



**Facultat de Veterinària**

**Bellaterra (Barcelona)**

**CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS DEL MÚSCULO, CALIDAD  
DE LA CARNE Y DE LA GRASA DE CONEJOS SELECCIONADOS  
POR VELOCIDAD DE CRECIMIENTO**

**Tesis Doctoral**

**Jorge Alberto Ramírez Télles**

**2004**

**IRTA** **Institut de Recerca  
i Tecnologia  
Agroalimentàries**

**Centre de Tecnologia de la Carn**

*Unitat de Qualitat de la Canal i de la Carn*

**Monells (Girona)**

**España**

**CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS DEL MÚSCULO,  
CALIDAD DE LA CARNE Y DE LA GRASA DE CONEJOS  
SELECCIONADOS POR VELOCIDAD DE CRECIMIENTO**

**Jorge Alberto Ramírez Télles**

**2004**

**Centre de Tecnologia de la Carn**

*Unitat de Qualitat de la Canal i de la Carn*

**Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries**

**(IRTA)**

**Directoras de Tesis:**

**Dra. Maria Àngels Oliver i Pratsevall      Dra. Marta Gil i Farré**

**Departament de Ciència Animal**

**Facultat de Veterinària**

**Universitat Autònoma de Barcelona**

**(UAB)**

**Tutor de Tesis:**

**Dr. Artur Xavier Roig Sagués**

## AGRADECIMIENTOS

Al Director del Centro de Tecnología de la Carne/IRTA, Josep Maria Monfort i Bolivar por su Atención durante mi estancia en este Centro.

A las directoras de tesis Maria Àngels Oliver i Pratsevall y Marta Gil i Farré, por su Orientación, Confianza y Paciencia.

Al Programa de Mejoramiento de Profesores (PROMEP) de la Secretaría de Educación Pública (SEP), a través de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, por los tres años de beca otorgados.

Al Ing. Jaime Valle Méndez, Rector de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí y a Jorge Fernando Toro, Director de la Facultad de Ciencias Químicas por el apoyo otorgado para terminar este trabajo.

A Alma Delia Alarcón, quien me informó sobre la existencia del Centro de Tecnología de la Carne y me ofreció su ayuda para iniciar los estudios en España.

A Isabel Díaz por su ayuda en el análisis cromatográfico y Luis Guerrero por su colaboración en los análisis estadísticos.

A la Unidad 041, Alejandro Diestre, Iolanda Sardà, Idoia Gobantes, Maria Font, Marina Gispert, Agustí Quintana, Jordi Mauricio, Francesc Esteban, Toni Velarde, Albert Rosell.

A María José Bautista, por su Amistad consejos y Ayuda incondicional en la parte experimental.

A Núria Panella, por su gran Ayuda y Apoyo.

Un sincero agradecimiento a Jorge Luis Ruiz, Gilda y Jorge Eduardo; Silvina Fadda, Daniel, Candelaria, Mariano y Leandro; Flor, Alex y Alex, Jr.; Anna Maria Aymerich, Xevi, Maria, Jan; Pedro, Iratxe (y el futuro bebé) y Josep Comaposada y Helga, por su Amistad, consejos y gran ayuda en los momentos difíciles, además de abrirme las puertas de su casa y compartir gratos momentos con sus familias, recordando nuestras costumbres y lugares de origen.

A Anna Tomás Sangenis, Meritxell Roura, Xènia Mercader, Ai Jia, Isabel Barluenga, Dolors, Dani, Patrick Kohlen, Bènèdicte Marien, Catia Dias Correia y Marisa Baptista y Marta Gratacòs.

Al todo el personal del Centro de Tecnología de la Carne: Montse Pagès, Sònia Xuclà, Carmen Sánchez, Elena Avelli, Yolanda Masdeu, José Antonio García, Narcís Sais, Maria Àngels Rius, Maria Hortós, Massimo Castellari, Ángel Valero, Irene Cordón, Begoña Marcos, Mónica Palacios, Jacint Arnau, Pierre Picouet, Valeria Del Valle, Filiberto Sánchez, Narcís Grèbol, Israel Muñoz, Mireia Molins, Bernardo Guerra, Irene Carreras, Maria Dolors Guàrdia, Pere Gou, Xavi Serra y Sònia Costa, Marta Hugas, Yolanda Beltrán, Eugeni Anselmet, Jordi Serrats, José Luis Mauricio, Eva Lacaba, Anna Jofre, Mary Yébenes, Belén Martín, Quim Arbones y Carmen Rabaneda, Sra. Maria y Montse.

A Teresa Collell, Olga Roig, Ramon Reguant y Quim Matas, personal de la Escola de Capacitació Agrària de l'Empordà, por su Amistad y constante Apoyo.

De especial manera agradezco al personal de Departamento de Ciencia Animal de la Universidad Politécnica de Valencia: Agustín Blasco, Marcial Pla, Pilar Hernández, Sara Aliaga, Beatriz Ariño, Mariam Pascual, además de compartir la información necesaria, por su gran Disponibilidad, Apoyo, Confianza y Amistad que agradezco infinitamente.

A Laura Nicolás y a los compañeros de la Facultad de Veterinaria, en especial a Pilar Trespalacios, por su incondicional ayuda.

Un agradecimiento muy especial, a Maria Àngels Pellach, Ramon Monras y Mireia, quienes además de su Apoyo y Amistad, me aceptaron incondicionalmente en su casa, en la etapa final de los estudios.

A las familias: Preciado Jiménez, Jiménez del Toro, Jiménez Guerrero, Jiménez Ramírez, Ramírez Huerta, Marmolejo Alejo y a todos los Téllez.

Y a todos las personas que de alguna forma u otra intervinieron en este trabajo y escapan de mi memoria en este momento. A todos.... Gracias!

## Resumen

El objetivo principal del presente estudio fue examinar el efecto de la selección genética por velocidad de crecimiento sobre la composición bioquímica del músculo, la calidad de la carne y la grasa de conejo, comparando dos grupos de animales, uno control (Grupo C) y otro selección (Grupo S), utilizando canales a peso comercial. Los conejos empleados fueron de la línea R, pertenecientes al Departamento de Ciencia Animal de la Universitat Politècnica de València (UPV), que es una línea sintética seleccionada en base a su velocidad de crecimiento. Los grupos de animales se formaron con conejos (mitad machos y mitad hembras) de 63 días de edad. El grupo control (C) estuvo constituido por conejos de la 7a. generación de selección, los cuales nacieron de embriones congelados y conservados durante varios años en el banco de embriones del Departamento de Ciencia Animal de la UPV. Los descendientes, conejos de la 21a. generación de selección (libres de los efectos de conservación e implantación de embriones), constituyeron el grupo selección (S). Se seleccionaron una hembra y un macho de camadas con un mínimo de 6 gazapos. Estos animales se desarrollaron en paralelo con aquellos del grupo C, en las mismas condiciones de alimentación y crecimiento.

Las canales del grupo selección presentaron diferencias significativas con el grupo control ( $p < 0.001$ ) con respecto al peso, 1230.1 g y 1348.3 g, respectivamente. De igual manera, se observaron diferencias ( $P < 0.01$ ) en el contenido de la grasa escapular (6.20 y 8.64 g) y perirrenal (15.02 y 18.27g, para control y selección respectivamente).

En una primera parte del estudio se compararon las características bioquímicas del músculo *longissimus*, así como la calidad de la carne de los conejos de los dos grupos (60 animales por grupo): el porcentaje de la cadena pesada de miosina, tipo I (MHC-I), las actividades de las enzimas ICDH y Aldolasa, la capacidad de retención de agua (CRA), el color y las propiedades de textura, empleando el test de Warner-Bratzler (WB) y el Análisis del Perfil de Textura (TPA). El porcentaje de MHC-I y la actividad aldolasa fueron significativamente distintos ( $P < 0.05$ )

entre el grupo C, que mostró características oxidativas más altas (12.5% MHC-I y 597.11 UI aldolasa/g músculo), y el grupo S (9.8% MHC-I y 636.83 UI aldolasa/g músculo). Las diferencias en la CRA, expresada como el porcentaje de agua liberada por presión, fueron también significativas ( $p < 0.05$ ) entre los grupos C y S (33.29 y 35.57%). Las propiedades de textura, evaluadas por el test de Warner-Bratzler mostraron la variable conocida como Firmeza al Corte más alta ( $P < 0.001$ ) para las muestras de lomo del grupo S (1.69 kg/s·cm<sup>2</sup>) que para las muestras del grupo C (1.34 kg/s·cm<sup>2</sup>). Además, los resultados del análisis del perfil de textura (TPA) para masticabilidad, gomosidad y dureza, fueron también más altos en el grupo S ( $P < 0.01$ ), lo cual indica que la carne de los conejos de este grupo era más dura que la obtenida en el grupo control. En conjunto, los resultados confirmaron un efecto positivo de la selección sobre las características de producción y mostraron un efecto negativo sobre las características de capacidad de retención de agua y las propiedades de textura instrumentales del músculo *longissimus*.

Por otra parte, se evaluó el efecto de la selección por velocidad de crecimiento sobre la composición en ácidos grasos de la grasa intra e intermuscular de la carne de la pierna y de la grasa perirrenal. Este estudio se realizó en una submuestra de 44 conejos del grupo control y 40 del grupo selección. La composición en ácidos grasos se determinó mediante cromatografía de gases, observándose que la selección modificó la composición de algunos ácidos grasos, tanto en la carne como en la grasa perirrenal, incrementando su contenido en la mayoría de los casos. Sin embargo, los índices de ácidos grasos relacionados con la salud humana, fueron sólo ligeramente modificados por la selección genética. Los cambios en los contenidos de ácidos grasos de la carne, afectaron a los ácidos mirístico (2.24 y 2.48%, para C y S, respectivamente) palmítico (25.38 y 26.50%), cis *n*-7 palmitoleico (2.08 y 2.79%), oleico (22.52 y 23.51%), linoleico (31.41 y 29.06%) y araquidónico (2.10 y 1.77%). El cambio más relevante en los índices relacionados con la salud humana fue de un 10% de reducción de la relación

ácidos grasos Poliinsaturados:Saturados, lo cual representa menos de 1% de cambio por generación (1.06 vs. 0.95 para la grasa de la pierna procedente de animales del grupo C y S respectivamente). Los índices de ácidos grasos ( $(n-6):(n-3)$ ), disminuyeron ligeramente con la selección (Índices para grasa de la carne: 11.47 y 10.67; y en grasa perirrenal: 8.73 y 8.38, para los grupos control y selección, respectivamente). Así pues, con respecto a la composición de ácidos grasos en carne y grasa de conejo y desde el punto de vista relacionado con la salud humana, podemos concluir que la selección por velocidad de desarrollo, no disminuyó la calidad de la carne y grasa comestibles y que el cambio observado en algunos ácidos grasos sería más en beneficio de la salud.

En una tercera parte del estudio, se evaluó el efecto de la selección por velocidad de crecimiento sobre la degradación de las proteínas miofibrilares y las propiedades de textura del músculo *longissimus* de conejo, a dos tiempos de maduración (24 horas y 7 días), así como su efecto sobre el potencial proteolítico del músculo. Se utilizaron los mismos dos grupos (C y S), con un tamaño de muestra de 20 conejos cada uno. La degradación miofibrilar se analizó mediante el empleo de la técnica de electroforesis en geles de poliacrilamida en condiciones desnaturalizantes (SDS-PAGE), seguidas del análisis de los geles por densitometría; las propiedades de textura se evaluaron por los métodos de Warner-Bratzler y el Análisis del Perfil de Textura. Las actividades proteolíticas de las enzimas calpaínas y catepsinas y sus inhibidores fueron determinadas en el músculo a 24 horas. En el análisis densitométrico de los ferogramas de las muestras maduradas 7 días, con respecto a las maduradas 24 h, se observó la aparición de una banda extra, de aproximadamente 30 KDa y paralelamente la desaparición de una banda de más alto peso molecular que las cadenas pesadas de miosina. Los resultados de TPA mostraron que la cohesividad fue significativamente más baja en la carne a 7 días que en las muestras a 24 horas ( $p < 0.0001$ ), así como la elasticidad y masticabilidad, las cuales también mostraron presentaron una clara tendencia a ser mas bajas a 7 días que a 24 horas

( $p = 0.0646$  y  $p = 0.0764$ , respectivamente). La selección por velocidad de crecimiento no afectó a la actividad de las enzimas proteolíticas y sus inhibidores. En las condiciones del presente estudio se demostró pues que la selección genética por velocidad de crecimiento no afectó al patrón de degradación de las miofibrillas del músculo *longissimus* de conejo entre 24 horas y 7 días *post-mortem* estudiadas por SDS-PAGE y densitometría. Algunas propiedades de textura de la carne difirieron en los dos tiempos de maduración estudiados, mostrando una disminución significativa ( $p < 0.001$ ) en la cohesividad y una tendencia a disminuir de la elasticidad y masticabilidad entre las 24 horas y los 7 días, indicando que la carne era más tierna. El potencial proteolítico (actividades de las cisteinproteinasas y sus inhibidores) del músculo fue independiente de la velocidad de desarrollo de los conejos.



## Summary

The main objective of the present work was to study the effect of selection for growth rate on the biochemical composition of the muscle and the quality of the meat and fat of the rabbit by comparing two groups of animals, one control (Group C) and the other selection (Group S), using carcasses of commercial weight. The rabbits used proceeded from the R line, from the Department of Animal Science of the Universitat Politècnica of València (UPV), a synthetic line selected on the basis of its growth rate. The animal groups were formed by rabbits (50% males and 50% females) of 63 days of age. The control group (C) was made up of 7th. generation selected rabbits, which were born from frozen embryos conserved for several years in the embryo bank of the Department of Animal Science of the UPV. The descendants, 21<sup>st</sup> generation selected rabbits (unaffected by embryo conservation and implantation), constituted the selection group (S). A male and female were selected from litters with a minimum of 6 young. These animals developed together with those of group C, under the same conditions of growth and feeding. The carcasses of the selection group differed significantly from those of the control group ( $p < 0.001$ ) with regards to weight,  $1230.1 \pm 19.8$  g and  $1348.3 \pm 20.1$  g, respectively. Likewise, differences ( $P < 0.01$ ) were observed in the scapular fat (6.20 and 8.64g) and perirrenal fat content (15.02 and 18.27g for control and selection respectively).

In the first part of the study the biochemical characteristics of the *longissimus* muscle were compared, as well as the meat quality from the two groups of rabbits (60 animals per group): the percentage of the type I myosin heavy chain (MHC-I) in the muscle, the activities of the enzymes ICDH and aldolase, the water holding capacity (WHC), the colour and textural properties, applying the Warner-Bratzler (WB) test and the Texture Profile Analysis (TPA). The percentage of MHC-I and aldolase activity, were also significantly different ( $P < 0.05$ ) between group C, which showed higher oxidative characteristics (12.5% MHC-I and 597.11 UI aldolase/g muscle), and group S (9.8% MHC-I and 636.83 UI aldolase/g muscle).

The differences in the WHC, expressed as the percentage of pressure released water, were significant ( $p < 0.05$ ) between groups C and S (33.29 and 35.57%). The textural properties, evaluated by the Warner-Bratzler test, showed higher values for the variable known as Shear Firmness ( $P < 0.001$ ) for the loin samples of group S (1.69 kg/s·cm<sup>2</sup>) than for the samples of group C (1.34 kg/s·cm<sup>2</sup>). Furthermore, the Texture Profile Analysis (TPA) results for Chewiness, Springiness and Hardness were also higher in group S ( $P < 0.01$ ), which indicates that the meat from the rabbits in this group was harder than that obtained from the control group. On the whole the results confirmed a positive effect of selection for production characteristics and showed a negative effect for the muscle water holding capacity and the textural properties of the *longissimus* muscle.

