

Post mortem Veränderungen an der Myofibrillarstruktur in Beziehung zur Fleischreifungsgeschwindigkeit

VALIN C.

Station de Recherches sur la Viande - I.N.R.A. THEIX 63110 BEAUMONT

Die meisten während der Fleischreifung festgestellten Änderungen an den Myofibrillen können in vitro mit dem CAF und den lysosomalen Enzymen nachgemacht werden :

- Steigerung der Löslichkeit der Myofibrillarproteines
- Abbau der Z Streifen
- Auslösung der  $\alpha$  Actinin
- Abbau der Troponin T
- Veränderung der C und M Proteine

Die Ergebnisse der qualitativen Untersuchung dieser Änderungen weisen auf eine Ergänzung von beiden Enzymgruppen. Quantitative Bestimmungen der post mortem Änderungen der Myofibrillen in Beziehung zur Reifungstemperatur sollten zum besseren Kenntniss der vorkommenden Reaktionen führen, sie müssen auch sicherlich die unterschiedlichen Reifungsgeschwindigkeiten, die an den Schlachtkörpern in verschiedenen Lagerungsbedingungen festgestellt sind, besser erklären lassen.

Die Aktivierungsenthalpie der Reifungsreaktion (Zartwerdengeschwindigkeit des Fleisches v/s Lagerungstemperatur) und die der Änderungen an der Myofibrillarstruktur (Protein-Lösemittel Affinität v/s Lagerungstemperatur) erweisen sich vergleichbar.

Post mortem changes in myofibrillar proteins and their relationship to the speed of meat aging

VALIN C.

Station de Recherches sur la Viande - I.N.R.A. THEIX 63110 BEAUMONT FRANCE

The in vitro analysis of the effect of CAF and lysosomal enzymes on the myofibrillar structure allows the reproduction, almost exactly, of the effect of post mortem storage on myofibrillar proteins :

- increase of the myofibrillar proteins solubility
- removal of the Z disks
- release of  $\alpha$  actinin
- degradation of troponin T
- degradation of proteins C and M

The results of this qualitative analysis suggest the possibility of a cooperative effect of CAF and lysosomal enzymes in the mechanism of aging .

The quantitative analysis of the effect of storage temperature on the post mortem changes occurring at the level of the myofibrillar protein could give additional informations on the biochemical mechanisms involved and explain some differences of speed of aging recorded in the industrial conditions of carcasses handling. The enthalpy of activation of the ageing reaction (speed of meat tenderization) is similar with the enthalpy of activation of the changes of the proteins-solvent affinities in the myofibrillar structure during aging.

## E 3:2

### Modifications post mortem de la structure myofibrillaire et relation avec la vitesse de maturation de la viande

VALIN C.

Station de Recherches sur la Viande, I.N.R.A. THEIX, 63110 BEAUMONT FRANCE

L'analyse in vitro de l'action du CAF et des enzymes lysosomales sur la structure myofibrillaire permet de reproduire la plupart des modifications qui se produisent en cours de maturation au niveau de la structure contractile des muscles :

- augmentation de la solubilité des protéines myofibrillaires
- destruction de la strie Z
- libération de l' $\alpha$  actinine
- destruction de la troponine T
- altération des protéines C et M

Les résultats de l'analyse qualitative de ces modifications suggère une complémentarité d'action du CAF et des enzymes lysosomales dans le mécanisme de la maturation.

L'analyse quantitative de l'influence de la température de conservation sur les modifications post mortem de la structure myofibrillaire doit permettre de préciser la nature des mécanismes biochimiques mis en jeu au cours de ces transformations et d'expliquer certaines différences de vitesse de maturation observées dans différentes conditions de traitement des carcasses. L'enthalpie d'activation de la réaction de maturation (vitesse d'attendrissage de la viande en fonction de la température de conservation) est comparable à l'enthalpie d'activation des modifications des affinités protéines-solvant au sein de la structure myofibrillaire en cours de maturation.

Изменения post-mortem миофибрилловой структуры и отношение к скорости созревания мяса.

ВАЛЕН К.

Станция по исследованию мяса. ИНРА-ТЭ, 63110 Бомон - ФРАНЦИЯ

Проведенный in vitro анализ действия "CAF" ( фактор активности кальция ) и лизомных ферментов на миофибрилловую структуру дал возможность повторить большую часть изменений возникающих в течении созревания мяса на уровне сократительной структуры мышц:

- Увеличение растворимости миофибрилловых белков
- Уничтожение Z борозды
- Освобождение альфа-актина
- Разрушение Т-тропонина
- Повреждение С-и М- Белков
- Уменьшение сродства белок-белок и увеличение сродства белок-растворяющее средство

Результаты качественного определения этих изменений показывают на дополнительность действия между САФ и лизомными ферментами.

