

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA CONTRACTURE PROVOQUEE PAR LE FROID

LACCOURT A. et CHARPENTIER J. *

Station de Recherches sur la viande

Institut National de la Recherche Agronomique

Theix, 63 - SAINT GENES CHAMPANELLE

INTRODUCTION

LOCKER R.H et HAGYARD C.J (1963) ont été les premiers à montrer que que les muscles libres de bœuf réfrigérés à une température inférieure à $+10^{\circ}\text{C}$ dans un état de pré-rigor présentent un phénomène appelé " cold shortening " qui provoque un raccourcissement pouvant atteindre 60% de la longueur initiale. Dans une étude sur le mouton MARSH B.B et LEET N.G (1966) ont montré que cette contracture provoquée par le froid, en augmentant de façon importante la dureté, diminue la qualité de la viande.

Nous même avons montré (LACCOURT, 1971) sur le rectus abdominus de bovin que le réticulum sarcoplasmique fragmenté présente, à $+2^{\circ}\text{C}$ et pH 7.0, une vitesse initiale de captage de calcium du même ordre que celle obtenue à $+30^{\circ}\text{C}$ et pH 5.5. Dans le même travail une actomyosine issue d'un muscle rouge de bovin est incapable de présenter le phénomène de superprécipitation à une température inférieure à $+9^{\circ}\text{C}$ alors qu'une actomyosine issue de muscles blancs de cobaye peut le faire à cette température de façon importante.

Ces faits expérimentaux semblent contradictoires avec l'observation courante d'une contracture provoquée par le froid plus rapide et plus intense dans les muscles rouges que dans les muscles blancs.

Le travail présenté ici se propose d'étudier l'évolution post mortem des propriétés mécaniques et biochimiques de muscles en relation avec les caractéristiques histochimiques des fibres.

* décédé le 30 Avril 1971.

II MATERIEL ET METHODES

Cette étude a été faite sur un lot homogène d'agneaux âgés de 9 mois et présentant un poids moyen de carcasse égal à 17 Kg. Pour s'affranchir des variations individuelles chaque alternative expérimentale a été faite sur 3 animaux. Cinq muscles différents sont étudiés. Ils sont choisis en fonction de leur teneur présumée en fibres rouges et en fibres blanches. Il s'agit du m. Brachio cephalicus (BC), du m. Triceps Brachii caput laterale (TB), du m. Psoas major (PM), du m. Longissimus dorsi (LD) et du m. Tensor fasciae latae (TFL).

Une étude particulière a été faite pour les muscles Brachio cephalicus et Tensor du fasciae latae sur deux lots d'agneaux, les uns calmés, les autres stressés. Les animaux ont été calmés 20 minutes avant l'abattage par une injection intraveineuse de sulfate de magnésium en solution à 25% à raison de 0.6 ml par Kg. de poids vif. Les animaux stressés ont été isolés pendant la nuit qui a précédé leur abattage.

Les muscles sont prélevés aussitôt après l'abattage. Quatre échantillons d'environ 10 grammes sont placés dans des chambres parcourues par un courant d'azote saturé en humidité à la température de + 2°C, de + 16°C ou de + 37°C. Les techniques utilisées consistent à suivre extemporanément, la tension isométrique, le raccourcissement d'un fragment libre, la perte d'extensibilité le pH et la température.

Des prélèvements sont congelés dans l'azote liquide et permettent ultérieurement l'analyse biochimique d'une part et l'étude histochimique d'autre part.

- Dosage de l'A.T.P., de la Phosphocréatine et de l'acide lactique.

Ces dosages sont faits par méthode enzymatique. La phosphocréatine est dosée en même temps que l'ATP en ajoutant au milieu de réaction de la phosphocréatine-kinase. Sa concentration est exprimée en équivalent ATP. Les dosages sont faits en continu au moyen d'un Autoanalyseur Technicon.

- Histochimie transversale.

-En premier lieu, la coloration de la succinic deshydrogénase mitochondriale par la méthode de NACHLAS M.M et al (1957) sur des coupes transversales permet de déterminer la constitution des muscles en trois familles de fibres (rouge, blanche, intermédiaire).

- En deuxième lieu, des coupes sériées permettent de comparer les propriétés de ces fibres musculaires en mettant en évidence:

a) la concentration cellulaire de la succinic deshydrogénase qui est témoin du métabolisme aérobie du tissu.

b) le type d'activité ATPasique de la myosine par préincubation des coupes en milieu acide pH 4.4 ou alcalin pH 10.2 selon la méthode de PADYKULA et HERMAN modifiée par GUTH L. et SAMAHA F.J (1969).

c) la concentration en myoglobine selon la technique présentée par MORITAS et al (1969).