Additionally, the effect of selection for growth rate on the composition of the fatty acids of intra and inter muscular leg meat and the perirrenal fat was also evaluated. This study was carried out on a subsample of 44 rabbits from the control group and 40 from the selection group. The composition in fatty acids was determined by gas chromatography, and it was observed that the selection modified the composition of some fatty acids, both in the meat as well as in the perirrenal fat, increasing its content in most cases. However, the indices of fatty acids related to human health were only slightly modified by genetic selection. The changes in the fatty acids content of the meat affected the myristic (2.24 and 2.48% for C and S, respectively) palmitic (25.38 and 26.50%), cis *n*-7 palmitoleic (2.08 and 2.79%), oleic (22.52 and 23.51%), linoleic (31.41 and 29.06%) and arachidonic (2.10 and 1.77%) acids. The most relevant changes in the indices related to human health were of a 10% reduction in the ratio of Polyunsaturated: Saturated fatty acids, which represents a change of less than 1% per generation (1.06 vs. 0.95 for leg fat from animals of group C and S respectively). The fatty acid indices (*n*-6):(i>n-3), decreased slightly with the selection (indices for meat fat: 11.47 and 10.67; and for perirrenal fat: 8.73 and 8.38, for the control and selection groups respectively). Therefore, with regards to the fatty acid composition in

rabbit meat and fat, and from the perspective of human health, it can be concluded that selection for growth rate did not diminish the quality of edible meat and fat, and that the alteration observed in some fatty acids would be beneficial for the health.

In a third part of the study the effect of selection for growth rate on myofibrillar protein degradation and the textural properties of rabbit *longissimus* muscle at two ageing times (24 hours and 7 days) was studied, as well as its effect on the proteolytic potential of the muscle. The same two groups (C and S) were used, with a sample size of 20 rabbits each. Myofibrillar degradation was analysed by applying the technique of electrophoresis in polyacrilamide gels under denaturalising conditions (SDS-PAGE), followed by densitometric analysis of the gels; the textural properties were evaluated by the Warner-Bratzler test and Texture Profile Analysis. The proteolytic activities of the calpain and cathepsin enzymes and of their inhibitors were determined in the muscle at 24 hours. The densitometric analysis of the 7-day aged samples showed an extra band of approximately 30 Kda in comparison with the 24-hour aged samples, together with the disappearance of a band with a higher molecular weight than the myosin heavy chains. The TPA results showed that Cohesiveness was significantly lower in meat at 7 days than in the 24-hour samples ( $p < 0.0001$ ), whereas Springiness and Chewiness presented a marked tendency to be lower at 7 days than at 24 hours ( $p = 0.0646$  and  $p = 0.0764$ , respectively). Selection for growth rate did not affect the activities of proteolytic enzymes or their inhibitors. It has therefore been shown, under the conditions of the present study, that genetic selection for growth rate did not affect the pattern of myofibrillar degradation of the rabbit *longissimus* muscle between 24 hours and 7 days *post-mortem* as studied by SDS-PAGE and densitometry. Some textural properties of the meat differed in the two ageing periods studied, showing a significant reduction ( $p < 0.001$ ) in the Cohesiveness and a tendency towards decreasing Springiness and Chewiness between 24 hours and 7 days, indicating that the meat was more tender. The proteolytic potential

(activities of the cysteinproteinases and their inhibitors) of the muscle was independent of the rabbits' growth rate.

## PRÓLOGO

Esta tesis se enmarca en el objetivo específico 2.3 del experimento 2 correspondiente al proyecto: “*Genética de los componentes del tamaño de camada y los caracteres de crecimiento, canal y calidad de carne del conejo*” aprobado por la CICYT No. AGF98-0382-CO2-02 con los siguientes objetivos generales:

### **Experimento 1. Selección por capacidad uterina y efecto de la selección sobre las componentes del tamaño de camada.**

Estudiar los efectos genéticos del embrión y los efectos genéticos de la madre sobre el carácter capacidad uterina.

Estudiar la relación entre capacidad uterina y factores que intervienen en la gestación. Detección de QTL's relacionados con la eficiencia uterina.

### **Experimento 2. Selección por velocidad de crecimiento y efecto de la selección sobre la calidad de la canal y de la carne.**

2.1. El efecto de la selección por velocidad de crecimiento sobre la curva de crecimiento en peso vivo.

2.2. El efecto de la selección por velocidad de crecimiento sobre la composición corporal y la evolución de los tejidos.

2.3. *El efecto de la selección por velocidad de crecimiento sobre la calidad de la carne*

## ÍNDICE GENERAL

Resumen.....	<i>i</i>
Summary.....	<i>v</i>
Prólogo.....	<i>ix</i>
Índice General.....	<i>xi</i>
Índice de Figuras.....	<i>xv</i>
Índice de Tablas.....	<i>xvii</i>
Abreviaturas utilizadas.....	<i>xx</i>
Publicaciones.....	<i>xxiii</i>
<b>1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>3</b>
1.1. Introducción.....	3
1.1.1. Historia y consumo de carne de conejo.....	3
1.2. El músculo esquelético.....	4
1.2.1. Fibras musculares.....	6
1.2.2. La molécula de miosina.....	6
1.2.3. Tipos de músculos y fibras musculares.....	8
1.2.4. El tejido conectivo.....	15
1.2.4.1. El Colágeno.....	16
1.3. Lípidos de la carne y grasa de conejo.....	18
1.3.1. Clasificación y composición de la grasa muscular.....	18
1.3.1.1. Lípidos Intramusculares.....	19
1.3.2. Principales ácidos grasos.....	21
1.3.3. Factores que influyen en la composición de la grasa de la carne.....	22
1.3.3.1. Especie.....	22
1.3.3.2. Dieta.....	23
1.3.3.3. Genética, ambiente y sexo.....	26
1.4. Composición y calidad nutritiva de la carne.....	27
1.5. Características de calidad de la carne.....	31

1.5.1. pH.....	31
1.5.2. Capacidad de retención de agua (CRA).....	33
1.5.3. Color.....	35
1.5.4. Propiedades de Textura.....	39
1.5.4.1. Test de Warner-Bratzler.....	41
1.5.4.2. Análisis del Perfil de Textura.....	44
1.5.4.3. Maduración de la carne.....	47
1.5.4.3.1. Proteinasas musculares.....	48
1.5.4.3.2. Principales cambios en la estructura miofibrilar.....	50
1.5.4.3.3. Otros factores que influyen en la ternura.....	51
1.6. Bibliografía.....	54
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>79</b>
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>83</b>
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>87</b>
<b>CAPÍTULO I: Effect of selection for growth rate on biochemical, quality and texture characteristics of meat from rabbits.....</b>	<b>89</b>
4.1.1. Abstract.....	91
4.1.2. Introduction.....	92
4.1.3. Materials and Methods.....	93
4.1.3.1. Animals.....	93
4.1.3.2. Diet.....	94
4.1.3.3. Sampling on the <i>longissimus thoracis</i> and <i>lumborum</i> .....	94
4.1.3.4. Colour measurements.....	95
4.1.3.5. Meat quality and biochemical traits.....	95
4.1.3.5.1. pH.....	95
4.1.3.5.2. Water holding capacity.....	95

---

4.1.3.5.3. Slow myosin heavy chain .....	96
4.1.3.5.4. Enzymatic analysis.....	97
4.1.3.6. Texture measurements .....	97
4.1.3.7. Statistical analysis.....	98
4.1.4. Results and Discussion.....	98
4.1.4.1. Carcass and meat traits.....	98
4.1.4.2. Texture properties .....	101
4.1.4.3. Relationship between carcass, meat quality, texture and biochemical traits in the control and selection groups of rabbits .....	101
4.1.5. Acknowledgements.....	102
4.1.6. References.....	103
 <b>CAPÍTULO II: The effect of selection for growth rate on fatty acid composition of meat and perirenal fat of rabbits.....</b>	
4.2.1. Abstract.....	115
4.2.2. Introduction.....	116
4.2.3. Materials and Methods.....	116
4.2.3.1. Animals.....	117
4.2.3.2. Fatty acid composition.....	117
4.2.3.3. Statistical analysis.....	119
4.2.4. Results and discussion.....	119
4.2.4.1. Effect of selection on fatty acid composition of the hind leg meat.....	119
4.2.4.2. Fatty acid composition in perirenal fat.....	120
4.2.4.3. Indices related with human health.....	120
4.2.5. Acknowledgements.....	122
4.2.6. References.....	122



<b>CAPÍTULO III: Myofibrillar degradation and texture properties of <i>longissimus thoracis</i> muscle at 24h and 7 days after slaughter in two groups of rabbits selected for growth rate</b> .....	131
4.3.1. Abstract.....	133
4.3.2. Introduction.....	134
4.3.3. Material and Methods.....	135
4.3.3.1. Animals.....	135
4.3.3.2. Sampling.....	135
4.3.3.3. Myofibrils preparation.....	136
4.3.3.4. Electrophoresis in denaturing conditions.....	136
4.3.3.5. Assays of calpains and calpastatin.....	137
4.3.3.6. Assays of cathepsin activities.....	138
4.3.3.7. Assay of cysteine proteinase inhibitors activity.....	138
4.3.3.8. Texture analysis.....	139
4.3.3.9. Statistical analysis.....	139
4.3.4. Results and discussion.....	140
4.3.4.1. Myofibrillar degradation.....	140
4.3.4.2. Muscle proteolytic potential.....	141
4.3.4.3. Textural properties.....	143
4.3.4.4. Relations between variables.....	144
4.3.5. Conclusions.....	145
4.3.6. Acknowledgements.....	145
4.3.7. References.....	145
<b>5. DISCUSIÓN GENERAL</b> .....	157
<b>6. CONCLUSIONES</b> .....	177

## ÍNDICE DE FIGURAS

### 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Figura 1.1. Sección transversal del músculo <i>semimembranosus</i> de conejo, mostrando la distribución del tejido conectivo en epimisio (e) y perimisio (p).....	5
Figura 1.2. Modelo de estructura de la molécula de miosina mostrando la localización de los sitios activos de las enzimas papaína y tripsina .....	7
Figura 1.3. Comportamiento del Incremento en la CRA durante la variación del pH de la carne.....	34
Figura 1.4. Espacio del color en la escala CIE $L^*$ $a^*$ $b^*$ y sus coordenadas cilíndricas $C^*$ y $H^\circ$ .....	36
Figura 1.5. Dispositivo para el ensayo de Warner-Bratzler .....	41
Figura 1.6. Gráfico representando los valores obtenidos en el test de Warner-Bratzler .....	42
Figura 1.7. Cilindro y placa para Análisis de Perfil de Textura (TPA)....	44
Figura 1.8. Gráfico representativo de una prueba de TPA mostrando las áreas empleadas para la determinación de las propiedades de textura.....	45

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

Figura 3.1. Esquema de muestreo y diseño experimental e integración de los capítulos obtenidos de los experimentos.....	86
---	----

### 4. RESULTADOS

Figure 4.1.1 Principal Component analysis of carcass and meat quality and biochemical parameters .....	108
--	-----

### **CAPITULO III**

Figure 4.3.1. SDS-Page of rabbit myofibrils from groups C and S in Phast Gels	
(a) Phast Gel Homogeneous 12.5% .....	152
(b) Phast Gel Gradient 4-15% .....	152
Figure 4.3.2. Principal component analysis for variables measured at 24 hours <i>post-mortem</i> .....	153

## ÍNDICE DE TABLAS

### 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Tabla 1.1	Clasificación de las fibras musculares de acuerdo a sus propiedades y diferentes autores.....	9
Tabla 1.2.	Esquema comparativo de los tipos y características de fibras musculares.....	12
Tabla 1.3.	Frecuencia de fibras tipo I en músculo <i>longissimus</i> de vacuno, porcino y conejo.....	13
Tabla 1.4.	Variación del contenido de fibras del músculo <i>longissimus</i> en diferentes razas de conejos .....	14
Tabla 1.5.	Variación del porcentaje de tipos de fibras en diferentes músculos de conejo con respecto a la edad .....	14
Tabla 1.6.	Composición de fibras musculares en diferentes zonas del músculo <i>longissimus</i> de conejo.....	15
Tabla 1.7.	Contenido de colágeno total y soluble, en diferentes especies de acuerdo a varios autores .....	17
Tabla 1.8.	Relación de la edad y el contenido de colágeno en músculo <i>longissimus lumborum</i> de conejo .....	18
Tabla 1.9.	Contenido de grasa intramuscular en cuatro piezas anatómicas de canales de conejo a diferentes pesos.....	20
Tabla 1.10.	Valores medios de la composición en % de ácidos grasos totales y colesterol (en mg/100g de fracción comestible) en carnes de diferentes especies.....	24
Tabla 1.11.	Composición química y valores de energía de carnes de diferentes especies (en 100 g de fracción comestible).....	28
Tabla 1.12.	Cambios en la composición química (%) en la carne de la pierna, de acuerdo a la edad, en conejos Neo Zelandeces)....	28

Tabla 1.13. Mecanismos Potenciales por los que los ácidos grasos Omega-3 pueden reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares.....	30
Tabla 1.14. Pérdida de agua (%) por cocción (asado) de carne de conejo de acuerdo a la edad y contenido de grasa.....	35
Tabla 1.15. Parámetros de color medidos en la superficie de la canal en diferentes músculos.....	38
Tabla 1.16. Definiciones y análisis dimensional de los parámetros del test de Warner-Bratzler.....	41
Tabla 1.17. Resultados de Fuerza Máxima (Shear force), por el método de Warner-Bratzler, en músculo <i>longissimus</i> de diferentes especies, de acuerdo a varios autores y a diferentes condiciones de cocción .....	43
Tabla 1.18. Valores de las variables del test de WB, en músculo <i>longissimus</i> en canales de conejo a diferente peso.....	44
Tabla 1.19. Descripción de los parámetros de textura obtenidos mediante el test TPA.....	46
Tabla 1.20. Principales proteinasas del músculo y sus características.....	48

## 4. RESULTADOS

### CAPÍTULO I

Table 1. Least squares means and standard error of carcass traits of rabbits selected by growth rate.....	109
Table 2. Least squares means and standard error of meat quality and biochemical traits of <i>longissimus thoracis and lumborum</i> of rabbits selected by growth rate.....	110
Table 3. Least squares means and standard error of texture variables by Warner-Bratzler Method and Texture Profile Analysis of rabbits selected by growth rate.....	111

**CAPÍTULO II**

Table 1.	Least square means and standard errors of fatty acids content in the hind leg meat (mg/100g of meat).....	124
Table 2.	Least square means and standard errors of relative percentage of total fatty acids in rabbit hind leg meat.....	125
Table 3.	Least square means and standard errors of relative percentage of total fatty acids in rabbit perirenal fat.....	126
Table 4.	Least square means and standard errors of indices related to human health in rabbit hind leg meat.....	127
Table 5.	Least square means and standard errors of fatty acids indices of perirenal rabbit fat related with human health.....	128

**CAPÍTULO III**

Table 1.	Means and standard errors (SE) of cathepsins and their inhibitors (n=40) and of calpains and calpastatin (n=12) (Units/g) of <i>longissimus</i> muscle from rabbits selected for growth rate.....	154
Table 2.	Least squares means and standard errors of textural properties by Warner-Bratzler test and Texture Profile Analysis of <i>longissimus</i> muscle from rabbits selected for growth rate.....	155
Table 3.	Least squares means and standard errors of textural properties by Warner-Bratzler test and Texture Profile Analysis of <i>longissimus</i> rabbit muscle at 24 h and 7 days <i>post-mortem</i> .....	156