Количественным определением влияния температуры хранения на изменения post mortem миофибрилловой структуры должно быть возможным уточнить сущность механизмов приводимых в действие в течении этих изменений, и объяснить разницы наблюдаемые в скорости созревания при разных условиях обработки туш. "Энталпия" активации реакции созревания ( скорость размягчения мяса в зависимости от температуры хранения ) сходна с величиной "энталпии" активации эволюции миофибрилловой структуры ( изменения взаимоотношений белок-растворяющее средство в зависимости от температуры хранения ) .

Modifications post mortem de la structure myofibrillaire et relation avec la vitesse de maturation

VALIN C.

Station de Recherches sur la Viande I.N.R.A.-THEIX 63110 BEAUMONT

Introduction

La tendreté de la viande diminue lors de l'installation de la rigor mortis puis s'accroît progressivement au cours de la phase de maturation. Cet attendrissage correspond à une évolution des propriétés mécaniques du tissu musculaire qui résulte essentiellement de modifications intervenant au niveau de la structure myofibrillaire, du moins nous l'admettons ainsi, notre propos se limitant ici à l'examen des causes de variation de la tendreté des muscles au cours de la maturation.

Par ailleurs, le phénomène de maturation, son intensité en terme d'attendrissage de la viande dépendent étroitement d'une part des conditions d'installation de la rigor mortis (LOCKER et DAINES 1976, JOSEPH et CONNOLLY 1977, KANG et al 1978, BOWLING et al 1978) et de la température de conservation (DAVEY et GILBERT 1976), toutes choses qui doivent être prises en compte si l'on veut réellement comprendre le mécanisme d'attendrissage de la viande.

De très nombreuses études ont été consacrées à la description des modifications qui affectent la structure myofibrillaire en cours de maturation. Globalement on peut résumer les principaux résultats obtenus à :

- une destruction progressive de l'image des stries Z allant de pair avec l'exclusion de l' $\alpha$  actinine de la structure myofibrillaire
- un affaiblissement des interactions protéine-protéine accompagné d'une évolution des propriétés de solubilité des protéines myofibrillaires
- une attaque protéolytique d'un composé du filament fin la troponine T

Il résulterait de l'ensemble de ces modifications une fragilisation progressive de la structure myofibrillaire, contemporaine de l'augmentation de la tendreté. Cette fragilisation peut être appréciée par des tests mécaniques tel le MFI qui est corrélé significativement avec la tendreté (MOELLER et al) et dont l'augmentation semble aller de pair avec la disparition de la troponine T (MAC BRIDE, PARRISH 1978), ou bien le rapport du travail de cisaillement sur la force de cisaillement du muscle cru qui est corrélé significativement avec la tendreté (GOUTEFONGEA VALIN 1978) et avec l'évolution des propriétés de solubilité des protéines myofibrillaires ( $r = 0,75$ ) (VALIN et al 1975).

En dépit du nombre de travaux existant il est manifeste qu'il demeure certaines inconnues tant en ce qui concerne les causes de l'évolution de la structure myofibrillaire qu'en ce qui concerne l'existence d'une relation quantitative directe entre les modifications de la structure myofibrillaire et les modifications de la tendreté de la viande en cours de maturation. Nous essaierons de discuter ces deux points.

Matériel et méthodesPréparation des myofibrilles :

Les myofibrilles sont préparées selon une méthode dérivée de celle de BENDALL (1961).

Préparation du CAF :

Le CAF a été préparé à partir de muscles de lapin selon une méthode dérivée de celle de BUSCH et al (1972), l'extrait brut ainsi obtenu est partiellement purifié par chromatographie sur Sephadex G200 (OUALI, VALIN 1976)

Préparation des enzymes lysosomales :

L'extraction d'une fraction riche en lysosomes a été réalisée sur muscle de bovin selon la technique de BARLAND (1972). Les enzymes lysosomales sont libérées par une solution de Triton X100 0,2 %. Dans le mélange obtenu sont identifiées les activités cathepsine D, B1, B2, A et C.

Action des enzymes protéolytiques sur la structure myofibrillaire

L'incubation des myofibrilles avec le CAF est réalisée selon la méthode décrite précédemment (OUALI, VALIN 1976)

L'incubation des myofibrilles avec les enzymes lysosomales se fait à pH 5,6 en présence de cystéine 1mM (rapport enzyme/substrat 1/15).