- Histochimie longitudinale.

Des coupes longitudinales d'échantillons de muscles où la rigor mortis est installée sont faites à l'aide d'un cryostat. Elles sont collées immédiatement sur une lame sèche, de façon à conserver la conformation que les fibres ont au niveau de l'échantillon. Une coloration de la succinic deshydrogénase permet de différencier les fibres rouges des fibres blanches.

A5

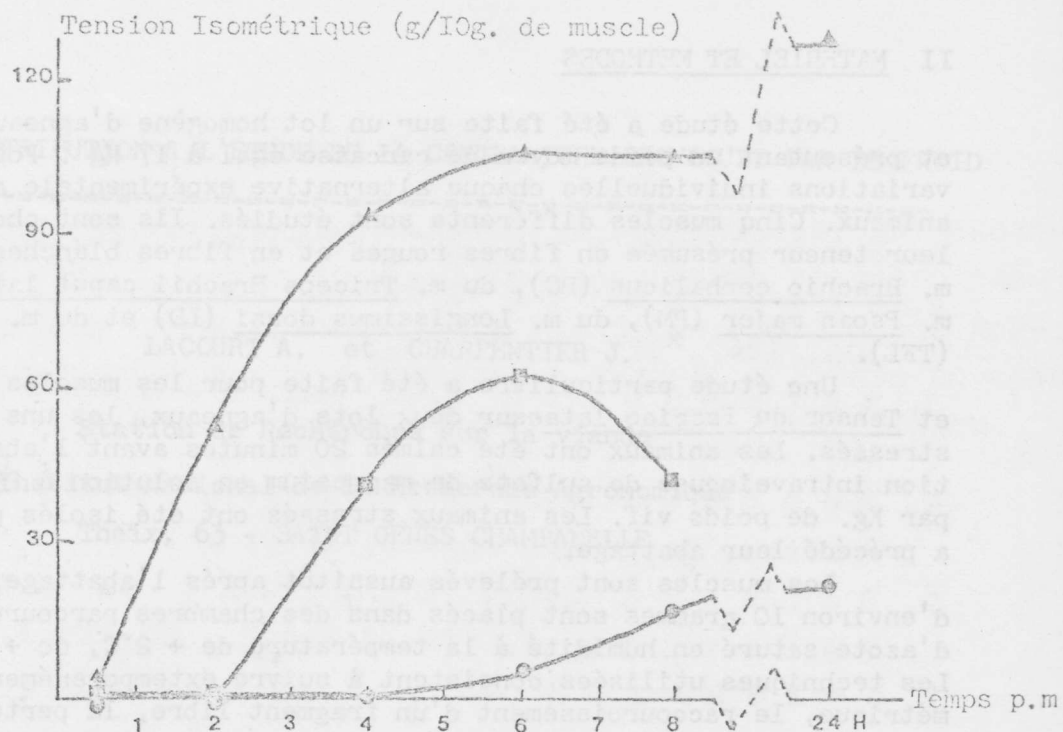


FIGURE 1. Tension Isométrique développée dans le m. Psoas major à différentes températures.

▲—▲ 2°C, ●—● 16°C, ■—■ 37°C.