**ABREVIATURAS UTILIZADAS**

$\alpha$ R	fibra muscular $\alpha$ -roja, de contracción rápida y oxidativa-glicolítica
$\alpha$ W	fibra muscular $\alpha$ -blanca, de contracción rápida y glicolítica
$\beta$ R	fibra muscular $\beta$ -roja de contracción lenta y oxidativa
$\lambda$	longitud de onda
$\mu$ g	microgramo
$\mu$ mol	micromol
$a^*$	componente roja de las variables de color CIE ( $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ )
AGS	ácidos grasos saturados
AGM	ácidos grasos monoinsaturados
AGP	ácidos grasos poliinsaturados
$b^*$	componente amarilla de las variables de color CIE ( $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ )
BSA	<i>bovine serum albumin</i> (albúmina suero bovino)
C*	Chroma
CIE	<i>Comisión Internationale de l'Eclairage</i>
CIELAB	espacio de color CIE $L^*$ , $a^*$ , $b^*$
CRA	capacidad de retención de agua
CV	coeficiente de variación
D <sub>65</sub>	iluminante estándar de la <i>Comisión Internationale de l'Eclairage</i>
DE	desviación estándar
DO	densidad óptica o absorbancia
DTNB	sulfhidrido 5, 5'-dithyobis 2-nitrobenzoic acid
DTT	ditiotretiol
EDTA	ácido etilendiamino tetracético
EGTA	ácido etilen glicol – bis (amino-etil-éter)-tetracético
ELISA	<i>Enzyme linked immunosorbent assay</i> (Ensayo de Inmunosorbente con Enzima Ligada)
<i>et al.</i>	y colaboradores
fibra tipo II	fibra muscular de contracción rápida
fibra tipo IIA	fibra muscular de contracción rápida y oxidativa-glicolítica
fibra tipo IIB	fibra muscular de contracción rápida glicolítica
fibra tipo IIC	fibra muscular intermedia entre I y IIA
FG	<i>fast twitch glycolytic</i> (músculo o fibra muscular de contracción rápida y metabolismo glicolítico).
FOG	<i>fast twitch oxidative-glycolytic</i> (músculo o fibra muscular de contracción rápida y metabolismo oxidativo-glicolítico)
$g$	aceleración de la gravedad ( $\cong 9.8 \text{ m/seg}^2$ )
H°	ángulo <i>Hue</i> , matíz o tono del color
ICDH	isocitrato deshidrogenasa
HCl	ácido clorhídrico
HDL	<i>High Density Lipoproteins</i> (Lipoproteínas de alta densidad)
HMM	<i>High Molecular Myosin</i> (Miosina de alto peso molecular)
KCl	cloruro de potasio
$L^*$	luminosidad o claridad del color CIE ( $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ )

<i>l.</i>	músculo <i>longissimus</i>
LD	músculo <i>longissimus dorsi</i>
LDL	<i>Low density lipoproteins</i> (Lipoproteínas de baja densidad)
LMM	<i>Low Molecular Myosin</i> (Miosina de bajo peso molecular)
LT	músculo <i>longissimus thoracis</i>
LTL	músculo <i>longissimus thoracis y lumborum</i>
M.	músculo
MHC	<i>myosin heavy chain</i> (cadena pesada de miosina)
MHC-I	isoforma I de la cadena pesada de miosina
MLC	<i>myosin light chain</i> (cadena ligera de miosina)
mOsmol	Cantidad de una sustancia que disociada en solución forma un mol de partículas osmóticamente activas.
ms	milisegundos
MUFA ó M	<i>mono-unsaturated fatty acids</i> (ácidos grasos monoinsaturados)
n	número de observaciones
p	probabilidad
pH <sub>24</sub>	pH a 24 horas <i>post mortem</i>
pHu	pH último
PRW	<i>Press release water</i> (agua liberada por presión)
PUFA ó P	<i>polyunsaturated fatty acids</i> (ácidos grasos poliinsaturados)
rpm	revoluciones por minuto
SFA ó S	<i>saturated fatty acids</i> (ácidos grasos saturados)
SO	<i>slow twitch oxidative</i> (músculo o fibra muscular de contracción lenta y metabolismo oxidativo).
SDS	<i>sodium dodecyl sulphate</i> (Dodecil sulfato de sodio)
PAGE	<i>polyacrylamide gel electrophoresis</i> (Gel de Poliacrilamida para electroforesis)
TN-C	fracción C de la Troponina
Tris	tris (hidroximetil)- aminometano
UI	unidades internacionales





## PUBLICACIONES

### Revistas Científicas

**J. A. Ramírez;** M. Àngels Oliver; Marcial Pla; Luis Guerrero; Beatriz Ariño; Agustín Blasco; Mariam Pascual and Marta Gil. (2004). **Effect of selection for growth rate on biochemical, quality and texture characteristics of meat from rabbits.** *Meat Science*, Vol. 67, pp. 617-624.

**J. A. Ramírez,** Isabel Díaz, Marcial Pla, Marta Gil, Agustín Blasco and Maria Àngels Oliver (2004). **Fatty acid composition of leg meat and perirenal fat of rabbits selected by growth rate.** *Food Chemistry*.

*En prensa*

Marta Gil, **Jorge A. Ramírez,** Marcial Pla; Beatriz Ariño, Pilar Hernández, Mariam Pascual, Agustín Blasco, Luis Guerrero, Gyöngyi Hajós, Emöke N. Szerdahelyi and Maria Àngels Oliver (2004). **Effect of selection for growth rate on the ageing of myofibrils, the meat texture properties and the muscle proteolytic potential of longissimus from two groups of rabbits.** *Meat Science*

*Enviado*

Hernández, P., Guerrero, L., **Ramírez, J. A.,** Ariño, B., Blasco, A. (2004). **Bayesian analysis of selected for growth rate.** *Meat Science*.

*En prensa*

### Comunicaciones a congresos

Hernández, P., Guerrero, L., **Ramírez, J. A.,** Ariño, B., Blasco, A. (2003). **Efecto de la selección por velocidad de crecimiento sobre la calidad sensorial de la carne de conejo.** Foro *Información Técnica Económica Agraria* (ITEA) Zaragoza, España. 24, Tomo I, 256-258.

**J. A. Ramirez,** E. Esteve-García, M. A. Oliver, I. Gobantes and J. Polo (2002). **Effect of feeding heme-iron on the quality of boar pork meat.** En: Proceedings of the 48th. ICoMST, Roma.



# **1. Revisión Bibliográfica**

## 1.1. Introducción

### 1.1.1. Historia y consumo de carne de conejo

En Europa el consumo de carne de conejo es tradicional sobre todo en la zona del Mediterráneo y se remonta al año 1000 *a. de c.*, cuando los Fenicios descubrieron conejos salvajes en España y en el Norte de África, de donde los Romanos los introdujeron en sus dominios. En Francia el consumo de carne de conejo llegó a ser privilegio de los señores feudales. En el siglo XVI comenzó la crianza de conejos en el Viejo Continente, desde donde se llevó a Australia y Nueva Zelanda durante la expansión colonial y hasta el siglo XIX se convirtió en una actividad practicada por la mayor parte de los Europeos, tanto del medio rural como en las ciudades (FAO, 2001). Actualmente la carne de conejo es apreciada en la mayoría de los países Mediterráneos y en el año 2003 el volumen de la producción mundial de conejos fue de 1 067 948 toneladas, siendo China el principal productor con 425 000 toneladas, seguida por Italia con 222 000 toneladas y España con 115 000 toneladas (FAO-STAT, 2003). En cuanto a su consumo, Malta registra los valores más altos con 8.89 kg/año *per capita*, seguida de Italia (5.71 kg/año), Chipre (4.37 kg/año) y Francia (2.76 kg/año). La ciudad de Nápoles, en el sur de Italia, tiene fama de ser la mayor consumidora de carne de conejo en el mundo con unos 15 kg/año *per capita*, mientras que en los países árabes, Egipto ocupa el primer lugar en el consumo (1.5 kg /año) (Antonios, 1999). En el año 2000 el consumo de carne de conejo promedio de España fue de 1.38 kg *per capita*, siendo La Rioja (3.15 kg/año), Cataluña (2.7 kg/año), Navarra (2.32 kg/año), Aragón (2.24 kg/año) y Valencia (2.28 kg/año), las principales regiones donde se consume (MAPA, 2000).

Debido a las características de su producción, la crianza de conejos podría ser la respuesta a los problemas de hambre, desnutrición y pobreza rural en los países en desarrollo (Antonios, 1999; Maretzki & Mills, 2003), ya que una coneja reproductora puede producir más de 80 kg de carne por año (FAO,

2001). Sin embargo, hay algunos problemas para la difusión global de su crianza, entre los que destacan la falta de preparación de los responsables de la producción, así como algunas enfermedades que pueden tener efectos devastadores. A pesar de lo anterior, el consumo de la carne de conejo tiende a aumentar de forma general, aunque en algunos países este incremento depende, en gran medida, de las costumbres, tradiciones, cultura y religión (FAO, 1999). En los últimos años, la carne como alimento ha sido objeto de fuertes críticas, debidas principalmente, al impacto de los sistemas de producción sobre el bienestar animal, el medio ambiente y la salud (Dalle Zotte, 2002; Rhee, 1992; Gil *et al.*, 2001), por lo que los hábitos, en cuanto al consumo de carne de conejo, están cambiando aún en países en donde no se consume tradicionalmente, debido entre otros factores, a la demanda de carne con mejores características nutricionales. Esto puede representar, potencialmente, la oportunidad para aumentar el consumo de este tipo de carne como un alimento sano (Bielanski, 2000; Dalle Zote, 2002; Griffiths & Gandemer, 1989; Parigi Bini *et al.* 1992; Ulbritch, 1991).

## 1.2. El músculo esquelético

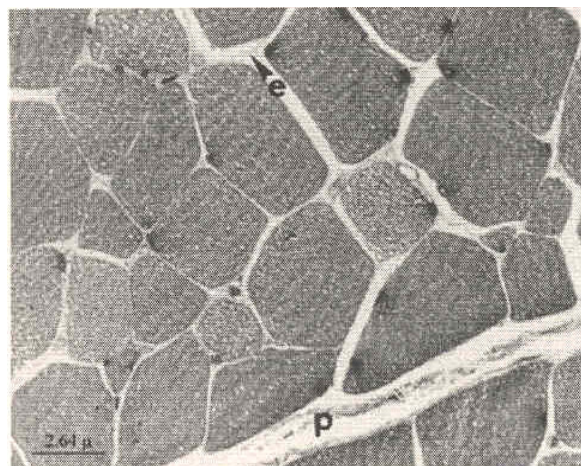
El tejido muscular puede clasificarse en tres tipos fundamentales: músculo liso, músculo cardíaco y músculo estriado o esquelético.

El músculo liso (o músculo blanco) se localiza en el tracto digestivo y es de gran importancia en los procesos de la digestión y la absorción de nutrientes. También se encuentra como parte estructural de las venas y vasos sanguíneos. Una de las características principales de las fibras musculares blancas es que son de movimiento involuntario y no presentan estrías al microscopio a diferencia de las fibras cardíacas y musculares (Pearson & Young, 1989).

El músculo cardíaco es involuntario y se encuentra principalmente en el tejido muscular del corazón y en algunas de las venas donde se requiere presión para el movimiento de la sangre. Las fibras musculares cardíacas son de diámetro más pequeño y más cortas que las fibras musculares (Pearson & Young, 1989).

El músculo estriado o esquelético se llama así, debido a que al microscopio se observa una estructura estriada distribuida regularmente a lo largo de las fibras musculares, las cuales son las unidades celulares del músculo. Los músculos esqueléticos están compuestos de haces de fibras musculares envueltas en tejido conectivo. Su principal componente es la célula muscular o fibra muscular; sin embargo, hay otros tipos de células incluidas en el músculo, tales como las vasculares, conectivas, adiposas y del tejido nervioso que están constituidas predominantemente por colágeno. Las fibras musculares individuales también están rodeadas por tejido conectivo llamado endomisio, el cual forma una red de tejido conectivo que va de la superficie de la célula muscular al epimisio (Figura 1.1). Se encuentran agrupadas en haces, que están rodeados por una capa de tejido conectivo, el perimisio, de forma que pequeños haces de fibras se agrupan en haces más grandes, que a su vez forman el músculo. El sistema vascular y los nervios se localizan entre los haces musculares, aunque los capilares y nervios terminales se encuentran en la capa del endomisio. La mayoría de los músculos se unen a los huesos mediante los tendones, situados generalmente en los extremos del músculo.

Figura 1.1. Sección transversal del músculo semimembranosus de conejo, mostrando la distribución del tejido conectivo en epimisio (e) y perimisio (p) (Sotelo *et al.*, 2004).



### 1.2.1. Fibras musculares

La fibra muscular es la unidad contráctil del músculo esquelético. Su longitud puede variar de varios milímetros a 30 cm (Lockhart, 1972), es multinucleada y su diámetro oscila entre 10 y 100  $\mu\text{m}$ . El diámetro de las células individuales varía a través de su longitud siendo frecuentemente más pequeño en las partes terminales. La especie, raza (Lefaucheur & Gerrard, 1998), sexo, edad, tipo de músculo, ejercicio y estado nutricional son algunos factores que afectan el diámetro de la fibra (Karlsson *et al.*, 1999). Las fibras musculares pueden extenderse a lo largo de los músculos pequeños, aunque en animales grandes, generalmente se extienden solo en una fracción de la longitud del músculo. Pueden distribuirse paralelamente a la longitud muscular, pero a menudo se distribuyen en ángulo. Las miofibrillas constituyen la unidad fundamental de la fibra muscular, de estructura muy larga y filiforme y con un diámetro de unas dos micras, se encuentran a lo largo de los elementos contráctiles dentro de la célula muscular e incluidas en la matriz proteica y gelatinosa denominada citoplasma celular o sarcoplasma, donde se encuentran las vitaminas, enzimas y mioglobina, dentro de las fibras. Las miofibrillas están cubiertas por una delgada membrana no transparente denominada sarcolema. En cada fibra muscular de 60  $\mu\text{m}$  de diámetro hay cerca de 2000 miofibrillas de 0.1  $\mu\text{m}$  de diámetro (Bailey, 1972).

### 1.2.2. La molécula de miosina

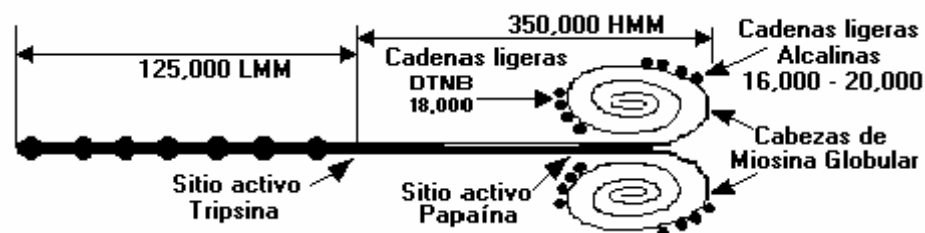
La miosina es una proteína fibrosa de importancia fundamental en la contracción muscular, en combinación con la actina utilizando la hidrólisis del ATP como combustible. La cantidad de miosina varía considerablemente en los diferentes tejidos; por un lado, en el músculo estriado la miosina es la proteína más abundante, constituyendo el 30% del total de la proteína de las fibras musculares. Por otro lado, la miosina está presente solo en pequeñas cantidades en células no relacionadas con el movimiento. Las cadenas de miosina pesada (MHC) tienen un peso molecular de 222 000 Dalton. Son las



principales proteínas estructurales de los filamentos gruesos, que están asociadas con la generación de energía necesaria para la contracción del músculo y son las que determinan la velocidad de contracción (Lefaucheur & Gerrard, 1998). Se han encontrado nueve isoformas de MHC, cada una codificada por un gen distinto y con actividad ATPasa propia, localizada en la región de la cabeza de la molécula. Las cadenas ligeras de miosina en músculo esquelético de conejo tienen un peso molecular aproximado de 18 000 Dalton (Pearson & Young, 1989). En la figura 1.2 se muestra un modelo de miosina con la ubicación de los centros donde la molécula es susceptible de proteólisis por las enzimas tripsina y papaína, así como las diferentes cadenas ligeras de miosina aisladas por hidrólisis alcalina y por tratamiento con DTNB (sulfhidrido 5, 5'-dithyobis 2-nitrobenzoic acid ó DTNB).