Après incubation à 30°C pendant 4 heures pour le CAF et 20 heures pour les enzymes lysosomales, les myofibrilles sont centrifugées 15 minutes à 5000 G:

- dans le surnageant on mesure la quantité de protéines passées en solution et on procède à une analyse qualitative et semi quantitative de ces protéines par électrophorèse sur gel de polyacrylamide.

- le culot est remis en suspension dans un milieu  $K_2HPO_4$  0,266M pendant 30 minutes à 20°C avec agitation magnétique. Après centrifugation 30 minutes à 20 000G le surnageant est analysé comme précédemment.

Electrophorèse sur gel de polyacrylamide

L'électrophorèse sur gel de polyacrylamide 6 % en tube des protéines dissoutes dans le SDS est réalisée selon SCOPES PENNY (1972) en milieu trisborate. La migration dure une heure sous une tension de 100 Volts, 1,5 à 2mAmp par tube. Les protéines sont colorées par une solution de bleu de Coomassie 0,3 % dans éthanol 30 %, acide acétique 5 %  $H_2O$  pendant une nuit. Puis les gels sont décolorés dans le mélange éthanol 30 %, acide acétique

## E 3:4

5 %, H<sub>2</sub>O 65 %.

L'analyse densitométrique des bandes de protéine est réalisée à la longueur d'onde de 620 nm avec un Chromoscan équipé d'un intégrateur. L'identification des bandes a été réalisée par électrophorèse dans les mêmes conditions des solutions purifiées de myosine, actine, tropomyosine et troponine.

### Mesure de l'activité ATPasique

L'activité ATPasique myofibrillaire est mesurée à pH 7,4 dans un milieu contenant ATP 4mM, MgCl<sub>2</sub> 4mM, CaCl<sub>2</sub> 0,2mM, myofibrille 1 à 2mg/ml. L'osmolarité du milieu est fixée par du KCl 1M. L'activité ATPasique est mesurée en pH stat par neutralisation des H<sup>+</sup> libérés par KOH 0,01N. A la suite de cette réaction le milieu réactionnel est centrifugé 2 minutes à 5000g et on détermine la quantité de protéine du surnageant.

L'osmolarité du surnageant est vérifiée par mesure à l'osmomètre (Fiske Associates Inc modèle 130).

### Résultats

I - Action des différentes protéases musculaires sur la structure myofibrillaire

#### 1.1. - Action du CAF

##### 1.1.1. - Influence du CAF sur la solubilité des protéines

L'incubation des myofibrilles avec le CAF dans les conditions optimales d'activité de l'enzyme modifie la solubilité des protéines myofibrillaires.

		Pour cent de protéines solubilisées	
		30°C/4 heures pH 7,5 - Ca <sup>++</sup> 5mM r/2 = 0,2	20°C/30mn PO <sub>4</sub> HK <sub>2</sub> 0,266M r/2 = 0,6
Témoin	Myof. relaxée	10.9	21.3
	Myof. contractée	11.4	22.0
+ CAF	Myof. relaxée	17.0	36.2
	Myof. contractée	18.1	36.0

Tableau I : Influence du CAF sur la solubilité des protéines myofibrillaires

Table I : Influence of CAF on the solubility of myofibrillar proteins

L'incubation des myofibrilles avec le CAF s'accompagne du passage en solubilité d'une quantité proche de 20 % des protéines myofibrillaires et entraîne une augmentation de 70 % de la solubilité en milieu de force ionique élevée. Il convient de noter que le degré de contraction des myofibrilles n'influe pas sur l'effet du CAF.

#### 1.1.2. - Analyse qualitative et quantitative des protéines solubilisées

L'analyse par électrophorèse sur gel de polyacrylamide sépare 15 composés dans les surnageants d'incubation avec le CAF et 13 dans l'extrait au PO<sub>4</sub>HK<sub>2</sub> 0,266M. Tous ces composés ne sont pas identifiés. D'autre part il convient de signaler que l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide dans les conditions où elle a été mise en oeuvre ne permet pas une analyse précise des composés de faible poids moléculaire (Rf > 0,80).

Les résultats du tableau II montrent que le CAF entraîne une libération très rapide de l'actine que l'on ne retrouve plus dans les extraits phosphates ce qui corrobore les résultats de nombreux auteurs (BUSCH et al 1972 PENNY 1974).

Par ailleurs le CAF a une action nette au niveau de la troponine T et entraîne une évolution de la solubilité de l'actine et des composés de faible poids moléculaire parmi lesquels figureraient les troponines I et C. Par contre dans nos conditions expérimentales le CAF ne semble pas affecter la tropomyosine alors que cette protéine isolée est très sensible à l'activité protéolytique de cette enzyme (PENNY 1974). Plus récemment CHIN SHENG CHEN et PARRISH 1977 et 1978 ne rapportent pas non plus d'évolution de la fraction tropomyosine lorsqu'il y a action du CAF sur des myofibrilles mais leurs analyses restaient purement qualitative.

