, J.M. 2004. Effects of muscle shortening and proteolysis on Warner-Bratzler shear force in beef longissimus and semitendinosus. *Meat Sci.* 68: 497-505.

Hwang, I.H. et Thompson, J.M. 2001. The effect of time and type of electrical stimulation on the calpain system and meat tenderness in beef longissimus dorsi muscle. *Meat Sci.* 58: 135-144.

Kadim, I.T., Mahgoub, O., Al-Marzooqi, W., Khalaf, S., Al-Sinawi, S.S.H. et Al-Amri, I.S. 2009. Effects of transportation during the hot season and low voltage electrical stimulation on histochemical and meat quality characteristics of sheep longissimus muscle. *Livest. Sci.* 126: 154-161.

Kerth, C.R., Cain, T.L., Jackson, S.P., Ramsey, C.B. et Miller, M.F. 1999. Electrical stimulation effects on tenderness of five muscles from Hampshire × Rambouillet crossbred lambs with the callipyge phenotype. *J. Anim. Sci.* 77: 2951-2955.

Koohmaraie, M. 1992. The role of Ca(2+)-dependent proteases (calpains) in post mortem proteolysis and meat tenderness. *Biochimie* 74: 239-245.

Koohmaraie, M. 1994. Muscle proteinases and meat aging. *Meat Sci.* 36: 93-104.

Koohmaraie, M. 1996. Biochemical factors regulating the toughening and tenderization processes of meat. *Meat Sci.* 43: S193-S201.

Koohmaraie, M., Schollmeyer, J.E. et Dutson, T.R. 1986. Effect of low-calcium-requiring calcium activated factor on myofibrils under varying pH and temperature conditions. *J. Food Sci.* 51: 28-32.

Kuber, P.S., Duckett, S.K., Busboom, J.R., Snowden, G.D., Dodson, M.V., Vierck, J.L. et Bailey, J.F. 2003. Measuring the effects of phenotype and mechanical restraint on proteolytic degradation and rigor shortening in callipyge lamb longissimus dorsi muscle during extended aging. *Meat Sci.* 63: 325-331.

Locker, R.H. 1960. Degree of muscular contraction as a factor in tenderness of beef. *J. Food Sci.* 25: 304-307.

Locker, R.H. et Hagyard, C.J. 1963. A cold shortening effect in beef muscle. *J. Sci. Food Agric.* 14: 787.

Marsh, B.B. et Leet, N.G. 1966. Studies in meat tenderness. III. The effects of cold shortening on tenderness. *J. Food Sci.* 31: 450-459.

Martin, K.M., Hopkins, D.L., Gardner, G.E. et Thompson, J.M. 2006. Effects of stimulation on tenderness of lamb with a focus on protein degradation. *Aust. J. Exp. Agric.* 46: 891-896

McBride, M.A. et Parrish, F.C. 1977. The 30 000-dalton component of tender bovine longissimus muscle. J. Food Sci. 42: 1627.

McDonagh, M.B., Fernandez, C. et Oddy, V.H. 1999. Hind-limb protein metabolism and calpain system activity influence post-mortem change in meat quality in lamb. Meat Sci. 52: 9-18.

Meat and Livestock Australia. 2007. MSA standards manual for Sheepmeat. [En ligne]. Disponible à l'adresse: <http://www.mla.com.au/Marketing-red-meat/Guaranteeing-eating-quality/MSA-sheepmeat> (Page consultée le 6 juin 2012).

Olson, D.G., Parrish, F.C. et Stromer, M.H. 1976. Myofibril fragmentation and shear resistance of three bovine muscles during postmortem storage. J. Food Sci. 41: 1036-1041.

Ouali, A. et Talmant, A. 1990. Calpains and calpastatins distribution in bovine, porcine and ovine skeletal muscles. Meat Sci. 28: 331-348.

Pearce, K.L., Hopkins, D.L., Toohey, E., Pethick, D.W. et Richards, I. 2006. Quantifying the rate of pH and temperature decline in lamb carcasses using medium voltage electrical stimulation in an Australian abattoir. Aust. J. Exp. Agric. 46: 869-874.