La mayoría de estudios bioquímicos relacionados con fibras han utilizado la miosina como referencia debido a su alto contenido y gran disponibilidad en el músculo estriado de vertebrados (Knight & Trinick, 1987) y a su influencia sobre las características de calidad de la carne (Valin *et al.*, 1982).

Figura 1.2. Modelo de estructura de la molécula de miosina mostrando la localización de los sitios activos de las enzimas papaína y tripsina. (Adaptado de: King, 2003)



### 1.2.3. Tipos de músculos y fibras musculares.

Los diferentes tipos de músculos difieren en su aspecto por su color (rojo y blanco), tonalidad (oscuro y claro), granularidad (alta y baja) cantidad de citoplasma (rica y pobre) y algunas diferencias subcelulares que sólo pueden observarse al microscopio electrónico (ej. Amplitud de la línea Z y número de mitocondrias). Estas diferencias dependen de la composición en fibras del músculo. Ranvier (1873), Needham (1926) y Denny Brown (1929) propusieron las clasificaciones más antiguas basadas en el color (rojo y/o blanco) del músculo, el cual se relaciona directamente con la concentración de mioglobina y el suministro sanguíneo del músculo. La carne de pollo es un ejemplo claro de esta clasificación, ya que puede observarse la diferencia entre el color de la carne de la pierna (músculo rojo) y la pechuga (músculo blanco). Lo anterior no significa que la pechuga de pollo no tenga fibras rojas, sino que sus músculos preponderantemente están formados por fibras blancas y por lo tanto contienen baja cantidad de mioglobina (Pearson & Young, 1989).

Por otro lado, la diferencia más comúnmente reconocida en el comportamiento fisiológico de los músculos es su velocidad de contracción; sobre esta base, los músculos han sido clasificados de acuerdo al tipo de actividad que realizan como músculos de contracción lenta o contracción rápida, y mediante el uso de diferentes técnicas (bioquímicas, histoquímicas e inmunohistoquímicas), se ha logrado clasificar las fibras que los constituyen de acuerdo a sus propiedades. La clasificación más empleada se basa en el color, al igual que los músculos (rojas, blancas e intermedias). En la Tabla 1.1 se describen las clasificaciones de los diferentes tipos fibras. Cabe aclarar que los sistemas de clasificación de acuerdo a la actividad ATP-asa miofibrilar [Tipos I, IIA, IIB (y IIC) de Brooke y Kaiser (1970a) y los tipos SO, FOG y FG (Peter *et al.*, 1972)], no son equivalentes, aunque haya cierta similitud entre ellos, los tipos I y las SO no coinciden exactamente, así como tampoco las fibras FG y FOG, coinciden exactamente con ninguno de los tipos IIA, IIB ó IIC (Pette & Staron, 1990). Las fibras rojas son fibras lentas que abundan en los músculos rojos, son de

diámetro pequeño y contienen gran cantidad de mioglobina y numerosas mitocondrias, que se disponen en filas entre las miofibrillas y en acúmulos por debajo del sarcolema. Las fibras blancas (localizadas predominantemente en los músculos blancos), son de diámetro mayor, poseen menor cantidad de mioglobina y un número menor de mitocondrias que se disponen, preferentemente, entre las miofibrillas al nivel de la banda I.

Tabla 1.1. Clasificación de las fibras musculares de acuerdo a sus propiedades y diferentes autores.

Tipos de Fibras Musculares				Autores
Rojas (Oxidativas)		Blancas (Glicolíticas)		Ranvier, 1873 Needham, 1926 Denny Brown, 1929
I	II			Dubowitz & Pearse, 1960 <i>a, b</i> Engel, 1962
A	B	C		Stein & Padykula, 1962
Rojas		Intermedias	Blancas	Moody & Cassens, 1968; Gauthier, 1970
I	IIC	IIA	IIB	Brooke & Kaiser, 1970 <i>a, b</i>
$\beta$ R	$\alpha$ R	$\alpha$ W		Ashmore & Doerr, 1971
SO	FOG	FG		Peter <i>et al.</i> , 1972
Tónicos	Fásicos glicolíticos	Fásicos oxidativos		Goldspink, 1983
I	IIA	IIX	IIB	Schiaffino <i>et al.</i> , 1986, 1988, 1989; Gorza, 1990
I MHC-I	IIA MHC- IIa	IIB MHC- IIb	IID (X) MHC- IId (x)	Hämäläinen & Pete, 1993

En las fibras blancas la línea Z es más delgada que en las fibras rojas. Las fibras intermedias presentan características entre estos dos tipos, pero superficialmente se asemejan más a las fibras rojas y son más abundantes en los músculos rojos. Poseen un número de mitocondrias equivalente a las fibras rojas, pero su línea Z es delgada como en las fibras blancas. Las fibras musculares del músculo rojo y oscuro, son generalmente de contracción lenta,

más pequeñas y de apariencia más granular que las de los músculos blancos (Bechtel, 1986).

La mayoría de músculos son de composición heterogénea y están formados por varios tipos de fibras y su composición depende de las funciones que debe realizar el músculo:

- a). *Músculos de contracción lenta y oxidativos*. Son lentos en contraerse como respuesta a un estímulo. Son músculos posturales (responsables del mantenimiento de la postura corporal) y están implicados en la realización de movimientos repetitivos y lentos con el menor gasto de energía. Contienen un elevado número de mitocondrias e hidrolizan el ATP muy lentamente, de modo que son muy resistentes a la fatiga. Están constituidos por un porcentaje elevado de fibras tipo I,  $\beta$ R ó SO.
- b). *Músculos de contracción rápida y glicolíticos*. Responden rápidamente ante un estímulo y también se relajan mas rápidamente al cesar el estímulo. Presentan una actividad de miosina-ATP-asa muy alta y se utilizan cuándo se requiere un movimiento rápido, pero se fatigan enseguida. Contienen muy pocas mitocondrias (Pearson & Young, 1989). Las fibras del tipo IIB,  $\alpha$ W ó FG son las mayoritarias en este tipo de músculos.
- c). *Músculos de contracción rápida y oxidativos*. Son similares a los glicolíticos en la velocidad de contracción, aunque en general tienen velocidad de acortamiento ligeramente más lenta. Contienen mayor número de mitocondrias que los glicolíticos y se recuperan con más rapidez de los efectos del ejercicio. Están adaptados para realizar movimientos rápidos de naturaleza repetitiva y son los primeros que se utilizan después de las fibras lentas oxidativas. (Pearson & Young, 1989). Las fibras IIA,  $\alpha$ R ó FOG predominan en este tipo de músculos.

En la tabla 1.2 pueden observarse las propiedades, características fisiológicas y bioquímicas de los diferentes tipos de fibras. La composición de las fibras

musculares depende de diversos factores como son especie, tipo de músculo, factores ambientales como dieta, actividad física (Essén Gustavson & Fjelkner, 1985; Karlsson *et al.*, 1993; Sosniki, 1998) y la temperatura ambiente que afecta durante el desarrollo al metabolismo energético, ya que se ha observado que la exposición al frío por largos periodos, puede incrementar la proporción de fibras tipo I (Lefaucheur & Gerrard, 1998). Respecto a los procesos de glicólisis e instauración del *rigor mortis*, se ha visto que son más rápidos en las fibras blancas que en las rojas (Klont *et al.*, 1998). Las fibras tipo I ( $\beta$ R ó SO) han sido clasificadas histológicamente y expresan la isoforma de las cadenas de miosina pesada (MHC-I) (Termin *et al.*, 1989). En la mayoría de especies existe una única cadena pesada de la miosina lenta y esta isoforma constituye un marcador útil para las fibras de tipo I. Picard *et al.* (1994) proponen el uso de la técnica ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) con un anticuerpo monoclonal específico para la MHC-I para determinar la proporción de MHC lenta de un músculo. Estos autores encontraron una correlación entre el porcentaje de MHC-I y el de fibras de tipo I de 0.57. Este método presenta la ventaja de que es más rápido que las técnicas histológicas y que se realiza con una porción del músculo, por lo que el resultado obtenido es más representativo (Gil *et al.*, 2001; Hitchcock y Crimes, 1983 y 2003 Picard *et al.*, 1994).

Tabla 1.2. Esquema comparativo de los tipos y características de fibras musculares. Adaptada de: Karlsson *et al.*, 1999; Lambertini *et al.*, 1996a; Lefaucheur & Gerrard, 1998; Martínez y Salazar, 2002.

Característica	Tipo I (Lenta oxidativa)	Tipo IIA (Rápida glicolítica oxidativa)	Tipo IIB (Rápida glicolítica)
<b>Función</b>	Postura	Movimiento	Movimiento
<b>Vel. Contracción</b>	Lenta	Rápida	Rápida
<b>Tipo de fibra</b>	$\beta$ R	$\alpha$ R	$\alpha$ W
<b>Diámetro</b>	Pequeño	Grande	Grande
<b>Color</b>	Rojo intenso	Rosado	Blanco
<b>Mioglobina</b>	Alto	Bajo	Muy bajo
<b>Miofibrillas</b>	Pocas	Intermedias	Muchas
<b>Capilarización</b>	Alta	Intermedia	Baja
<b>Motoneurona</b>	Pequeña ( $\alpha$ -1)	Grande ( $\alpha$ -2)	Grande ( $\alpha$ -2)
<b>Descarga nerviosa</b>	Tónica (100 a 120ms)	Intermedia	Fásica (40 a 50 ms)
<b>Fatigabilidad</b>	Poco fatigable	Fatigable	Muy fatigable
<b>Mitocondrias</b>	Muchas y grandes	Intermedias	Pocas y pequeñas
<b>Lípidos</b>	Alto	Medio	Bajo
<b>Triglicéridos</b>	Alto	Medio	Bajo
<b>Glicógeno</b>	Bajo	Alto	Alto
<b>Retículo sarcoplásmico</b>	Bajo	Alto	Alto
<b>Propiedad contráctil</b>	Tensión baja Duración alta	Intermedia	Tensión alta Duración baja
<b>Vía metabólica predominante</b>	Oxidación aeróbica (mitocondrial)	Glucólisis aeróbica y anaeróbica	Glucólisis anaeróbica
<b>SDH (Enzima oxidativa)</b>	Muy elevada	Alta	Baja
<b>FPK (Enzima glucolítica)</b>	Baja	Intermedia	Alta

En la tabla 1.3 se muestra la frecuencia en el contenido de fibras tipo I en músculo *longissimus* de vacuno, cerdo y conejo de diferentes líneas genéticas, donde puede observarse claramente el efecto de la especie y la raza sobre la

composición de las fibras de un mismo músculo. La carne de vacuno es la que presenta las mayores frecuencias de fibras tipo I (Pirenaica 41.5% y el cruce A. AngusxCharolais, 21% de MHC-I), lo cual indica que el músculo *longissimus* de vacuno es más rico en fibras oxidativas de contracción lenta que el de cerdo o conejo. En el caso de las líneas genéticas porcinas también se observa una variación del porcentaje de fibras lentas (Línea C, 10.0% vs. Línea B, 7.3% de MHC-I), el bajo porcentaje de estas fibras indica que en el músculo *longissimus* de porcino son predominantes las fibras de contracción rápida, al igual que en conejo (Neo Zelandés, 10.0 vs. *Fauve de Bourgogne*, 4.8%).

Tabla 1.3. Frecuencia de fibras tipo I en músculo *longissimus* de vacuno, porcino y conejo.

Especie\Raza	Asturiana Montaña <sup>1</sup>	Asturiana Valles <sup>1</sup>	Avileña <sup>1</sup>	Bruna Pirineos <sup>1</sup>	Morucha <sup>1</sup>
	Vacuno	35.5	32.1	26.7	27.9
Retinta <sup>1</sup>		Pirenaica <sup>1</sup>	Charolais <sup>2</sup>	A. A. X Charolais <sup>3</sup>	Limousine <sup>4</sup>
	31.1	41.5	25.3	21 –25.3	27.0
Porcino	A <sup>5</sup>	B <sup>5</sup>	C <sup>5</sup>	D <sup>5</sup>	E <sup>5</sup>
	8.3	7.3	10.0	7.8	9.2
Conejo	NZ <sup>6</sup>	NZ <sup>7</sup>	FB <sup>8</sup>	AC <sup>8</sup>	VW <sup>8</sup>
	10.0	6.2	4.8	8.3	5.52

<sup>1</sup> Razas vacunas autóctonas Españolas, Gil *et al.*, 2001; <sup>2</sup> Renand *et al.*, 1997; <sup>3</sup> Raza A.A.: Aberdeen-AngusxCharolais) Maltin *et al.*, 1998; <sup>4</sup> Picard *et al.*, 1994; <sup>5</sup> A, B, C, D, y E, son líneas híbridas, Gil *et al.*, 2003; <sup>6</sup> NZ: Neo Zelandés, Vigneron *et al.*, 1976; <sup>7</sup> En músculo LL, Alasnier *et al.*, 1996; <sup>8</sup> Razas: *Fauve de Bourgogne* (FB); *Argenté de Champagne* (AC) y Blanco de Viena (VW), Bolet *et al.*, 2000.

En la tabla 1.4 se cita la composición en porcentaje de los diferentes tipos de fibras del músculo *longissimus* en algunas razas de conejos, la cual muestra las variaciones que existen entre razas, siendo los conejos Neo Zelandeses los que tienen mayor cantidad de fibras tipo I (8.7%) y la raza Gigante de Flandes el mayor contenido de fibras IIB (79.0%).

Tabla 1.4. Variación del contenido de fibras del músculo *longissimus* en diferentes razas de conejos

Raza	Tipo I	Tipo IIA	Tipo IIB
<b>Garenes (Conejo salvaje)</b>	7.8	19.4	72.9
<b>Ruso Pequeño</b>	6.2	16.5	77.4
<b>Neo Zelandés</b>	8.7	14.8	76.4
<b>Gigante de Flandes</b>	6.9	14.1	79.0

Ouhayoun, 1989.

En la tabla 1.5 puede apreciarse el porcentaje de fibras en diferentes músculos de conejo determinadas por Lambertini *et al.* (1996b). Con respecto a la edad, destacan la ausencia de fibras tipo IIB en el músculo *soleus* (0%) en las diferentes edades, indicando que su metabolismo es predominantemente oxidativo. En el músculo *bíceps femoris*, puede observarse como la cantidad de fibras tipo I aumenta ligeramente conforme a la edad.

Tabla 1.5. Variación del porcentaje de tipos de fibras en diferentes músculos de conejo con respecto a la edad.

Tipo de fibra	Edad (Días)								
	75			85			95		
	I	IIA	IIB	I	IIA	IIB	I	IIA	IIB
<i>Latissimus dorsi</i>	24.85	19.08	56.07	21.68	17.64	60.69	23.08	16.74	60.18
<i>Bíceps Femoris</i>	3.68	7.05	89.26	3.87	7.09	88.62	4.37	7.41	88.56
<i>Soleus</i>	95.01	4.99	0	97.23	2.77	0	97.69	2.31	0

Lambertini *et al.*, 1996b.

Respecto a la composición de las fibras en diferentes zonas de un músculo, Vigneron *et al.* (1976) efectuaron el análisis en *longissimus* de conejo y observaron que existen diferencias a lo largo de músculo, principalmente en la proporción de fibras I y IIA, mientras que las fibras glicolíticas IIB son las predominantes en todas las zonas y se mantienen prácticamente constantes (Tabla 1.6).



Tabla 1.6. Composición de fibras musculares en diferentes zonas del músculo *longissimus* de conejo.

Tipo de Fibra	Zona de muestreo			
	I <sup>1</sup>	II <sup>1</sup>	III <sup>1</sup>	IV <sup>1</sup>
<b>Tipo I</b>	10.02	7.26	6.13	3.13
<b>Tipo II-A</b>	33.61	34.74	35.63	40.51
<b>Tipo II-B</b>	56.37	58.00	58.24	56.36

Vignerón *et al.*, 1976.

<sup>1</sup> Toma de muestras en diferentes zonas a lo largo del músculo *longissimus* de conejo: **I**: Entre 5a. y 6a. costillas; **II**: Entre 10a. y 11a. Costillas; **III**: Entre 1a. y 2a. Vértebras lumbares y **IV**: entre 4a. y 5a. Vértebras lumbares.