Enfin le CAF semble entraîner un accroissement de solubilité de la myosine. L'effet très net n'a, semble-t-il, été jamais rapporté par aucun auteur encore que PENNY (1974) en analysant l'effet du CAF sur la DAM suggérait que le CAF pouvait provoquer une modification dans la structure du complexe actine-myosine pour expliquer l'effet du CAF sur l'activité ATPasique Mg<sup>++</sup>.

On ne peut pas préjuger à partir de ces résultats par quel mécanisme le CAF influe sur la solubilité de la myosine, action sur la molécule de myosine (têtes) ou sur les protéines susceptibles de structurer le filament épais, protéines C et M. CHIN SHENG CHEN et PARRISH (1978) suggèrent l'existence d'une attaque protéolytique au niveau de la protéine C en cours de maturation. De leurs résultats de 1977 on ne peut pas préjuger si cela résulterait d'une action du CAF ou des enzymes lysosomales.

Par ailleurs le CAF semble avoir une action sur le composé de la bande 6, composé non identifié mais qui pourrait correspondre à la protéine M dans notre système d'électrophorèse. Ce composé pourrait subir une protéolyse par le CAF.

Donc pour conclure et par rapport aux résultats de PENNY (1970) concernant l'évolution des propriétés de solubilité des protéines myofibrillaires en cours de conservation l'action du CAF ne semble pas pouvoir d'après ces résultats expliquer l'évolution des propriétés de solubilité de la tropomyosine.

N°	Bandes		Surnageant d'incubation		Extrait phosphate	
	Rf	Protéines	Témoin X + 6	Essai X + 6	Témoin	Essai
1	0.04 - 0.09	Polymères myosine	0.09 ± 0.05	0.67 ± 0.40	4.72 ± 0.85	9.13 ± 1.38
2	0.10 - 0.22	Myosine	0.49 ± 0.07	1.35 ± 0.23	4.99 ± 0.22	7.73 ± 0.34
3	0.25 - 0.30	α actinine	1.07 ± 0.09	2.2 ± 0.66	non chiffrée	absente
4	0.31 - 0.34	CASF	-	0.53 ± 0.32	non chiffrée	absente
5	0.39 - 0.43	-	0.25 ± 0.06	0.26 ± 0.04	1.82 ± 0.66	2.05 ± 0.80
6	0.46 - 0.50	-	0.10 ± 0.02	absente	non chiffrée	non chiffrée
7	0.53 - 0.56	Tropomyosine	0.18 ± 0.02	0.32 ± 0.15	1.57 ± 0.18	1.57 ± 0.18
8	0.58 - 0.61	Actine	0.46 ± 0.08	1.41 ± 0.12	7.27 ± 0.86	13.75 ± 1.45
9	0.63 - 0.65	Troponine T	non chiffrée	0.74 ± 0.05	1.22 ± 0.25	0.77 ± 0.03
10	0.66 - 0.70	-	non chiffrée	non chiffrée	2.70 ± 0.37	absente
11	0.71 - 0.75	-	non chiffrée	non chiffrée	-	-
12	0.78 - 0.83	Troponine I + LMM	non chiffrée	non chiffrée	non chiffrée	0.87 ± 0.43
13	0.85 - 0.89	Troponine c ?	0.18 ± 0.03	0.96 ± 0.08	4.59 ± 0.63	6.60 ± 0.13
14	0.90 - 0.93	LMM ?	0.34 ± 0.02	2.82 ± 0.78	4.63 ± 0.53	8.74 ± 1.10
15	0.95 - 0.97	-	absente	non chiffrée	-	-

Tableau II : Analyse quantitative et qualitative de l'action du CAF sur la structure myofibrillaire (QUALI 1976)

Table II: Quantitative and qualitative analysis of CAF on the myofibrillar structure (QUALI 1976)

(QUALI 1976)

X = teneur en protéine de la fraction analysée

X = protein content of the analysed fraction

## 1.2. - Action des enzymes lysosomales

## 1.21. - Influence des enzymes lysosomales sur la solubilité des protéines

L'incubation des myofibrilles avec les enzymes lysosomales à pH 5,6 entraîne une modification des propriétés de solubilité des protéines myofibrillaires.