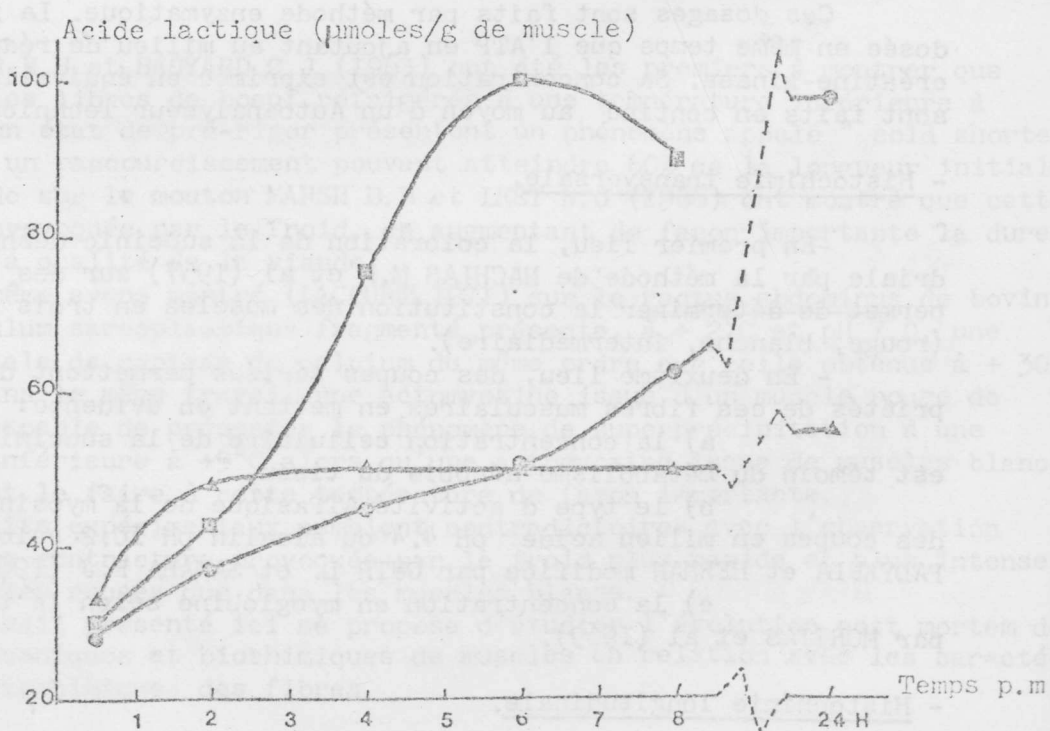


FIGURE 2. Concentration en acide lactique du m. Psoas major à différentes températures.

▲—▲ 2°C, ●—● 16°C, ■—■ 37°C.

RESULTATS.

I. ACTION DE LA TEMPERATURE SUR L'INSTALLATION DE LA RIGOR MORTIS DANS LE PSOAS MAJOR.

Dans la figure 1 il est possible de voir qu'à 16°C, le muscle Psoas major ne développe une tension isométrique que 6 à 8 heures post mortem, de plus, la valeur maximum atteinte n'est que de 20 à 25 grammes pour 10 gramme de muscle. A 37°C la tension se développe à partir de 2 heures post mortem et s'élève à une valeur de 70 g. pour 10 g. de muscle. Par contre, lorsque le muscle est placé à + 2°C, la tension isométrique se développe immédiatement et atteint une valeur de 100 à 120 g. pour 10 grammes.

Parallèlement, figure 2, la production d'acide lactique à 16 °C est plus faible dans les premières heures que celle qui se produit à 37°C. Pour une production finale de 100 µmoles d'acide lactique par gramme de muscle, il est possible de voir que ce maximum est atteint en 6 heures à 37°C alors qu'il faut attendre 24 heures pour l'obtenir à 16°C. Par contre à +2°C, la vitesse de production d'acide lactique atteint au bout de deux heures une valeur très faible. De plus à 24 heures, le maximum atteint est égal à 55 µmoles.

Même en constatant la valeur élevée de la concentration en acide lactique à 30 minutes post mortem, soit 30 µmoles par gramme, ce qui est caractéristique du psoas, cette faible production d'acide lactique à +2°C se retrouve ^{pour} dans d'autres muscles. Ces faits confirment assez bien les résultats de NEWBOLD R.P et SCOPES R.K (1967) sur boeuf et SCOPES R.K (1971) sur mouton.

II. ETUDE GLOBALE DE LA CONTRACTURE PROVOQUEE PAR LE FROID. DANS DIFFERENTS MUSCLES

II.1 Pourcentage de fibres déterminées par la méthode de la succinic deshydrogénase sur des coupes histochimiques:

Le tableau 1 montre que le pourcentage de fibres rouges va dans un ordre croissant du m. Tensor fasciae latae au m. Triceps brachii Caput laterale. Les fibres intermédiaires existent avec une fréquence a peu près analogue dans chaque muscle. Les fibres blanches présentent un pourcentage qui évolue dans le sens inverse à celui des fibres rouges.