De acuerdo a Ouhayoun y Dalle Zotte (1993), al nacimiento todas las fibras son oxidativas ( $\alpha R$  ó  $\beta R$ ), las diferencias entre ellas se establecen posteriormente, dependiendo de la relevancia glicolítica del músculo. Sin embargo, esta conversión es reversible, ya que el ejercicio incrementa el número de mitocondrias en las fibras blancas ( $\alpha W$ ) y pueden, por lo tanto, convertirse en fibras rojas ( $\alpha R$ ). Petersen *et al.* (1997) encontraron que en cerdos machos el ejercicio espontáneo, previo al sacrificio, provocaba el incremento del metabolismo oxidativo, aumentando también la jugosidad, así como ligeramente la ternura (ambas evaluadas sensorialmente) en el músculo *biceps femoris*.

#### 1.2.4. El tejido conectivo

El tejido conectivo comprende los elementos estructurales en los cuerpos de los mamíferos, proporcionando soporte y fuerza a la estructura del sistema muscular. Se encuentra en los huesos, tendones, ligamentos y fascia, siendo el principal constituyente de la dermis, dientes, sistema cardiovascular, sistema reproductivo y aparato digestivo. Además, envuelve la mayoría de los órganos y se encuentra también en los tejidos mucosos y adiposos (Sims & Bailey, 1981). Entre las proteínas más importantes del tejido conectivo se encuentran el colágeno y la elastina (Pearson & Young, 1989). El tejido conectivo tiene un papel importante en la ternura de la carne. Así, Bailey (1972) sugirió la

existencia de una relación entre la cantidad de tejido conectivo del músculo y la dureza de la carne, encontrando ejemplos claros de esta teoría en los músculo *psaos major* que contiene cerca de 1% de colágeno, el *biceps femoris* 4% y el *sternon mandibularis* 10%, los cuales muestran una disminución de la ternera, en el mismo orden. Con lo anterior se comprueba el incremento en la dureza de acuerdo al aumento en la cantidad de tejido conectivo en el músculo, aunque la dureza también depende de otros factores (Ver 1.5.4).

#### 1.2.4.1. El Colágeno

Es la proteína más abundante en el cuerpo de los mamíferos; constituye el 25% del total de la proteína del cuerpo y el 95% de los elementos fibrosos del tejido conectivo, aunque una gran cantidad está asociada con el esqueleto (Pearson y Young, 1989). El colágeno es el componente principal de todos los tejidos conectivos de modo que la mayor parte de esta proteína está localizada en estrecha asociación con el músculo, así como en los tendones, huesos, cartílagos, piel, tejido vascular y base de las membranas musculares, tales como el epimisio, perimisio y endomisio. El colágeno ha sido clasificado (bioquímicamente) de acuerdo a su estructura y composición de forma que se ha encontrado que cada clase de tejido contiene una composición característica de colágeno. El mayoritario ha sido clasificado como tipo I, que se encuentra como un componente gelatinoso del tendón, el tipo II es el principal componente del cartílago, el tipo III se encuentra en la piel y los tejidos vasculares. Los tipos de colágeno I, II y III, existen predominantemente en una forma fibrosa en la matriz extracelular (el colágeno tipo III dentro del músculo, llega a ser continuo con el tejido conectivo del tendón). Los tipos IV y V no forman las fibras típicas del colágeno, pero sí finas redes que rodean a las membranas de las fibras musculares (Bandman, 1987).

El colágeno es rico en hidroxiprolina, que es un aminoácido muy poco frecuente en las proteínas, por lo que su cuantificación se usa comúnmente para la determinación indirecta del contenido de colágeno en carne (Bonnet y Kopp,

1984). En las fibras de colágeno se encuentran también enlaces covalentes cruzados (Levene y Gross, 1959), tanto en las cadenas de la superhélice de tropocolágeno, como entre sus asociaciones formando fibrillas, las cuales hacen que aumente mucho su resistencia y estabilidad mecánica. Estos enlaces covalentes son reducibles en los animales jóvenes, propiedad que se va perdiendo con la edad de manera que en los animales maduros son totalmente estables, lo cual ayuda a explicar el efecto de mayor dureza en su carne (Sims & Bailey, 1981; Mc Cormick, 1994). El tropocolágeno es la unidad molecular de fibrillas de colágeno que consta de tres unidades de polipéptidos repetidas y trenzadas de cabeza a cola, agrupadas en paquetes paralelos, es una proteína rica en glicina, prolina, hidroxiprolina e hidroxilisina.

Actualmente existe poca información respecto al contenido de colágeno total y el colágeno soluble en carne de conejo. Combes *et al.* (2003) encontraron que el contenido total de colágeno en carne de conejos de 70 días era de 16.4 mg/g (de músculo seco), similar al observado en *l. lumborum* de bovino (15-21 mg/g) por Bosselman *et al.* (1995), Lebret, *et al.* (1998) en *l. lumborum* de cerdo (17 mg/g) y por Culioli *et al.* (1990), en *pectoralis* de pollo de 52 días de edad (20 mg/g). Sin embargo, la cantidad de colágeno soluble en carne cruda fue mucho más alta en conejo (75.3±8.1%), que en las otras especies *l. lumborum* de cerdo (17%), *pectoralis* de pollo, (26%) y en *l. lumborum* de bovino (19%) (Tabla 1.7).

Tabla 1.7. Contenido de colágeno total y soluble, en diferentes especies de acuerdo a varios autores.

Especie	Edad (días)	Colágeno total (mg/g)	Colágeno Soluble (%)	Autores
<b>Bovino</b>	-	15-21	19.0	Bosselman <i>et al.</i> , 1995
<b>Cerdo</b>	105	17.0	17.0	Lebret <i>et al.</i> , 1998
<b>Pollo</b>	52	20.0	26.0	Culioli <i>et al.</i> , 1990
<b>Conejo</b>	70	16.4	75.3	Combes <i>et al.</i> , 2003

El contenido de colágeno intramuscular varía con la especie, tipo de músculo y edad del animal; los efectos de la edad del animal sobre el contenido y solubilidad del colágeno en el músculo de conejo han sido poco estudiados (Combes, 2003), aunque existen datos publicados en otras especies, donde se observa un incremento de enlaces cruzados en las fibras de colágeno con la edad (Mc Cormick, 1994). En la Tabla 1.8 se muestran los resultados del contenido de colágeno con respecto a la edad en conejo y puede observarse que el porcentaje de colágeno se mantiene sin cambios importantes entre animales de 70 a 104 días.

Tabla 1.8. Relación de la edad y el contenido de colágeno en músculo *longissimus lumborum* de conejo.

	Edad (Días)			
	70 <sup>1</sup>	76 <sup>2</sup>	90 <sup>2</sup>	104 <sup>2</sup>
<b>% Colágeno</b>	16.40	14.28	14.85	15.89

<sup>1</sup> Combes *et al.*, 2003; <sup>2</sup> Corino *et al.*, 2003.

### 1.3. Lípidos de la carne y grasa de conejo

Las grasas se clasifican comúnmente como grasa de depósito o subcutánea (tejido adiposo intermuscular) y las que forman parte del tejido muscular. Las grasas de depósito se localizan en la capa subcutánea, pero en ocasiones también están presentes en cantidades considerables entre los músculos, como depósitos intermusculares (grasa de unión), así como en la cavidad del cuerpo, alrededor de los riñones, pelvis y regiones del corazón. En el caso de la canal de conejo la grasa se acumula en las zonas de las escápulas, íngles y periferia de los riñones principalmente.

#### 1.3.1. Clasificación y composición de la grasa muscular

Los lípidos depositados en el interior del tejido muscular puede describirse como sigue:

#### 1.3.1.1. Lípidos Intramusculares

Los lípidos intramusculares forman parte de las fibras musculares y su composición es similar a la del tejido adiposo, pero la grasa intramuscular es más fácilmente alterable al estar en contacto con sustancias del músculo de actividad oxidante (Rhee, 1992). Los lípidos intramusculares proporcionan jugosidad a la carne, de forma que en algunos sistemas de evaluación de calidad se considera la cantidad de grasa infiltrada como un factor importante por considerar que tiene un efecto benéfico sobre la jugosidad y el sabor, además de un efecto positivo sobre la ternura (Forrest, 2002).

Los lípidos intracelulares forman parte de las membranas y mitocondrias, se componen principalmente de fosfoglicéridos y lipoproteínas conformando ambos la grasa intramuscular. Los lípidos intramusculares e intracelulares están compuestos de lípidos ligados a la membrana y por depósitos de células adiposas, que en las carnes rojas se conoce como “grasa de marmoreo” (o grasa intramuscular), excluyendo los lípidos ligados a la membrana externa del músculo. En los lípidos de la carne predominan los ácidos grasos libres y esterificados con glicerina, como mono-, di- y triglicéridos, siendo estos últimos los más abundantes. Los tres grupos se encuentran en todas las grasas de depósito. Entre los lípidos de la carne también se encuentran los lípidos compuestos como los fosfolípidos y esfingomielinas (conjunto formado por esfingosina, ácido fosfórico, ácidos grasos y una base nitrogenada). Comparando la composición de la grasa externa del músculo, los lípidos incluidos del tejido muscular contienen cantidades relativamente grandes de fosfolípidos, los cuales están generalmente asociados con lipoproteínas (López y Carballo, 1991). La grasa infiltrada funciona como un aislante que permite que la carne pueda ser sometida a procesos térmicos sin gran pérdida de calidad.

Oliver *et al.* (1993), analizaron el efecto de la raza y la sensibilidad del gen halotano sobre las características de calidad de la carne en varias razas porcinas midiendo, entre otras variables, el contenido de grasa intramuscular en el músculo *longissimus* de cerdos de la raza *Duroc* (2.89%); *Large White* (1.62%)

y *Pietrain* (1.65%). Sañudo *et al.* (2004), encontraron 4.3 y 4.5% de grasa intramuscular en músculo *longissimus* en vacuno (Raza Doble musculada), 337.4 y 527.7 kg de peso vivo, respectivamente. Salvatori *et al.* (2004), encontraron en músculo *longissimus* de cordero de los cruces *Ile de France* x *Pagliarola* y *Gentile di Puglia* x *Sopravissana*, 3.76% y 4.0% de grasa respectivamente. La grasa intramuscular en carne de conejo, ha sido estudiada por Pla *et al.* (1998), quienes compararon los contenidos en diferentes partes de la canal a diferentes pesos (Tabla 1.9) y observaron que el contenido de grasa del músculo *longissimus*, no sobrepasó el 1% (0.94%), incluso en las canales de mayor peso (2.250-2.350 kg). De acuerdo a esos resultados la parte más grasa de la canal es la parte delantera del conejo. Los mismos autores observaron también el efecto del sexo sobre el contenido de grasa, encontrando que la carne de la pierna de conejos machos presentó un menor contenido de grasa y mayor cantidad de agua, que la carne de las hembras. Los porcentajes de grasa obtenidos para el músculo *longissimus* de conejo (<1%) contrastan notablemente con los obtenidos para las otras especies para el mismo músculo, además de las importantes diferencias en la composición de su grasa.

Tabla 1.9. Contenido de grasa intramuscular en cuatro piezas anatómicas de canales de conejo a diferentes pesos.

Peso de canal	% Grasa		
	Bajo (1750-1850 g)	Medio (2000-2100 g)	Alto (2250-2350 g)
<b>Pierna delantera</b>	6.07	6.65	6.81
<i>longissimus dorsi</i>	0.63	0.90	0.94
<b>Pared abdominal</b>	4.24	5.19	5.70
<b>Pierna trasera</b>	2.81	3.24	3.66

Pla *et al.*, 1998.

Dal Bosco *et al.* (2004), encontraron 0.96 y 1% de grasa en el músculo LD, en conejos alimentados con una dieta suplementada con ácido linolénico, confirmando que al incrementar ese ácido en la dieta se incrementaba también su contenido en el músculo.

Para el conejo la grasa intramuscular se incrementa con la edad entre las 11 y 18 semanas, mientras que su contenido de agua disminuye, de tal forma que la carne de los conejos de 18 semanas, resulta más tierna y menos fibrosa que la carne de los conejos de 11 semanas (Gondret *et al.* 1998a). En este caso, el incremento de la ternura de la carne con la edad puede atribuirse, parcialmente, a la acumulación de grasa en el músculo *longissimus lumborum*.

### 1.3.2. Principales ácidos grasos

Los ácidos grasos encontrados en triglicéridos y fosfolípidos difieren principalmente en la longitud de la cadena y los tipos de enlaces de los átomos de carbono. La mayoría de los ácidos grasos de las grasas animales, contienen un número par de átomos de carbono (de 2 a 30) (Cobos *et al.*, 1994), aunque en grasas de cordero y bovinas se han encontrado ácidos grasos de cadenas impares y ramificadas además de ácidos grasos *trans* e isómeros posicionales del ácido oleico y linoleico (Enser *et al.*, 1996; Rhee, 1992).

Entre los principales ácidos grasos saturados de la carne de mayor a menor concentración, se incluyen: Palmítico (C16:0), Esteárico (C18:0), Mirístico (C14:0). El ácido oléico (C18:1) es el monoinsaturado más abundante, seguido del palmitoleico (C16:1). Los ácidos linoleico (C18:2), linolénico (C18:3) y araquidónico (C20:4) son los principales ácidos grasos poliinsaturados. Los ácidos grasos saturados (SFA) y los monoinsaturados (MUFA) son los mayoritarios en los triglicéridos de la grasa de la carne (Tabla 1.10). En carne de conejo los ácidos grasos insaturados se encuentran en mayor proporción y su contenido varía entre 54-60% del total (Cambero, 1991; Dalle Zotte 2000, 2002; Dalle Zotte *et al.* 2001). Alasnier *et al.* (1994), estudiaron el efecto del tipo metabólico del músculo y su relación con la composición de ácidos grasos

de los fosfolípidos, encontrando más colesterol y fosfolípidos en los músculos oxidativos (*soleus* y *semimembranosus*) que en los glicolíticos (*psaos major*, *longissimus lumborum*). La alta proporción de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), encontrada en los fosfolípidos de los músculos oxidativos, explica su baja estabilidad a la oxidación (enranciamiento), ya que estos ácidos son muy sensibles a ella en la carne y productos cárnicos.

### 1.3.3. Factores que influyen en la composición de la grasa de la carne

Los ácidos saturados y los monoinsaturados constituyen la parte principal de los ácidos grasos de los triglicéridos de la grasa de la carne; sin embargo, la proporción y concentración de los ácidos grasos (como porcentaje del total de ácidos grasos), pueden variar dependiendo de diversos factores como: especie (Enser, 1996; Rhee, 1992), dieta (Alasnier, 1994; Alasnier & Gandemer, 1998; Bernardini *et al.*, 1994; Oliver *et al.*, 1997), genética (Dalle Zotte, 2002), ambiente, sexo (Pla *et al.*, 1998) y edad (Rhee, 1992).