		% protéines solubilisées	
		30°C/20heures pH 5.6 cystéine mM /2 = 0,2	20°C/30mn PO <sub>4</sub> HK <sub>2</sub> 0.266M /2 = 0.6
Témoin	Myof. relaxée	10.9	9.5
	Myof. contractée	11.0	8.8
+ enzyme lysosomale	Myof. relaxée	14	18.0
	Myof. contractée	14.6	19.5

Tableau III : Influence des enzymes lysosomales sur la solubilité des protéines myofibrillaires

Table III : Influence of lysosomal enzymes on the solubility of myofibrillar proteins

On constate tout d'abord un effet stabilisant très net du pH acide sur la structure myofibrillaire en comparant les deux témoins.

Il est manifeste que le système lysosomal entraîne des modifications au niveau de la structure myofibrillaire s'accompagnant d'une évolution des solubilités. Par rapport au CAF c'est surtout la solubilité en milieu phosphate qui est la plus affectée (doublement).

## 1.22. - Analyse quantitative et qualitative des protéines solubilisées

Les résultats du tableau IV montrent qu'à la différence du CAF les enzymes lysosomales paraissent sans effet sur la solubilité de la myosine. La très faible teneur en bande 2 de l'extrait phosphate témoin résulte d'un problème de coloration de ces bandes. Il ne faudrait pas en conclure que l'augmentation de solubilité de la myosine dans le cas précédant en présence de CAF est due seulement à un effet de pH car si on cumule successivement l'incubation avec le CAF puis celle avec les enzymes lysosomales à pH 5,6 pendant 20 heures à 30°C on observe également l'augmentation de solubilité de la myosine.

N°	Bandes		Surnageants d'incubation		Extrait Phosphate	
	Rf	Protéines	Témoin	Essai	Témoin	Essai
1	0.04 - 0.09	Polymères myosine	non chiffré	0.17	2.77 ± 0.21	2.48 ± 0.22
2	0.10 - 0.22	Myosine	0.30 ± 0.1	0.25 ± 0.08	0.55 ± 0.01	5.01 ± 1.28
3	0.25 - 0.30	Actinine	non chiffrée	0.6 ± 0.14	absente	non chiffrée
4	0.31 - 0.34	CASF	-	-	--	-
5	0.39 - 0.43	-	0.99 ± 0.25	non chiffrée	absente	1.11 ± 0.31
6	0.46 - 0.50	-	0.55 ± 0.08	0.69 ± 0.01	0.26	1.12 ± 0.19
7	0.53 - 0.56	Tropomyosine	0.81 ± 0.09	0.30 ± 0.12	0.81 ± 0.25	1.20 ± 0.20
8	0.58 - 0.61	Actine	0.88 ± 0.04	0.96 ± 0.01	1.35 ± 0.15	0.60 ± 0.18
9	0.63 - 0.66	Troponine T	0.57 ± 0.14	1.11 ± 0.08	2.68 ± 0.34	1.17 ± 0.03
10	0.69 - 0.70	-	non chiffrée	0.48 ± 0.13	non chiffrée	non chiffrée
11	0.72 - 0.74	-	-	-	1.03 ± 0.15	0.83
12	0.81 - 0.82	Troponine I + LMM	non chiffrée	0.55	non chiffrée	non chiffrée
13	0.85 - 0.88	Troponine C	0.77 ± 0.34	1.39 ± 0.04	non chiffrée	non chiffrée
14	0.90 - 0.93	LMM	1.95 ± 0.23	2.21 ± 0.19	1.99 ± 0.23	0.47 ± 0.08
15	0.95 - 0.97	-	-	-	1.79 ± 0.06	2.55 ± 0.10

Tableau IV : Analyse qualitative et quantitative de l'action des enzymes lysosomales sur la structure myofibrillaire (OUALI 1976)

Table IV: Qualitative and quantitative analysis of the action of lysosomal enzymes on the myofibrillar structure  
 X = teneur en protéine de la fraction solubilisée  
 X = protein content solubilized fraction

Par ailleurs il est manifeste que les enzymes lysosomales ont une action au niveau du filament fin en particulier au niveau de la troponine T, d'une façon comparable à ce qui a été observée avec le CAF mais sans doute moins intense, au niveau des composés de faible poids moléculaire bandes 12 et 13 soit vraisemblablement au niveau des troponines I et c. Enfin les enzymes lysosomales semblent augmenter la solubilité en milieu phosphate 0,266 M de la tropomyosine. L'effet est encore plus net à ce niveau si on cummule l'action du CAF puis celle du complexe lysosomale

A l'opposé du CAF ces actions sur le filament fin ne paraissent pas modifier le comportement de l'actine.