TABLEAU I - Constitution des muscles en différentes fibres

	Fibres rouges	Fibres intermédiaires	Fibres blanches
<i>m. Triceps brachii caput laterale</i>	55,8-22	28,7-50	15,5-30
<i>m. Brachii cephalicus</i>	48,7-14	28,5-43	22,8-76
<i>m. Psoas major</i>	54,3-11	20,6-0	25,1-23
<i>m. Longissimus dorsi</i>	50,6-19	20,7-58	28,7-36
<i>m. Tensor fasciae latae</i>	26,3-27	23,1-55	50,6-16

Le 1er chiffre représente la moyenne arithmétique de 3 animaux
Le 2ème chiffre en italique indique le coefficient de variation

TABLEAU 2 - Evolution post mortem à + 2°C des propriétés de muscles de mouton

		30'	2 H	4 H	6 H	8 H	24 H
Température (°C)	TB	21,7-13	3,9-17	3,1-16	3,0-16	2,9-12	2,9-12
	BC	26,3-19	3,4-6	3,1-4	2,8-12	2,5-17	2,4-14
	PM	20,5-26	2,9-21	2,8-14	2,6-10	2,4-14	2,4-13
	LD	25,0-0	3,9-12	3,1-16	2,9-14	2,6-16	2,6-16
	Tfl	25,7-16	3,8-8	3,2-8	3,0-0	2,9-4	2,9-4
Tension isométrique (g/10 g muscle)	TB	0 - 0	35-47	98,7-60	99,7-58	109,7-62	163-53
	BC	0 - 0	21-33	151,7-68	253 -51	241,3-41	118- 7
	PM	0 - 0	52,7-33	95,3-54	107,3-62	105,3-67	131
	LD	0 - 0	39,7-15	106,3-108	130,3-99	156,7-104	213,5-24
	Tfl	0 - 0	15,0-28	95 -101	150,7-119	178,3-105	214,3-53
Raccourcissement (% par rapport à la long. initiale)	TB	0 - 0	18,7-22	31,0-23	32,0-25	33,0-26	34,0-25
	BC	0 - 0	12,2-63	24,7-26	30,7-25	35,7-12	33,7-8
	PM	0 - 0	5,7-5	10,3-37	16,0-56	16,7-22	17,7-39
	LD	0 - 0	15,2-40	26,8-25	31,0-21	35,7-31	36,7-30
	Tfl	0 - 0	14,7-49	28,7-32	33,7-32	34,3-34	34,3-34
Extensibilité (% de l'extensibilité à 30')	TB	100 - 0	56,7-10	31,7-24	14,0-38	0 - 0	0 - 0
	BC	100 - 0	70 - 32	50 - 81	20 - 66	5 -87	0 - 0
	PM	100 - 0	66,7-22	31,7-51	11,7-108	0 - 0	0 - 0
	LD	100 - 0	80 - 11	55 - 34	26,7-11	1,7-173	0 - 0
	Tfl	100 - 0	91,7-16	46 - 15	25 - 0	4-173	0 - 0
pH	TB	6,57 - 3	6,63-3	6,55-2	6,33-2	6,15-2	5,87-1
	BC	6,50 - 2	6,47-1	6,35-2	6,28-3	6,23-2	5,95-3
	PM	6,17 - 1	6,02-3	5,90-2	5,87-3	5,83-2	5,75-1
	LD	6,55 -	6,63-5	6,58-3	6,35-3	6,08-2	5,65-1
	Tfl	6,77 - 3	6,77-3	6,68-4	6,50-4	6,26-1	5,88-2
ATP + PC (µmoles/g)	TB	2,1 -27	1,3-30	0,7-52	0,2-0	<0,1-0	<0,1-0
	BC	2,0 - 45	1,3-19	0,8-61	0,7-58	0,2-52	<0,1-0
	PM	0,3 - 55	0,1-173	< 0,1-0	< 0,1-0	< 0,4-0	<0,1-0
	LD	2,3 - 62	1,8-54	1,0-44	0,4-72	0,1-87	<0,1-0
	Tfl	1,8 - 35	1,6-53	1,2-54	1,2-32	0,2-25	<0,1-0
acide lactique (µmoles/g)	TB	10,3 - 24	16,0 - 23	23,3-11	32,7 - 10	39,7 -12	52,3-16
	BC	14,0 - 31	18,8 - 34	21,5-20	28,8 - 7	38,2 -37	46,0-31
	PM	32,7 - 22	48,7 - 7	49,7-9	49,3 - 16	49,3 -12	55
	LD	17,7 -31	27,0 - 13	33,7-6	40,7 - 6	49,3 -10	65 - 0
	Tfl	18,7 -46	19,3 - 35	28,0-25	34,3 - 14	35,3 - 4	43 - 20

Le premier chiffre représente la moyenne arithmétique de 3 animaux. Le dernier chiffre en italique représente le coefficient de variation de cette moyenne.