#### 1.3.3.1. Especie

La cantidad total de ácidos grasos de la carne así como sus proporciones, difiere considerablemente entre todas las especies animales. La composición aparente de ácidos grasos de la grasa subcutánea y la grasa del tejido muscular varía dependiendo de la especie. Así, en las carnes de cordero, vaca y ternera el contenido de ácidos grasos saturados es más alto en la grasa de depósito que en la grasa separable del magro, mientras que la composición en ácidos grasos (SFA, MUFA y PUFA) de la grasas de cerdo (de depósito y separable del magro) es similar en ambas (Rhee, 1992). Enser *et al.* (1996) encontraron que la grasa intramuscular de corderos es más saturada que la subcutánea atribuyendo ésta diferencia al alto grado de engrasamiento de los corderos, debida al abundante alimento por la época del año en que se realizó el experimento. De forma general, el contenido de PUFA es mayor en la grasa de la carne que en la grasa de depósito, en la mayoría de las especies (Enser *et al.*, 1996, 1998; Rhee, 1992). En la tabla 1.10 se muestra la composición en ácidos



grasos de la carne de varias especies, en donde destacan las elevadas cantidades de ácidos grasos saturados y monoinsaturados de las carnes de cordero y vacuno, así como la cantidad de ácidos grasos poliinsaturados en las carnes de cerdo, pollo o conejo (monogástricos), este último representando la mayor cantidad de este tipo de ácidos de las seis especies. La carne de conejo también posee una composición equilibrada del índice entre los ácidos grasos  $n-6:n-3$  (11.3, para la carne de la pierna) comparado con el 36.5 de la ternera o el 15.9 de la carne de pollo (Cabe recordar que la composición de la grasa depende en gran medida de la dieta suministrada y el caso de este índice en la carne de ternera, es considerablemente alto y relevante respecto a la carne de las otras especies). El ácido palmítico (C16:0) se encuentra en mayor cantidad en conejo que en cerdo, ternera o pollo, sin embargo, la proporción de ácido esteárico es menor que en las otras carnes y éste ácido es considerado como perjudicial para la salud (Lands, 1987).

Otra ventaja que presenta el consumo de carne de conejo es su alto contenido en ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), los cuales son considerados favorables para la salud.

#### 1.3.3.2. Dieta

La composición en ácidos grasos depende de varios factores, de los cuales la alimentación es muy importante sobre todo en los animales monogástricos, ya que si un cerdo, ave o conejo se alimenta con una dieta rica en ácidos grasos insaturados, los incorporará más fácilmente a sus tejidos que en el caso de los rumiantes, en los que la acción de los microorganismos del rumen determina la clase de ácidos grasos disponibles para el animal. Estos microorganismos convierten los ácidos grasos insaturados ingeridos en ácidos grasos saturados (McDonald & Scott, 1977), dificultando el incremento de los lípidos instaurados en los tejidos a través de la modificación de la dieta (Fraga *et al.*, 1983; López y Carballo, 1991; Rhee, 1992).

Tabla 1.10. Valores medios de la composición en % de ácidos grasos totales y colesterol (en mg/100g de fracción comestible) en carnes de diferentes especies.

Ácido graso	Vacuno <sup>a</sup>	Cordero <sup>a</sup>	Cerdo <sup>a</sup>	Ternera <sup>c</sup>	Pollo <sup>h</sup>	Conejo <sup>c</sup>	
						Canal	Pierna
<b>C12:0</b>	0.08	0.31	0.12	0.46	0.37	0.24	0.15
<b>C14:0</b>	2.66	3.30	1.33	4.13	0.95	3.14	2.25
<b>C16:0</b>	25.0	22.2	23.2	21.2	32.65	27.3	28.2
<b>C18:0</b>	13.4	18.1	12.2	13.1	14.97	7.9	7.6
<b>C20:0</b>	-	-	-	-	0.21	0.10	0.06
<b>C22:0</b>	-	-	-	-	0.26	0.004	-
<b>SFA</b>	<b>41.14</b>	<b>43.91</b>	<b>36.85</b>	<b>38.9</b>	<b>49.41</b>	<b>38.7</b>	<b>38.26</b>
<b>C14:1 n-6</b>	-	-	-	0.63	-	0.45	0.11
<b>C16:1 cis</b>	4.54	2.20	2.71	2.48	3.44	6.67	2.33
<b>C18:1 trans</b>	2.75	4.67	-	-	-	-	-
<b>C18:1 n-9 oleico</b>	36.1	32.5	32.8	31.3	35.13	25.4	19.9
<b>C18:1 n-7</b>	2.33	1.45	3.99	-	-	-	-
<b>C20:1 n-9</b>	-	-	-	-	0.68	0.31	0.19
<b>MUFA</b>	<b>45.72</b>	<b>40.8</b>	<b>39.5</b>	<b>34.4</b>	<b>39.25</b>	<b>32.8</b>	<b>22.5</b>
<b>C18:2 n-6</b>	2.42	2.70	14.2	12.4	8.86	20.7	30.7
<b>C18:3 n-6 <math>\gamma</math>-linolenico</b>	ND	ND	0.06	-	-	-	-
<b>C18:3 n-3 <math>\alpha</math>-linolenico</b>	0.70	1.37	0.95	0.42	0.13	3.14	2.98
<b>C20:2 n-6</b>	ND	ND	0.42	-	0.27	-	-
<b>C20:3 n-6</b>	0.21	0.05	0.34	-	0.14	-	-
<b>C20:3 n-3</b>	0.007	Nd	0.12	-	-	-	-
<b>C20:4 n-6</b>	0.63	0.64	2.21	2.29	0.56	0.032	3.12
<b>C20:4 n-3</b>	0.08	Nd	0.009	-	-	-	-
<b>C20:5 n-3 EPA</b>	0.28	0.45	0.31	-	0.40	0.01	0.03
<b>C22:4 n-6</b>	0.04	ND	0.23	-	-	-	-
<b>C22:5 n-3</b>	0.45	0.52	0.62	-	-	-	-
<b>C22:6 n-3 DHA</b>	0.05	0.15	0.39	-	0.38	0.008	-
<b>PUFA</b>	<b>4.9</b>	<b>5.9</b>	<b>19.9</b>	<b>15.1</b>	<b>10.74</b>	<b>23.9</b>	<b>36.8</b>
<b>n-6/n-3</b>	2.2	1.4	7.3	34.9	10.80	6.7	11.3
<b>PUFA/SFA</b>	8.33	3.33	1.85	2.5	4.54	1.61	1.04
<b>Colesterol<sup>d</sup></b>	70	79.5 <sup>e</sup>	61.0	66.0	81.0 <sup>b</sup>	45.0 <sup>f</sup>	60.0 <sup>g</sup>

nd: No detectado; a: Enser *et al.*, 1996; b: Komprda *et al.*, 1999; c: Dalle Zotte, 2002, 2001; d: Salvini *et al.*, 1998; e: Mataix *et al.*, 1998 (En músculo *longissimus*); f: Lukefahr *et al.*, 1989 (Total en magro); g: Parigi Bini *et al.*, 1992, h: Wattanachant *et al.*, 2004 (en *pectoralis*).

Cobos (1994) sugiere que la composición de ácidos grasos esenciales de la grasa puede ser modificada mediante la dieta en pollo, conejo y cerdo (monogástricos), ya que estos animales son aptos para producir carne nutricionalmente favorable. A este respecto, varios autores (Bernardini *et al.*, 1994; Cobos *et al.*, 1992, 1993, 1994; Dal Bosco *et al.*, 2004; Gondret *et al.* 1998b; Oliver *et al.*, 1997; Santomá *et al.*, 1987; Xicatto *et al.*, 1994) han suministrado dietas modificadas para mejorar la composición de la grasa en conejos y han encontrado que mediante el empleo de aceites vegetales, es posible incrementar la cantidad de PUFA en los depósitos grasos de los tejidos. En algunos casos con el empleo de dietas enriquecidas con grasas que contienen elevado contenido de ácido linoleico (como aceite de soja o cacahuete), se ha observado un aumento en la cantidad de este ácido y del araquidónico en la grasa de cerdo (Brooks, 1971; Morgan *et al.*, 1992), de conejo (Cobos *et al.*, 1992; Oliver *et al.*, 1997 y Raimondi *et al.*, 1975) y de pollo (Asghar *et al.*, 1990). El incremento en la concentración de ácido araquidónico, se debe a su síntesis a partir del ácido linoléico mediante la actuación de la enzima  $\Delta 6$ -Desaturasa (Brenner, 1981). También se ha visto que el suplemento en la dieta de un alto contenido de ácido linolénico, provoca un incremento del mismo ácido en los lípidos de la carne (Ouhayoun *et al.*, 1987; Villegas *et al.*, 1973).

Se ha estudiado que los ácidos grasos *n-6* y *n-3* son beneficiosos para la salud y reducen ciertos riesgos de enfermedades cardiovasculares, funcionando como precursores en la síntesis de eicosanoides, algunos de los cuales ayudan al control de las enfermedades cardíacas. Sin embargo a los eicosaenoides también se les ha relacionado con ciertos desórdenes del organismo, como la arteriosclerosis, cáncer o perturbaciones del sistema inmune (Lands, 1987), ya que estos ácidos gobiernan esta función y controlan la actividad de diversas células (Gerrard, 1985). Esta es la razón de la importancia crítica que se atribuye a los PUFA en la dieta (Cobos *et al.*, 1994).

Santomá *et al.* (1987) analizaron el efecto de 19 dietas (adicionando aceite de soja, aceite y oleínas de girasol, lecitina de soja y grasas de cerdo y vacuno), en dos proporciones diferentes (30 y 60 g/kg) encontrando que el porcentaje de mayor adición no presentaba ningún efecto sobre las características de producción, por lo que los mejores resultados los obtuvieron con la adición de grasas vegetales a razón de 30 g/kg y suponen un incremento en la composición de los ácidos grasos insaturados (debido al enriquecimiento con grasas vegetales).

La adición de oleínas de soja y girasol o aceite de soja, ayudan a la producción de carne de conejo con grasa de mayor grado de insaturación que la que se obtiene por dietas convencionales, lo cual conlleva otro beneficio, ya que las oleínas son subproductos comestibles de la industria de la refinadora de aceites, por lo tanto son más económicas (Cobos *et al.*, 1993).

Oliver *et al.* (1997) confirmaron el efecto del cambio en la composición de ácidos grasos a través de la modificación de la dieta, comparando dietas diferentes, una adicionada con grasa vegetal y otra adicionada de una mezcla de grasas animales y una control (sin adicionar). Encontraron que la dieta vegetal afectaba el color de la grasa, que era menos blanca. Esta misma dieta producía carne con mejores características sensoriales que la dieta enriquecida con grasas animales. Observaron que en la grasa perirrenal de conejo se lograba incrementar el contenido del ácido graso C18:2, mediante el suplemento de la dieta con grasa vegetal (53.7%), mientras que con la dieta enriquecida con grasa animal el porcentaje se redujo (18.7%) con respecto al contenido de ese ácido graso en la carne obtenida con la dieta control (43.6%).

#### 1.3.3.3. Genética, ambiente y sexo

La variación genética es muy grande en el caso de los conejos ya que existen razas muy pequeñas (Enano) y razas muy grandes (Conejo Gigante, un adulto de esta raza, llega a ser cinco veces el peso de la raza Enana). La mayoría de los conejos que se emplean para producir carne, son cruces de razas basados en

programas de selección por diferentes objetivos (tamaño de camada o velocidad de crecimiento). En la última década los programas de investigación han sido enfocados, en su mayoría, a incrementar la capacidad de desarrollo (Rochembeau, 1997).

Aunque no hay un acuerdo universal para diferentes especies animales, por lo general se cree que una temperatura o ambiente más frío también afecta a la composición de la grasa incrementando la insaturación de los lípidos de los tejidos, manifestándose en una grasa corporal más suave con puntos de fusión más bajos y altos índices de yodo. En el caso de cerdos, los más magros tienen una concentración de ácido linoleico más alta que los animales grasos (Wood, 1984). Referente a la composición de ácidos grasos, no se han encontrado diferencias entre conejos machos y hembras (Xicatto *et al.*, 1994).

#### 1.4. Composición y calidad nutritiva de la carne

La carne es un alimento básico en la dieta por sus proteínas de alta calidad nutritiva y el tipo de aminoácidos que las constituyen. Además, su grasa contiene ácidos grasos esenciales y es rica en vitaminas del complejo B (Un ejemplo es la carne de cerdo que contiene de 5 a 10 veces más tiamina que otras carnes; Schweigert, 1987). La carne de conejo posee proteínas y grasa en cantidades similares a la carne de pollo y ternera (Tabla 1.11), aunque la composición de su grasa es diferente ya que es baja en grasa y colesterol, además de rica en vitaminas y minerales (Guernebleich, 2001; Parigi Bini *et al.*, 1992).

Sin embargo, estas características son desconocidas por la mayoría de los consumidores, especialmente en países o lugares donde por tradición se consumen otras especies. El Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA, 2004) ha publicado un contenido de grasa de 6.9 y 10.11% para lomo de ternera y vacuno, respectivamente, y para cerdo 9.4 y 7.8% para pierna y lomo, también respectivamente, aunque debe considerarse que estos valores varían con la raza y el tipo de corte en cada país.

Los valores proporcionados en las tablas de composición química de los diferentes tipos de carnes deben observarse cuidadosamente, ya que por lo general, en pocas de ellas se especifica el tipo genético y el músculo, entre otras variables.

Tabla 1.11. Composición química y valores de energía de carnes de diferentes especies (en 100 g de fracción comestible).

<b>Carne magra</b>	<b>Agua</b>	<b>Proteína</b>	<b>Grasas</b>	<b>Minerales</b>	<b>Kcal/100g</b>
<b>Vacuno</b>	66.0	18.8	13.7	1.0	213
<b>Ternera</b>	72.7	20.5	5.4	1.1	142
<b>Cerdo</b>	53.3	15.3	30.5	0.8	357
<b>Cordero</b>	69.0	18.2	12.5	1.0	199
<b>Conejo</b>	69.6	20.8	7.62	1.1	164
<b>Pollo</b>	72.7	20.6	5.60	1.1	144

Souci, Fachman & Kraut, 1986/87.

La composición de la carne de conejo varía con respecto a la edad, sobre todo en la proporción de grasa. En la tabla 1.12 se muestran algunos datos de composición de conejos de la raza Neo Zelandés y puede observarse que a mayor edad, la cantidad de agua disminuye ligeramente y sucede lo contrario en el caso de la proteína y la grasa, es decir a mayor edad, su proporción se incrementa (Ouhayoun 1974).

Tabla 1.12. Cambios en la composición química (%) en la carne de la pierna, de acuerdo a la edad, en conejos Neo Zelandeses.

	<b>Edad (Días)</b>		
	<b>30</b>	<b>70</b>	<b>181</b>
<b>(% peso adulto)</b>	17	55	100
<b>Agua (%)</b>	77.7	74.9	72.7
<b>Proteína (N X 6.25)</b>	18.2	20.2	21.3
<b>Grasa (%)</b>	2.8	3.7	4.8
<b>Minerales (%)</b>	1.2	1.2	1.2

Ouhayoun, 1974.

Muchos consumidores de carne creen que las carnes rojas son poco sanas debido a su alto contenido de ácidos grasos saturados y colesterol (Rhee, 1992). Varios estudios epidemiológicos han demostrado una relación directa entre la ingesta de estos ácidos saturados con las enfermedades cardiovasculares, por lo que los médicos recomiendan disminuir su consumo (British Nutrition Foundation, 1996; Dalle Zotte, 2002; Department of Health & Social Security UK, 1994; Hu & Willet, 2002; Robertson, 2001; Ros, 2001). El contenido de ácidos grasos saturados es más alto en carnes rojas (Enser, 1996; Rhee, 1992), que en las aves o pescado, sin embargo, el contenido de colesterol de la carne magra de estas especies, no es muy diferente al de la carne de pollo (sin piel) o pescado e incluso es más bajo que algunos mariscos (Rhee, 1992). Cabe recordar que el colesterol es parte de los lípidos estructurales esenciales para la función celular (Allen & Feogeding, 1981), además de ser de importancia en el organismo por ser precursor en la síntesis de otros esteroides, como las hormonas sexuales y ácidos biliares. Debido a su actividad tensoactiva, el colesterol también juega un papel importante en la emulsión y absorción de los acil-lípidos (Belitz & Grosch, 1988).