Pour conclure il est manifeste que le système lysosomale peut attaquer la structure myofibrillaire. Son action semble plus réduite que celle du CAF et paraît confinée au niveau du filament fin. Peut être n'est il pas exclu qu'il existe une action du niveau des filaments de myosine car les enzymes lysosomales influent sur la solubilité en milieu phosphate des composés des bandes 5 et 6 mais ces dernières ne sont pas identifiées avec certitude dans notre système d'analyse électrophorétique.

## II - Influence de la température sur les modifications de la structure myofibrillaire

La vitesse d'attendrissage de la viande en cours de maturation dépend étroitement de la température de conservation. DAVEY et GILBERT (1976) sur muscle sternomandibularis de bovin montrent qu'entre 0 et 40°C le  $Q_{10}$  de la réaction d'attendrissage est élevé et égal à 2,4, l'enthalpie d'activation étant de l'ordre de 61,5kJ ce qui plaide pour l'existence d'un mécanisme enzymatique. A partir des résultats de BUSCH et al (1967) obtenus sur muscles psoas et semitendinosus de bovin nous avons calculé des valeurs de  $Q_{10}$  qui sont comparables à celle obtenue par DAVEY et GILBERT (1976). Entre 12 et 22°C on observe un  $Q_{10}$  de 2,24 pour le psoas et de 2,56 pour le semitendinosus. Entre 0 et 10°C les  $Q_{10}$  semblent plus faibles mais sont encore élevés,  $Q_{10} = 1,8$  pour le psoas et  $Q_{10} = 2,02$  pour le semitendinosus.

Peut on trouver des relations du même ordre entre des modifications intervenant au niveau de la structure myofibrillaire et la température de conservation. On ne peut pas avec les données de OLSON et al (1976) calculer l'influence de la température sur la valeur du "myofibrillar fragmentation index" ou MFI, ce qui serait intéressant compte tenu du parallélisme existant entre l'évolution de cet index, la disparition de la troponine T et l'attendrissage de la viande. Nous avons donc cherché une modification myofibrillaire en cours de maturation qui soit quantifiable avec suffisamment de précision pour tester l'influence de la température de conservation sur la vitesse d'évolution de la structure myofibrillaire. Notre choix a porté sur la mesure de l'activité ATPasique myofibrillaire en milieu Mg 4mM, Ca 0,2 mM dont nous avons suivi l'évolution en fonction du temps, de la température de conservation et de l'osmolarité du milieu dans lequel est déterminée l'activité ATPasique. Nous avons mesuré simultanément la quantité de protéines myofibrillaires solubilisée par l'ATP.

On observe fig. 1 (diapositive) que l'activité ATPasique Mg, Ca diminue avec l'augmentation d'osmolarité du milieu d'incubation et que cette diminution est d'autant plus rapide que la température de conservation de la viande est plus élevée et que le temps de conservation augmente. D'autre part (diapositive) ces diminutions de

l'activité ATPasique vont de pair avec une augmentation de la quantité de protéines solubilisées au cours du test de mesure de l'activité ATPasique. Cette augmentation de la solubilité en fonction du temps de maturation observable même en milieu de faible osmolarité confirme la diminution en cours de maturation de la force de la liaison actine-myosine.

Nous avons caractérisé l'évolution de l'activité ATPasique par le rapport de l'activité mesurée pour une osmolarité de 600 sur celle mesurée à l'osmolarité 450. Les mesures ont été réalisées sur muscles rectus abdominis de bovin après 3 et 7 jours de maturation à 0, +8 et +15°C, l'entrée en rigor mortis de ces muscles a été réalisée à +15°C pendant 24 heures.

Les résultats du tableau V font apparaître des enthalpies d'activation proches et très élevées pour les deux phénomènes étudiés.

Influence de la température de conservation sur		
	L'évolution de l'activité ATPasique en milieu Mg <sup>4</sup> mM, Ca 0,2mM	La solubilité des protéines myofibrillaires
$\Delta H$	48.5 $\pm$ 0.46 KJ	53.3 $\pm$ 8.7 KJ

Tableau V : Influence de la température sur la vitesse d'évolution de la structure myofibrillaire

Table V : Influence of temperature on the velocity of evolution of the myofibrillar structure

Ces valeurs sont tout à fait comparables à la valeur rapportée par DAVEY et GILBERT 1976 pour l'influence de la température sur la vitesse d'attendrissage ce qui suggère une certaine similitude dans les mécanismes mis en oeuvre. D'autre part, les valeurs élevées du tableau V sont tout à fait comparables à la valeur de l'énergie apparente d'activation qui caractérise l'action du CAF sur les myofibrilles (45.15 KJ) mesurée il est vrai entre 15 et 35°C.