TB : *Triceps brachii caput laterale* - BC : *Brachio cephalicus* - PM : *Psoas major*
LD : *Longissimus dorsi* - Tfl: *Tensor fasciae latae*

A5

Le choix fondé uniquement sur la réaction de la succinic deshydrogénase est certainement critiquable comme il sera possible de le voir par la suite. Il est nécessaire pour décider si une fibre est rouge ou blanche, lente ou rapide de considérer les propriétés de l'ATPase de la myosine, en même temps que la mise en évidence du type métabolique,

II.2 Evolution des propriétés de muscle de mouton en état de pré-rigor placés à +2°C.

La moyenne arithmétique des valeurs obtenues sur 3 animaux différents est présentée dans le tableau 2. Les dimensions du muscle placé à +2°C sont telles que la température descend à environ 4°C au bout de deux heures et atteint 3°C au bout de quatre heures. Les propriétés mécaniques des muscles évoluent de façon identique en fonction du temps. S'il existe une bonne corrélation entre les valeurs du pH et des concentrations en ATP + PC et en acide lactique, il est à noter que les concentrations en composés riches en énergie sont faibles d'une part, et que d'autre part, l'acide lactique ne dépasse jamais 50 à 60 μ moles par gramme de muscle après 24 heures. Il est également possible de constater que le muscle perd son extensibilité et que le raccourcissement s'arrête vers pH 6.2-6.0. Ces résultats confirment bien les observations de SCOPES (1971). Il faut remarquer le cas particulier du Psoas major avec un pH à 30 minutes de 6.17, une concentration d'acide lactique 32.7 μ moles/g. et d'ATP + PC de 0.3 μ moles/g. Mais, le fait le plus intéressant est la constatation de la grande variabilité de l'évolution de ces propriétés entre les animaux plutôt qu'entre les types de muscles. Ainsi dans ces conditions, il n'est pas possible de mettre en évidence une réaction au froid différente dans des muscles à tendance rouge ou à tendance plus blanche, tel le m. Tensor du fasciae latae.

II.3 Contracture provoquée par le froid dans des muscles d'animaux calmés.

En comparant l'effet du froid dans un muscle rouge (BC) et un muscle blanc (TFL) sur des animaux calmés avant l'abattage il est possible d'éliminer en partie le résultat des stress dus aux opérations de la mise à mort. Chez les animaux calmés, le pH initial est plus élevé dans le TFL que dans le BC, figure 3 mais il évolue plus vite vers les valeurs acides dans le muscle blanc que dans le muscle rouge. Chez les animaux stressés, le pH à 1 heure post mortem est 0.2 unité pH plus bas que dans le muscle blanc.

Il est possible de voir (figure 4) que dans le cas des animaux calmés, le m. Tensor du fasciae latae se contracte au froid autant que le Brachio cephalicus. Il perd presque la moitié de sa capacité dans le cas des animaux stressés. Il est possible de constater que toute contraction est impossible au dessous de pH 5.9.

III. ETUDE HISTOCHIMIQUE.

III.1 Coupes longitudinales 24 heures post mortem dans des muscles ayant subi une contracture au froid.

Ces prélèvements histochimiques sont toujours faits lorsque les muscles ont perdu toute extensibilité, que la tension isométrique qu'ils ont développée a nettement diminuée et lorsque leur pH est inférieur à 5.9.

III.1.1 Coloration de la succinic deshydrogénase

Il est pratiquement impossible de reconnaître dans les coupes

A5

Raccourcissement (% par rapport à la longueur initiale)