Se ha observado que la población de los países desarrollados tiende a tener más cuidado en la ingestión de alimentos con alto contenido de grasas saturadas, por lo que en las investigaciones realizadas en el tema se intenta producir carne dietética y sana, buscando la manera de reducir la cantidad de ácidos grasos saturados e incrementar los ácidos grasos insaturados. La carne de conejo se clasifica entre las carnes que contienen baja cantidad de colesterol (con un promedio de 53 mg/100g; Parigi Bini *et al.*, 1992), por lo que podría ser de utilidad en la elaboración de dietas para personas mayores o con problemas cardiovasculares (Guernebleich, 2001; Lukefahr *et al.*, 1989; Parigi Bini *et al.*, 1992). De acuerdo a la composición en ácidos grasos de su carne y grasa, podría ser considerada como un alimento de interés para la dieta humana, debido a su contenido de ácidos grasos insaturados relativamente alto (no

contiene ácidos grasos trans y tiene cantidades importantes de ácidos grasos de la familia *n-6* y *n-3*) (Alasnier & Gandemer, 1998).

En la tabla 1.13, se mencionan algunos mecanismos potenciales por los que los ácidos grasos *n-3* (Omega-3) pueden reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares.

Tabla 1.13. Mecanismos Potenciales por los que los ácidos grasos Omega-3 pueden reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares.

- 
- Reducen la susceptibilidad de arritmia ventricular
  - Anti-trombogénicos
  - Hipotrigliceridémicos (ayuno y postprandial)
  - Retardan el desarrollo de la placa arteroesclerótica
  - Reducen la adhesión expresiones moleculares
  - Reducen plaquetas derivadas del factor de desarrollo
  - Anti-inflamatorios
  - Promueven la relajación endotelial del óxido nítrico-inducido
  - Medianamente hipotensivos
- 

Din *et al.*, 2004

El Departamento de Salud y Seguridad Social de Reino Unido (Department of Health and Social Security of UK, 1994) recomienda incrementar la ingestión de ácidos grasos C20 y C22 (*n-3*), ya que en las dietas actuales la relación aproximada de consumo es de 10:1, comparada con la relación 1:1 del hombre primitivo (Enser, 1996; Higgs & Mulvihill, 2002). Los ácidos grasos insaturados de la carne de conejo, están bien equilibrados entre las dos series *n-6* y *n-3* (Dalle Zotte, 2002) y algunos ácidos insaturados de cadena larga también están presentes (aunque como se mencionó anteriormente, estos valores dependen en gran medida de la dieta suministrada). Otro índice de interés para la salud humana es la relación PUFA:SFA, del cual el Departamento de Salud y Seguridad Social de Reino Unido, recomienda la ingestión de a razón de un mínimo de 0.45 para mantener un equilibrio en la ingestión de este tipo de ácidos. Un valor elevado de este índice indicará un



porcentaje mayor de ácido linoléico (*n-6*) y sería benéfico para la salud. Oliver *et al.* (1997) encontraron índices PUFA:SFA, de 2.42, 0.52 y 0.42, para dietas enriquecidas con grasa de origen vegetal, grasa de origen animal y dieta control, respectivamente, suministradas a conejos. Aunque las dietas control y la enriquecida con grasa vegetal obtuvieron cocientes de PUFA:SFA muy cercanos al mínimo recomendado, la carne obtenida de la dieta adicionada de grasa vegetal, representó un contenido de PUFA más abundante que en la carne obtenida con las otras dietas.

### 1.5. Características de calidad de la carne

Los atributos de calidad de la carne como el pH, color, la capacidad de retención de agua (CRA), propiedades de textura, olor, gusto y la mayoría de los aromas percibidos durante la masticación, no pueden considerarse independientes, ya que todos están relacionadas entre sí y su interacción proporciona las características globales de calidad de la carne.

#### 1.5.1. pH

Es la característica de calidad de la carne más importante ya que afecta directamente a la estabilidad y propiedades de las proteínas, y de su valor final (medido generalmente a 24 h *post-mortem*) dependerán prácticamente todos los atributos importantes de calidad de la carne, como son: la capacidad de retención de agua (textura) y el color. La evolución del pH de la carne de conejo se inicia a partir del pH del músculo, que de acuerdo a Bate-Smith y Bendall (1949) en conejos vivos es muy cercano a 7. Sin embargo, después del sacrificio el músculo pierde el aporte de oxígeno y nutrientes, por lo que trata de mantener su integridad disipando sus propias reservas energéticas y sufriendo cambios en sus propiedades durante la etapa *post-mortem* (*rigor mortis*), las cuales dependerán de las condiciones *ante-mortem* (como: Transporte, estrés, ayuno, método de aturdimiento, disponibilidad de glucógeno y producción de ácido láctico, entre otros) y del glucógeno disponible (Gondret & Bonneau, 1998b). Una de las consecuencias de este

fenómeno en carne de conejo, es la disminución del pH, que pasa de un valor en el músculo de 7.0-7.2, a un pH último dependiendo del músculo, que oscila entre 5.6 (en músculos de actividad glicolítica) a 6.4 (en músculos oxidativos) (Cabanes, 1996; Delmas & Ouhayoun, 1990) y de los factores *ante-mortem*. El pH último puede variar según la localización en un mismo músculo (Cantoni *et al.*, 1975).

Una forma clara de la importancia del pH puede observarse en la carne de cerdo, en donde a partir de su valor pueden predecirse las carnes PSE y DFD. En el caso de la carne de bovino, Talmant *et al.* (1986) encontraron que la velocidad de acidificación era más lenta en los músculos rojos (oxidativos) que en los blancos (glicolíticos), mientras que en la carne de conejo la velocidad de acidificación es la misma ( $3 \times 10^{-3}$  Unidades de pH/minuto), tanto en músculos oxidativos como en glicolíticos (Renou *et al.*, 1986). Los músculos de la porción delantera de la canal tienen mayor pH que los músculos de la parte trasera.

Bendall (1973), describió tres fases en el establecimiento del *rigor* en conejos:

- a. Fase de latencia. En esta fase el músculo permanece extensible, igual que en el momento del sacrificio. La duración de esta fase puede ser prácticamente cero, en animales exhaustos, por la falta de reservas energéticas.
- b. Fase de instauración. En esta fase se observa una rápida disminución de la extensibilidad.
- c. Fase de inextensibilidad. La variación del pH *post-mortem* puede caracterizarse por su velocidad de caída, la cual está en proporción a la actividad ATP-ásica de la miosina y por su amplitud, que depende de la cantidad de glucógeno degradado (o de lactato producido).

La limitada caída del pH causada por estímulos tales como condiciones de estrés, frío, enfermedad, calor, contracciones extenuantes de los músculos previas al sacrificio, también pueden causar la obtención de canales que

produzcan carne oscura y potencialmente dura, debido a los cambios ya mencionados (incremento del consumo de energía que utiliza el músculo y a la disminución de la cantidad disponible de glucógeno para la producción de ácido láctico después del sacrificio). Para el caso del conejo, el pH se mide normalmente en el músculo *longissimus* y en el *bíceps femoris* (Blasco y Piles, 1990; Ouhayoun & Delmas, 1988). Oliver *et al.* (1997) encontraron valores de pH de 5.70 y 5.77 en *longissimus* obtenido de conejos alimentados con dietas suplementadas con aceite vegetal y grasa animal, respectivamente y un pH de 5.66 en la dieta control (no suplementada). Otros valores de pH publicados por varios autores en el músculo *longissimus* de conejo han sido: 5.66-5.71 (Blasco y Piles, 1990), 5.45-5.63 (Ristic, 1986), 5.69-5.75 (Ouhayoun, 1978) y en pierna 5.87 y 6.03 (Lambertini *et al.*, 1996b) 5.98-6.0 (Niedzwiadek *et al.*, 1996). Hasta la fecha no se han encontrado razas de conejos que presenten cinéticas de acidificación o valores de pH último anormales, como en el caso del cerdo, el cual puede determinar defectos en la carne, de tal forma que la carne de conejo no es exudativa (Hulot y Ouhayoun, 1999).

#### 1.5.2. Capacidad de retención de agua (CRA)

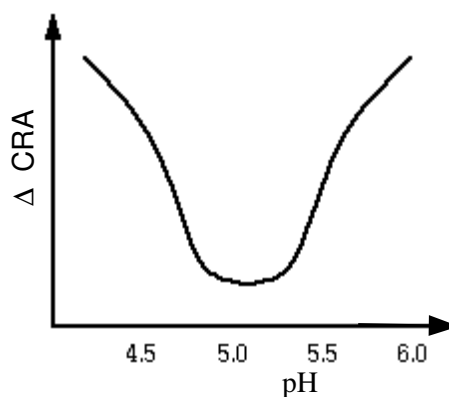
La CRA se refiere a la capacidad de la carne para retener agua cuando se somete a factores externos como: corte, presión y temperatura, entre otros. Cuando se aplica cualquiera de las condiciones anteriores, la carne sufre pérdidas de humedad debido principalmente al agua libre de su estructura. La CRA, es una propiedad de gran importancia en la calidad de la carne, ya que sufre cambios antes, durante y después de la cocción. Después del sacrificio, la CRA de la carne se ve afectada por factores como: la caída del pH *post-mortem*, la pérdida de ATP, la instauración del *rigor mortis* y los cambios en la estructura miofibrilar asociados en parte a la actividad proteolítica (Koohmaraie, 1994; Ouali, 1990a; Roncalés *et al.*, 1995). Por ello las propiedades físicas más importantes de la carne (color, firmeza, jugosidad y textura de la carne cocida), están estrechamente relacionadas con la CRA

(Hulot y Ouhayoun, 1999). Cuando los tejidos tienen poca capacidad de retener agua durante el almacenamiento, las pérdidas por goteo pueden ser grandes y al mismo tiempo se pierden algunas proteínas solubles, vitaminas y minerales. Para evaluar la CRA se ha propuesto un método (Barton-Gade *et al.*, 1994), que mide las “pérdidas por goteo” e indirectamente la CRA, pero para la carne de conejo, que es una canal pequeña, los procedimientos sugeridos son poco funcionales, por lo que Pla *et al.* (2000) sugieren aplicar el método de “Compresión en Papel Filtro” el cual evalúa la cantidad de “agua liberada por presión” como una medida indirecta de la CRA. La CRA se expresa como la media de dos réplicas del valor de la cantidad de agua liberada por presión (*Press Released Water = PRW*) y se calcula mediante la fórmula:

$$PRW = \frac{\text{Peso del papel filtro húmedo} - \text{Peso del Papel filtro}}{\text{Peso de muestra de carne}} \times 100$$

En la figura 1.3 se observa el comportamiento de la CRA de acuerdo a la variación del pH en el proceso de conversión de músculo a carne.

Figura 1.3. Comportamiento del incremento en la CRA durante la variación del pH de la carne (López y Carballo, 1991).



Respecto a la CRA en el músculo *longissimus* de conejo se encontraron los siguientes resultados:

Pla *et al.* (1998), calcularon valores de CRA de 34.43, 35.59 y 35.62%, para tres líneas seleccionadas por diferentes objetivos. También Pla y Cervera (1997) encontraron valores de CRA 33.5, 36.8 y 30.6 en conejos alimentados con dietas enriquecidas con grasa vegetal animal y control respectivamente. Los valores anteriores fueron muy similares a los publicados por Battaglini *et al.* (1994), 35.6-35.7%. Piles *et al.* (2000) publicaron una CRA de 33.83% en conejos seleccionados por velocidad de crecimiento. Dal Bosco *et al.* (2001), encontraron valores de CRA de 56.83, 47.05, 44.15 y 47.98, para *longissimus* fresco, hervido, frito, y asado, respectivamente y empleando el método de centrifugación (Nakamura & Katoh, 1985).

En la tabla 1.14 pueden observarse las pérdidas por influencia de la edad en el proceso de cocción (asado) de la carne conejo, las cuales se reducen al aumentar la edad (Fischer & Rudolph, 1979).

Tabla 1.14. Pérdida de agua (%) por cocción (asado) de carne de conejo de acuerdo a la edad y contenido de grasa.

	Edad (Días)		
	86	96	105
<b>Peso Canal (kg)</b>	1.40	1.54	1.63
<b>Pierna</b>	30.9	27.6	27.3
<b>(% grasa)</b>	(4.8)	(4.9)	(6.0)
<b>Lomo</b>	34.1	30.9	30.8
<b>(% grasa)</b>	(1.5)	(1.7)	(1.6)

Fischer & Rudolph, 1979.

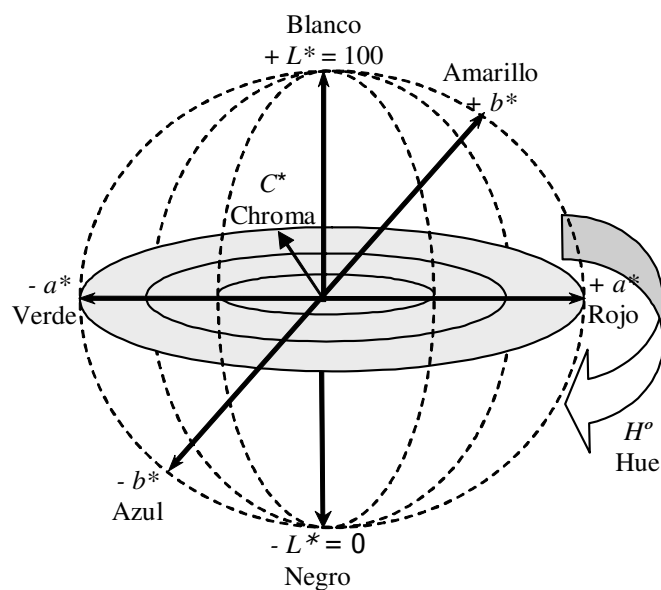
### 1.5.3. Color

El color de la carne depende del tipo de músculo (tipo de actividad) y de la concentración de mioglobina que contenga el músculo, además del estado de oxidación del átomo de hierro del grupo hemo y de una posible desnaturalización de la globina (Hulot y Ouhayoun, 1999). El color es un indicador muy utilizado para evaluar la calidad de la carne (Issanchou, 1996), de modo que la intensidad del color puede ser usada para evaluar la edad del

animal, siendo más oscura y generalmente más dura a mayor edad, debido a que los músculos contienen mayor cantidad de mioglobina (Cassens, 1994).

La percepción del color es única y exclusiva para cada individuo, por lo que existía una gran dificultad para comunicar objetivamente un color específico, sin tener una base de referencia, de forma que las primeras medidas del color se hicieron basadas en estándares por medio de comparación. Actualmente, para la identificación exacta de un color, existen instrumentos que le atribuyen valores numéricos, los cuales hacen objetiva esta propiedad. La *Commission Internationale de l'Eclairage* (CIE) de 1976 recomienda para evaluar el color, dos escalas de color alternativas y uniformes: CIE, 1976 ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) ó CIELAB y la CIE, 1976 ( $L^*$ ,  $u^*$ ,  $v^*$ ) ó CIELUV.

Figura 1.4. Espacio del color en la escala CIE  $L^* a^* b^*$  y sus coordenadas cilíndricas  $C^*$  y  $H^\circ$ .



Estas escalas se basan en la teoría de percepción de colores opuestos, que establece que un color no puede ser verde y rojo ni azul y amarillo al mismo tiempo.

Cuando se expresa un color en CIELAB,  $L^*$ , indica la luminosidad o claridad;  $a^*$  ( $u^*$ ), indica el valor rojo/verde y  $b^*$  ( $v^*$ ) identifica el valor amarillo/azul (Figura 1.4). A partir de los valores de  $a^*$  y  $b^*$  puede calcularse el matiz (Hue):

$$H(^{\circ})_{ab} = \text{tg}^{-1} b^*/a^*$$

y la cromaticidad (Chroma):

$$C^*_{ab} = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

Para el caso de la carne, el color es también una característica de importancia comercial, ya que es el primer atributo de calidad que el consumidor puede apreciar. Para la evaluación del color en carne y productos cárnicos Honikel (1997), recomienda algunos parámetros a considerar, como definir el tiempo de “Blooming” (tiempo de exposición de la carne al aire, exactamente después de cortar la muestra, que preferentemente debe ser dos horas y como mínimo una hora a una temperatura máxima de 3°C), una fuente de luz D<sub>65</sub> con el sistema de iluminación 45/0 ó 0/45 ó difuso/8 (d/8) a un ángulo de observación de 10° empleando la escala de color  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  (CIE, 1976) y realizar la lectura por triplicado, habiendo calibrado con los estándares negro ( $L= 0$ ) y blanco ( $L= 100$ ). También debe considerarse que las lecturas hechas en carne con gran cantidad de grasa intramuscular (marmoreo) o colágeno, producirán valores de gran variabilidad.