### Conclusion

La libération de l'actine qui accompagne la disparition des stries Z n'est pas contemporaine ni de l'évolution du MFI ni de celle de la tendreté (OLSON et al 1977). Ceci implique que la fragilisation myofibrillaire dépendrait de modifications intervenant au niveau du filament fin tel que la destruction de la troponine T avec l'apparition du composé de 30000 D (OLSON PARRISH 1977) et non de la disparition de l'actine. L'exclusion de cette dernière de la structure myofibrillaire pourrait alors résulter d'une attaque protéolytique du CAF au niveau du filament fin et non directement au niveau de la strie Z comme le suggèrent les résultats de PENNY (1976) concernant l'évolution de la force de liaison de l'actine à la F actine en cours de maturation.

Des résultats de la littérature, il apparaît manifestement que le CAF pourrait être tenu pour responsable de ces modifications (PENNY, OLSON et al 1977, CHIN SHENG CHENG et PARRISH 1977) et nos propres résultats obtenus dans des conditions assez différentes le corroboreraient. Cependant on ne peut être pas ramener toute cette évolution à une simple action du CAF. Nos résultats montrent que les enzymes lysosomales peuvent attraper le filament fin et si cela ne libère pas l'actine une action nette au niveau des troponines et de la tropomyosine apparaît. D'autre part CHIN SHENG CHENG et PARRISH (1977) observent après 2 jours de stockage à 23°C dans un milieu où le CAF est inhibé la disparition de la troponine T et l'apparition du composé 30 000D, ils ne l'observent pas pour une incubation à 2°C alors qu'avec le CAF on obtient cette transformation après 2 jours à 2°C. Compte tenu de nos résultats et de cette observation de CHIN SHENG CHENG et PARRISH on peut raisonnablement émettre l'hypothèse d'une complémentarité d'action au niveau du filament fin du CAF et des enzymes lysosomales, ces dernières exhibant apparemment une activité beaucoup plus faible que le CAF au moins pour des temps de maturation très courts. L'hypothèse de l'intervention des enzymes lysosomales est aussi supportée par les résultats de EIINO et STANLEY (1973) et par notre propre observation de l'existence d'une relation significative mais pas très étroite ( $x = 0,47$ ) entre la vitesse de maturation et le taux des enzymes lysosomales libres (VALIN et al 1975). L'analyse fine de l'influence de la température sur la vitesse de ces transformations pour des maturations plus ou moins longues permettrait sans doute d'améliorer notre perception de la part respective des deux systèmes dans le phénomène de maturation compte tenu de la très grande différence d'influence de la température sur l'activité du CAF et du système lysosomal.

Le second point important à discuter concerne le problème de la liaison actine-myosine. De nombreux auteurs ont voulu voir dans l'affaiblissement de cette liaison en cours de maturation l'une des causes de fragilisation progressive de la structure myofibrillaire. FUJIMAKI et al (1965) ont observé que cette liaison était plus facilement dissociée par l'ATP après maturation. Dans des conditions très comparables WOLF et SAMEJIMA (1976) infirmaient ce résultat. En fait dans les conditions expérimentales utilisées par ces auteurs l'effet de la force ionique rend difficile la mise en évidence de différences de degré de dissociation dus à l'ATP. En dépit de ces résultats contradictoires on pouvait déduire indirectement de l'évolution des caractéristiques de l'activité ATPasique du système (GOLL et al 1973) l'existence de modifications importantes dans l'interaction de l'actine et de la myosine. D'autre part l'analyse de la dissociation de l'actomyosine en présence d'ATP et/ou de phosphate a montré que si la vitesse de dissociation du complexe ne varie pas avec la maturation par contre la vitesse et le degré de réassociation sont modifiés (VALIN 1967, SAMEJIMA WOLF 1976).

Par ailleurs nous avons observé qu'en cours de maturation (DUMONT VALIN 1973) le rapport myosine libre sur myosine totale extraite par le milieu de HASSELBACH-SCHNEIDER croissait avec le temps de maturation. Les résultats rapportés ici montrent à l'évidence que même en milieu de faible force ionique l'effet solubilisant de l'ATP croît avec le temps de maturation et cela d'autant plus vite que la température de conservation est élevée.

## E 3:8

L'enthalpie d'activation mesurée laisse présager l'existence d'un mécanisme enzymatique -comme cause de ce phénomène. L'ensemble des résultats présentés tendrait à montrer que le CAF est vraisemblablement responsable de ces modifications sans pour autant que l'on puisse préjuger du mécanisme, une augmentation de solubilité pouvant résulter soit de modifications au niveau des filaments fins soit d'une attaque au niveau des têtes de myosine, sont enfin d'une attaque au niveau du filament épais sur la protéine C comme le suggèrent CHIN SHENG CHENG et PARRISH (1978).