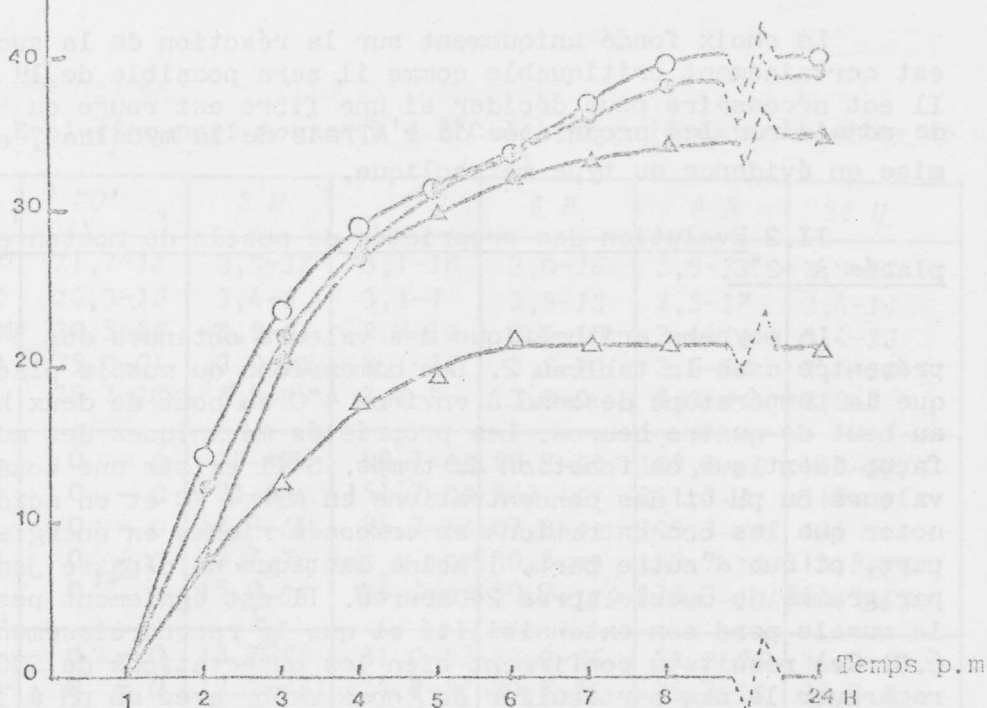


FIGURE 4. Raccourcissement dans les muscles de mouton à 2°C. Les symboles blancs représentent le m. Tensor fasciae latae, les noirs représentent le m. Brachiocephalicus. O-O, O-O animaux calmes, Δ-Δ, Δ-Δ animaux stressés. Chaque valeur représente la moyenne pour 3 animaux.

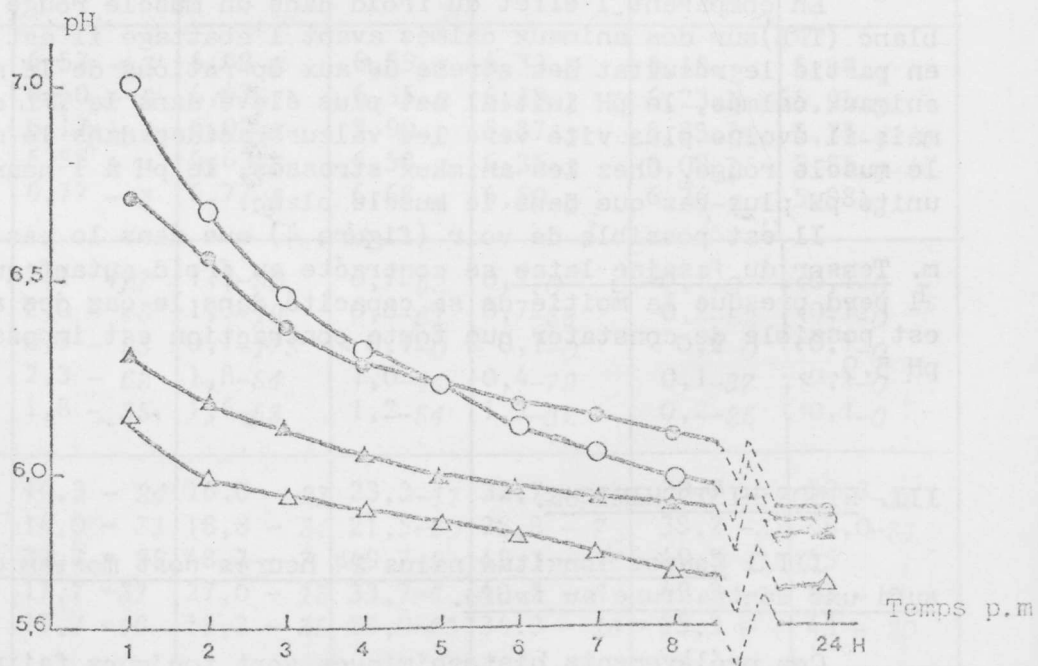


FIGURE 3. Evolution du pH dans les muscles de mouton à 2°C. Les symboles représentent le m. Tensor du fasciae latae, les noirs représentent le m. Brachiocephalicus. O-O, O-O animaux calmes, Δ-Δ, Δ-Δ animaux stressés. Chaque valeur représente la moyenne pour 3 animaux.

longitudinales les fibres intermédiaires. L'étude des photographies a donc été faite en classant grossièrement les fibres en rouges ou blanches. Dans le B2 et le TFL les deux tiers des fibres rouges comptées présentent une allure ondulée tandis que un tiers présente une allure droite. Inversement, les fibres blanches sont droites et contractées deux fois plus souvent qu'elles sont ondulées.