Pearce, K.L., Van de Ven, R., Mudford, C., Warner, R.D., Hocking Edwards, J., Jacob, R.H., Pethick, D.W. et Hopkins, D.L. 2010. Case studies demonstrating the benefits on pH and temperature decline of optimising medium-voltage electrical stimulation of lamb carcasses. Anim. Prod. Sci. 50: 1107-1114.

Powers, S.K., Kavazis, A.N. et McClung, J.M. 2007. Oxidative stress and disuse muscle atrophy. J. Appl. Physiol. 102: 2389-2397.

Robert, N., Briand, M., Taylor, R. et Briand, Y. 1999. The effect of proteasome on myofibrillar structure in bovine skeletal muscle. Meat Sci. 51: 149-153.

Russell, B.C., McAlister, G., Ross, I.S. et Pethick, D.W. 2005. Lamb and sheep eating quality - industry and scientific issues and the need for integrated research. Aust. J. Exp. Agric. 45: 465-467.

Safari, E., Channon, H.A., Hopkins, D.L., Hall, D.G. et van de Ven, R. 2002. A national audit of retail lamb loin quality in Australia. Meat Sci. 61: 267-273.

Sañudo, C., Sanchez, A. et Alfonso, M. 1998. Small ruminant production systems and factors affecting lamb meat quality. Meat Sci. 49: s29-s64.

Shaw, F.D., Baud, S.R., Richards, I., Pethick, D.W., Walker, P.J. et Thompson, J.M. 2005. New electrical stimulation technologies for sheep carcasses. Aust. J. Exp. Agric. 45: 575-583.

Sheep CRC Ltd. 2011. Annual report 2010-11. [En ligne]. Disponible à l'adresse: http://www.sheepcrc.org.au/files/pages/about/corporate-governance/annual-reports/Sheep_CRC_2010_11_Annual_Report.pdf (Page consultée le 6 juin 2012).

Simmons, N.J., Daly, C.C., Cummings, T.L., Morgan, S.K., Johnson, N.V. et Lombard, A. 2008. Reassessing the principles of electrical stimulation. Meat Sci. 80: 110-122.

Simmons, N.J., Singh, K., Dobbie, P. et Devine, C.E. 1996. The effect of prerigor holding temperature on calpain and calpastatin activity and meat tenderness. Pages 414-415 dans 42nd International Congress of Meat Science and Technology, Lillehammer, NO.

Sørheim, O., Idland, J., Halvorsen, E.C., Frøystein, T., Lea, P. et Hildrum, K.I. 2001. Influence of beef carcass stretching and chilling rate on tenderness of m. longissimus dorsi. Meat Sci. 57: 79-85.

Thompson, J.M., Hopkins, D.L., D'Souza, D.N., Walker, P.J., Baud, S.R. et Pethick, D.W. 2005. The impact of processing on sensory and objective measurements of sheep meat eating quality. Aust. J. Exp. Agric. 45: 561-573.

Toohey, E.S., Hopkins, D.L., Stanley, D.F. et Nielsen, S.G. 2008. The impact of new generation pre-dressing medium-voltage electrical stimulation on tenderness and colour stability in lamb meat. Meat Sci. 79: 683-691.

Tribot Laspière, P., Turin, F., Chatelin, Y.-M. et Coulon, G. 2008. La cartographie de la maturation de la viande bovine : comparaison de 5 muscles de jeunes bovins et de vaches de réforme. 35 p.

White, A., O'Sullivan, A., O'Neil, E.E. et Troy, D.J. 2006. Manipulation of the pre-rigor phase to investigate the significance of proteolysis and sarcomere length in determining the tenderness of bovine M. longissimus dorsi. Meat Sci. 73: 204-208.

Zamora, F., Chaib, F. et Dransfield, E. 1998. Calpains and calpastatin from cold-shortened bovine M-longissimus lumborum. Meat Sci. 49: 127-133.