Pour conclure il apparaît de l'ensemble des résultats rapportés ici que le CAF tiendrait une place majeure dans le mécanisme de la maturation. L'action du complexe lysosomal semble beaucoup plus discrète mais ne doit pas être nulle et doit vraisemblablement se circonscrire au niveau du filament fin du moins au vue des résultats dont nous disposons. Il reste cependant à expliquer le mécanisme des évolutions anormales de la tendreté que l'on observe en particulier après installation de la rigor à basse température avec ou sans cold shortening (JOSEPH, CONNOLLY 1977) les premières observations de BOWLING et al (1978) ne permettant pas de voir comment est modifiée l'évolution myofibrillaire selon que la rigor mortis s'installe à 0°C ou à +16°C.

D'une façon générale nous avons discuté de phénomènes qui se déroulent parallèlement avec l'amélioration de la tendreté en cours de maturation. Y-a-t-il une relation de cause à effet entre eux, il n'est pas aberrant de le penser mais aucune preuve formelle n'en a été donnée et on ne peut pas ignorer l'observation de DAVEY et GRAAFHUIS (1976).

- LOCKER R.H., DAINES J.D. (1976) J. Sci. Food Agric. (27) 193  
JOSEPH R.L., CONNOLLY J., 1977 J. Food Technol. (12) 231  
KANG C.G., MUGURUMA M., FUKAZAWA T., ITO T., 1978 J. Food Sci (43) 508  
BOWLING R.A., SMITH G.C., DUTSON T.R., CARPENTER Z.L., 1978 J. Food Sci (43) 502  
DAVEY C.L., GILBERT K.V. 1976 J. Sci Food Agric. (27) 244  
MOELLER A.J., VESTERGAARD T., WISMER PEDERSEN J., 1973 J. Food Sci (38) 824  
MAC BRIDE M.A., PARRISH F.C., 1978 J. Food Sci (42) 1627  
GOUTEFONGEA R., VALIN C., 1978 Ann. Technol. Agric. (in press)  
VALIN C., PALANSKA O., GOUTEFONGEA R., 1975 Ann. Technol. Agric. (24) 47  
BENDALL J.R., 1961) Biochem. J. (81) 520  
BUSCH W.A. STOMER M.H. GOLL D.E. SUZUKI A. 1972 J. Cell Biol. (52) 367  
OUALI A., VALIN C., 1976 22nd Europ. Meeting Meat Res. Workers, Malmö  
BARLAND M.N., 1972 D.E.S. Université Clermont Fd  
SCOPES R.K., PENNY Z.F., 1977 Biochem. Biophys. Acta (236) 409  
OUALI A., 1976 Thèse doctorat 3è cycle Université Clermont Fd  
PENNY I.F., 1974 J. Sci Food Agric. (25) 1273  
CHIN SHENG CHENG, PARRISH F.C., 1977 J. Food Sci (42) 1621  
CHIN SHENG CHENG, PARRISH F.C., 1978 J. Food Sci (43) 461  
PENNY I.F., 1970 J. Sci. Food Agric. (21) 303  
BUSCH W.A., PARRISH F.C., GOLL D.E., 1967 J. Food Sci (32) 390  
OLSON D.G., PARRISH F.C., STOMER M.H., 1976 J. Food Sci (41) 1036  
PENNY I.F., 1976 J. Sci Food Agric. (27) 1147  
OLSON D.G., PARRISH R.C., DAYTON W.R., GOLL D.E., 1977 J. Food Sci (42) 117  
OLSON D.G., PARRISH F.C., 1977 J. Food Sci (42) 506  
EINO M.F., STANLEY D.W., 1973 J. Food Sci (38) 51  
FUJIMAKI M., ARAKAWA N, OKITANI A., 1965 Agric. Biol. Chem. (29) 700  
WOLFE F.H., SAMEJIMA K., 1976 J. Food Sci (41) 244  
GOLL D.E., STOMER M.H., OLSON D.F., DAYTON W.R., SUZUKI A., ROBSON R.M., 1973 Proc. Meat Ind. Res. Conf.  
  
VALIN C., 1967 13th Europ. Meeting Meat Res. Workers, Rotterdam  
DUMONT B.L., VALIN C., 1973 Ann. Technol. Agric. (22) 69  
DAVEY C.L., GRAAFHUIS A.E., 1976 J. Sci Food Agric. (27) 301