III.1.2 Quelques essais de coupes longitudinales où l'ATPase myofibrillaire de type contraction rapide est mise en évidence par une préincubation basique montrent que pratiquement aucune fibre de type lent présente des contractions intenses. Elles sont pratiquement toutes ondulées. Par contre, il est possible de constater que quelques fibres de type contraction rapide présentent des ondulations.

III.1.3 Longueurs de sarcomères.

La longueur de sarcomère des fibres contractées activement est liée au pourcentage de raccourcissement observé sur le muscle. Ainsi, dans le Psoas major la longueur de sarcomère à 16°C est de l'ordre de 2μ, elle devient égale à 1.7 μ pour 10% de raccourcissement et à 1.24 μ pour 20% de raccourcissement. Dans le m. Longissimus dorsi raccourcit de 38%, la longueur de sarcomère est égale à 1.06 μ; pour 43% elle devient 0.97μ. De toute façon, entre des fibres ondulées et des fibres contractées, la longueur de sarcomère diffère de 0.1 à 0.2 μ au maximum. Ce fait montre que dans un premier temps, toutes les fibres ont la possibilité de se contracter mais qu'elles le font avec une intensité ou pendant un temps différent. Ces résultats confirment les travaux de VOYLE (1969).

III.2 Coupes transversales sériées.

La concentration en myoglobine des fibres semble bien en corrélation étroite avec leur équipement en succinic deshydrogénase. Au grossissement 500, il est possible de distinguer chez le mouton des fibres possédant 2 types différents de mitochondries. Les unes présentent un réseau mitochondrial réticulé uniforme. Les autres présentent des mitochondries ponctuelles qui ont tendance à être plus fréquentes sur les bords de la cellule.

Toutefois, nous avons remarqué chez le mouton que les mitochondries ponctuelles pouvaient exister selon les fibres et les muscles, à des concentrations très variables. Ainsi, il nous a semblé très difficile de distinguer les fibres rouges pauvres des fibres blanches riches en mitochondries.

Par ailleurs, les coupes sériées où les ATPases de type contraction rapide ou de type contraction lente sont mis en évidence par une préincubation à pH 10.2 ou 4.4, se recouvrent parfaitement. Dans certains cas, nous avons pu mettre en évidence des fibres intermédiaires donnant une réponse à demi positive pour les deux types d'ATPases, comme GUTH L. et SAMAHA F.J (1969) l'ont montré.

De toute manière, il n'est pas possible de trouver une corrélation systématique entre le type métabolique et le type d'ATPase myofibrillaire des fibres. En effet, il est courant de trouver des cellules possédant beaucoup de succinic deshydrogénase qui présentent une ATPase de type réponse rapide. Ainsi dans le m. Brachio cephalicus une fibre sur deux de type métabolique fibre rouge possède une ATPase résistante à pH 10.2, dans le m. Psoas major une sur deux et dans le m. Tensor du fascia latae 2 sur 3.

DISCUSSION

On peut penser ^{que} l'hypothèse ^{la plus} probable est qu'au dessous de $+10^{\circ}\text{C}$, le réticulum sarcoplasmique est suffisamment inhibé pour que du calcium soit relâché dans les cellules, déclenchant ainsi l'activité ATPasique et la contraction myofibrillaire. Il est possible que cette inhibition soit différente selon les animaux, ce qui peut expliquer la variabilité des résultats que nous avons observés. L'évolution des propriétés mécaniques et de la composition biochimique observée dans les muscles d'agneaux placés à $+2^{\circ}\text{C}$ en état de pré-rigor, est en accord avec les résultats de MARSH B.B et LEET N.G (1966) et ceux de SCOPES (1971).

Tous les muscles testés semblent capables de présenter une contracture à basse température lorsque les conditions de pH ou de teneur en ATP le permettent. Le m. *Psoas major* est apparu à ce sujet un cas très particulier. Malgré la présence de nombreuses fibres intermédiaires ayant une ATPase myofibrillaire théoriquement incapable de fonctionner au dessous de 10°C , il est constitué de 50% de fibres rouges dont une ou deux possède une ATPase de type contraction rapide. Or, il s'est toujours présenté au temps initial de 30 minutes avec un pH très bas. Nous pensons qu'il est très possible que l'irrigation sanguine soit davantage bloquée dans certains muscles par les stress provoqués avant l'abattage. Le m. *Psoas major* n'est que rarement susceptible de se contracter au froid du fait de son pH acide.

L'expérience sur les animaux calmés ou stressés (figure 4) confirme le fait généralement admis que les fibres blanches s'acidifient beaucoup plus vite que les fibres rouges. Ainsi quoique leur ATPase myofibrillaire soit moins inhibée par le froid, les fibres blanches perdent vite leur capacité de se contracter car leur pH atteint rapidement la valeur critique de 6.0 - 5.9. Le pH global mesuré au niveau du muscle pouvant alors être supérieur à 6.0.

Les récents résultats de microscopie électronique de GAUTHIER G.F (1970) montrent qu'il est possible de distinguer dans un muscle des fibres rouges riches surtout à la périphérie, en mitochondries, des fibres intermédiaires possédant un réseau assez dense de fines mitochondries et des fibres blanches dans lesquelles seules des paires de petites mitochondries existent au niveau des stries Z. BARNARD R.J et al (1971) montrent par histochimie sériée que les fibres intermédiaires seules, possèdent une ATPase myofibrillaire correspondant à une contraction musculaire de type lent. Il recommande donc d'employer, pour désigner les fibres musculaires, la terminologie suivante: rouge-rapide, intermédiaire-lente et blanche-rapide. Bien que nous ayons observé chez le mouton de nombreuses fibres rouges typiques ayant une activité ATPasique myofibrillaire de type lent, nous suggérons avec BARNARD que seules des coupes sériées définissant le type métabolique et le type de contraction permettent un classement valable des fibres.

Il est très probable que les fibres rouge-rapides jouent un rôle primordial dans les muscles subissant une contracture au froid. En effet, seules ces fibres possèdent un système contractile peu inhibé par le froid et un équipement métabolique leur permettant une acidification lente.

CONCLUSION

Ainsi la majorité des muscles d'agneaux ont la possibilité lorsque leur température s'abaisse au dessous de 10°C de se contracter conduisant ainsi à une diminution ultérieure de la qualité de la viande. Le m. *Psoas major* semble être un muscle particulier, s'acidifiant rapidement après la mort, et n'ayant que rarement l'occasion de présenter une contracture au froid. Les fibres possédant une ATPase de type contraction rapide semblent bien responsables de l'intensité

A5

de la contracture provoquée par le froid. Les fibres de type rouge-rapide, fréquentes dans les muscles de moutons jouent certainement un rôle important, du fait de leur pH probablement plus élevé.

Ainsi la cinétique de réfrigération de carcasse doit répondre à la double exigence des muscles en état de pré-rigor. Il semble souhaitable de régler la vitesse et la température de réfrigération avec le type d'acidification post mortem le plus fréquent pour une espèce donnée. Ainsi la qualité des carcasses de pores gagnerait si leur réfrigération était faite en quelques heures. Par contre il semblerait avantageux de faire séjourner les carcasses de boeufs et de moutons dans des salles de ressuyage régulées à +15°C pendant un temps fixé en fonction de la masse à réfrigérer.

Avec la participation technique
Madame M.C. BAYLE

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BARNARD R.J. et al., 1971 Amer. J. Physiol. 220, 410-414
- GAUTHIER G.F., 1970 in The Physiology and Biochemistry of Muscle as a Food, 2, The University of Wisconsin Press.
- GUTH L. et SAMAHA F.J., 1969 Exp. Neurol. 25, 138-152.
- LACOURT A., 1971 La Revue Générale du Froid. (in press)
- LOCKER R.H. et HAGYARD C.J., 1963 J. Sci. Food Agric. 14, 787-793
- MARSH B.B. et ILETT N.G., 1966 J. Food Sci. 31, 450-459.
- MORITA S. et al., 1969 Stain Technol. 44, 283-286.
- NACHIAS M.M. et al., 1957 J. Histochem. Cytochem. 5, 420.
- NEWBOLD R.P. et SCOPES R.K., 1967 Biochem. J. 105, 127-136.
- SCOPES R.K., 1971 in BENDALL J.R., Symposium "Meat in the Future Problems and Solutions". London, 31 March-1 April 1971.
- VOYLE C.A., 1969 J. Food Technol. 4, 275-281.