El contenido del pigmento mioglobina es intrínseco al músculo, dependiendo de los factores de producción primarios, tales como especie, raza, edad, tipo de músculo y grado de nutrición. El periodo *ante-mortem*, el proceso de sacrificio y las etapas subsecuentes, afectan al color, por la influencia de la velocidad de caída del pH y la disminución de la temperatura. Durante el almacenamiento, distribución y venta, el proceso de oxigenación y oxidación de la mioglobina afectan al color (Honikel, 1998).

Debido a que la mayoría de las investigaciones relacionadas con el color en la carne están realizadas para las especies y cortes de mayor consumo, para la carne de conejo, Blasco *et al.* (1993, 1996), sugieren que las medidas del color

se obtengan de los músculos de mayor importancia comercial, es decir, *longissimus dorsi* y *biceps femoris*, considerados los músculos más representativos en estudios realizados en calidad de carne de conejo. Al no haberse precisado los métodos ni la forma de establecer un control de calidad, los diferentes autores realizan las mediciones del color en diferentes lugares de la canal, por lo que la comparación de resultados es difícil (Pla *et al.*, 1995; Renerre, 1982). En la tabla 1.15 se describen las variables de color para diferentes especies y varios músculos de conejo (Pla *et al.* 1998), donde se puede observar como los valores de color para los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ , varían ligeramente, de acuerdo al músculo donde se haga la lectura.

Tabla 1.15. Parámetros de color medidos en la superficie de la canal en diferentes músculos.

Especie	Músculo	$L^*$	$a^*$	$b^*$
	<i>l. lumbarum</i>			
Conejo <sup>1</sup>	▪ 7a. Vertebra lumbar	56.89	2.35	0.57
	▪ 4a. Vertebra lumbar	55.57	2.49	1.61
	▪ 2a. Vertebra lumbar	55.82	2.67	2.0
	<i>gluteus accesorius</i>	54.12	3.85	3.2
	<i>biceps femoris</i>	52.08	3.47	4.4
Pollo	<i>pectoralis</i> <sup>2</sup>	81.17	2.62	15.9
Cerdo	<i>longissimus</i> <sup>3</sup>	57.0	7.44	15.9
	<i>l. thoracis</i> <sup>4</sup>	52.0	7.4	3.1
Vacuno	<i>l. lumbarum</i> <sup>5</sup>	41.7	20.7	21.1
	<i>l. thoracis</i> <sup>6</sup>	32.2	23.4	13.2

<sup>1</sup> Pla *et al.*, 1995; <sup>2</sup> Holownia *et al.*, 2003; <sup>3</sup> Norman *et al.*, 2003; <sup>4</sup> Gil *et al.*, 2003, <sup>5</sup> Raza Belgian Blue. Raes *et al.* 2003. <sup>6</sup> Gil, *et al.*, 2001.

Los valores de la Luminosidad ( $L^*$ ) y tendencia al rojo ( $a^*$ ) para el caso de la carne de vacuno, representan los valores mas altos de la tabla, en contraste con los valores de las mismas variables para el músculo *pectoralis* de pollo que posee los valores más bajos, ambos debido a su composición y propiedades. El músculo *longissimus* de cerdo y conejo poseen características semejantes de



color, hasta cierto punto. Gil *et al.* (2001) encontraron valores para  $L^*$  desde 32.2 hasta 38.9, en siete razas de terneras Españolas para carne.

Aunque para evaluar el color de la carne de conejo se obtengan valores que pudieran considerarla pálida ( $L^* > 52$ ), este tipo de carne no presenta el problema de ser PSE (*pale soft and exudative*) como el caso del cerdo (Monin, 1988), por lo que puede considerarse como una carne blanca, pero no exudativa (Hulot y Ouhayoun, 1999).

#### 1.5.4. Propiedades de Textura

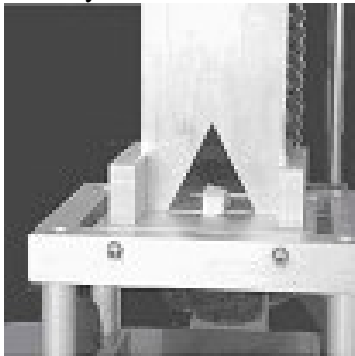
Las propiedades relacionadas con la textura son las características de calidad más apreciadas por el consumidor (Issanchou, 1996; Lawrie, 1998) y se caracterizan por ser difíciles de definir, ya que al igual que el color, las propiedades de textura de una misma muestra pueden tener diferente significado para cada persona. El contenido de colágeno tiene una relación directa con las propiedades de textura, habiéndose establecido esto a principios del siglo XIX por Lehman (1907). Scöfnelt & Naudé (1994) encontraron que la dureza aumenta con la edad y al parecer, está relacionada con el tejido conectivo y muy especialmente con las propiedades del colágeno. La concentración de colágeno no varía significativamente con el crecimiento del animal, pero es más insoluble a mayor peso y edad (Cross *et al.*, 1984). También se ha observado que la velocidad de maduración es más rápida en músculos blancos (contracción rápida), que en los músculos rojos (contracción lenta) (Ouali, 1990). Aunque según Chirstensen *et al.* (2000), quienes trabajaron con músculos glicolíticos y oxidativos de cerdo, la velocidad de glucólisis no depende de la composición de las fibras, sino de otros factores, como el pH y el potencial proteolítico de cada músculo. Blanchard y Mantle (1996), también encontraron cierta influencia del pH, tamaño de las fibras y haces musculares sobre las propiedades de textura, de forma que los músculos de mayor tamaño y los músculos de mayor velocidad de crecimiento post-natal, suelen tener haces de fibras grandes, mientras que las fibras de velocidad de

crecimiento menor tienen haces musculares pequeños y mejores características de textura. El tamaño de los haces musculares depende del número de fibras, del diámetro de las mismas y del grosor del perimio que las envuelve (Lawrie, 1998). Existen otros factores que influyen las propiedades de textura de la carne como: Especie, edad, género, condiciones de estrés ante-mortem, tipo de músculo, cantidad y solubilidad del colágeno, longitud del sarcómero, fuerza iónica y degradación miofibrilar (Koohmaraie, 1994). También se ha observado que la longitud del sarcómero se correlaciona con los valores de esfuerzo cortante de la carne de vacuno (Lepetit *et al.*, 2000) y del cordero (Wheeler *et al.*, 1994). Sin embargo, para la carne de conejo, la longitud del sarcómero no puede ser considerada como un indicador fiable de la ternura, ya que según Walker *et al.* (1995), en esta especie la longitud del sarcómero es probable que tenga poca relación con la maduración de la carne. El contenido de grasa intramuscular en la carne, tiene cierta influencia sobre las propiedades de textura (Gondret *et al.*, 1998a), ya que ejerce una función lubricante entre los dientes y la boca durante el proceso de masticación, mediante la disminución de la fuerza de fricción (McKenna, 1993).

Para evaluar la ternura de la carne, la mayoría de autores utilizan la prueba de corte, como el método de Warner-Bratzler (WB) (Honikel, 1997); también se utiliza el Análisis de Perfil de Textura (TPA), en el que se determinan propiedades de la carne relacionadas con la masticabilidad. Cada una de estas técnicas proporciona información que describe las propiedades de textura y se complementan entre sí. Ambas técnicas se realizan mediante el texturómetro, con el cual se obtienen medidas objetivas de las propiedades de textura, mediante el cálculo de la resistencia a la deformación o corte de una muestra al aplicar una fuerza dada. Para la obtención de resultados más fiables en las medidas de textura, Dransfield *et al.* (1980), sugieren realizar 6 mediciones de cada músculo, lo cual en el caso de los músculos de cerdo, cordero y ternera puede hacerse sin mayor problema, sin embargo, para el caso del *longissimus* de conejo, es muy difícil seguir ese criterio, debido al pequeño tamaño del

músculo (Combes *et al.*, 2001). En los ensayos de evaluación de las propiedades de textura, también es importante considerar dos factores fundamentales: el tamaño y geometría de las muestras, así como la dirección de las fibras en el momento del ensayo, ya que se ha observado que ambos tienen gran influencia sobre estas propiedades (Guerrero y Guàrdia, 1999; Murray & Martin, 1980).

Figura 1.5. Dispositivo para el ensayo de Warner-Bratzler



#### 1.5.4.1. Test de Warner-Bratzler

El ensayo de Warner-Bratzler (Figuras 1.5 y 1.6) es una prueba empírica utilizada ampliamente para medir la terneza en carne y productos cárnicos. En este ensayo intervienen fuerzas de tensión, corte y compresión (Bourne, 1982). En términos de estructura su interpretación es compleja, ya que reflejan la suma de todas las fuerzas aplicadas, pero

éstas no se distribuyen de manera uniforme entre todos los componentes de la carne.

Tabla 1.16. Definiciones y análisis dimensional de los parámetros del test de Warner-Bratzler (Modificada de Bourne, 1982) (Ver figura 1.6).

Parámetro mecánico	Descripción	Variable	Unidades
<b>Fuerza Máxima</b> ( <i>Shear Force</i> )	Fuerza máxima alcanzada para el corte completo de la muestra (también relacionado con la resistencia debida a los componentes del tejido conectivo).	Presión	$kg/cm^2$
<b>Fuerza de Ruptura</b> ( <i>Initial Yield Force</i> )	Primer punto de ruptura de la gráfica de medición de textura, relacionado con la los componentes miofibrilares.	Presión	$kg/cm^2$
<b>Pendiente Firmeza al corte</b> ( <i>Shear Firmness</i> )	Es la inclinación de la parte recta de la curva que se obtiene en la prueba de Warner-Bratzler, trazada desde el origen hasta el punto de fuerza máxima.	Velocidad	$kg/seg$
<b>Área</b> ( <i>Trabajo Total</i> )	Trabajo total necesario para el corte completo de la muestra	Trabajo	$kg \cdot seg$

En la tabla 1.16 se describen los parámetros mecánicos y las dimensiones en que generalmente se expresan los resultados del test de WB.

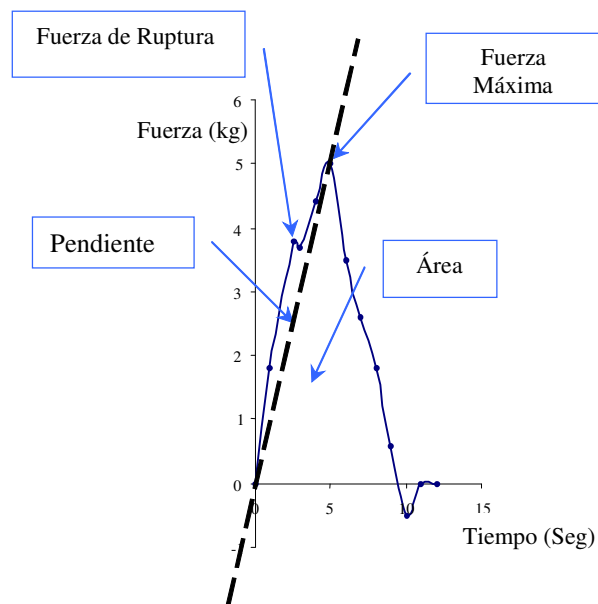
De acuerdo a varios autores (Honikel, 1997; Møller, 1980; Poste *et al.*, 1993) el ensayo de WB puede proporcionar información sobre las propiedades de textura debidas a los dos componentes estructurales de la carne, los miofibrilares y los del tejido conectivo, los cuales, dependen también de la orientación de las fibras.

Murray & Martín (1980)

analizaron el efecto de la orientación de las fibras por el método de WB en varios músculos de vacuno y encontraron que en el músculo *longissimus dorsi* a un ángulo de  $0^\circ$  (orientación de la cuchilla con respecto a la orientación de las fibras  $0^\circ$  = paralela a las fibras) la Fuerza Máxima era de 4.25 kg (e igual valor cuando se hizo a  $45^\circ$ ), mientras que a  $90^\circ$  la fuerza se incremento a 7.22 kg. En otros músculos como el *psoas major*, *semitendinosus* y *bíceps femoris*, los valores fueron diferentes en las tres orientaciones de la cuchilla.

Wheeler *et al.* (1994) midieron la Fuerza Máxima en el músculo *longissimus* de cordero a diferentes tiempos. La Fuerza Máxima a las 24 *post-mortem* fue de 7.85 kg y después de 14 días de maduración alcanzó los 2.79 kg, por lo que concluyeron que la dureza del músculo *longissimus* de cordero se debía a la longitud del sarcómero (longitud del sarcómero a 1 día *post-mortem* = 1.70  $\mu\text{m}$ ; y a 14 días *post-mortem* = 1.83  $\mu\text{m}$ ). Wattanachant *et al.* (2004),

Figura 1.6. Gráfico representando los valores del test de Warner-Bratzler.



encontraron para los músculos de pollo cocidos (*biceps femoris* y *pectoralis*), valores de Fuerza Máxima de 0.77 y 0.78 kg respectivamente. Estos valores nos dan una idea de los valores de Fuerza Máxima que pueden encontrarse para las variables de textura de los diferentes tipos de carnes.

Gran parte de los trabajos de textura en carne de conejo, se han realizado en *longissimus dorsi* y *biceps femoris*, ya que son músculos que se encuentran en las partes de la canal de mayor interés comercial (lomo y pierna).

En la tabla 1.17, se muestran algunos valores de las variables de textura determinadas por el método de Warner-Bratzler, en carne de diferentes especies, métodos de cocción y empleando diferentes tipos de texturómetros.

Tabla 1.17. Resultados de Fuerza Máxima (*Shear Force*), por el método de Warner-Bratzler, en músculo *longissimus* de diferentes especies, de acuerdo a varios autores y a diferentes condiciones de cocción (dimensiones de las muestras 1X1X2 cm, excepto para cerdo que fue 1.5X1.5X3cm).

Especie	Fuerza Máxima	U	Condiciones de cocción	Equipo	Autores
<b>Vacuno</b>					
<i>Culón</i>	4.92±1.43	kg	Grill 200°C, T <sub>Interna</sub> = 70°	Instron 2301	Panea, 2001
<i>Rústico</i>	4.33±1.44	kg	Grill 200°C, T <sub>Interna</sub> = 70°	Instron 2301	Panea, 2001
<b>Cerdo</b>					
<i>Landrace</i> <sup>1</sup>	6.63±2.93	kg	Horno a 250°C/ 20 min	Texture Analyzer	CTC/IRTA. 2003
<b>Conejo</b>					
<i>HyplusX INRA 1067</i>	37.5±3.5	N/cm <sup>2</sup>	En agua a 80°C/ 1 h	UTM <sup>2</sup> Synergie 2000	Combes <i>et al.</i> 2003

<sup>1</sup> Muestras cortadas 1.5X1.5X3 cm. (CTC/IRTA: Datos no publicados).

<sup>2</sup> UTM = Universal Test Machine.

En la tabla 1.18 se muestran algunos resultados para las variables de textura, obtenidas mediante el test de WB (Fuerza Máxima, Fuerza de Ruptura y Firmeza al Corte), en donde puede observarse que en este experimento, a mayor peso de canal la carne es menos dura, lo que puede tener alguna relación

con la mayor cantidad de grasa en el lomo al provenir de conejos de mayor edad (Dalle Zotte, 2002).

Tabla 1.18. Valores de las variables del test de WB, en músculo *longissimus* en canales de conejo a diferente peso.

Variable (Test WB)	Peso canal <sup>1</sup> (g)	Media
<b>Fuerza máxima</b> ( <i>Shear Force</i> )	Alto	4.88
	Medio	5.15
	Bajo	5.09
<b>Fuerza de ruptura</b> ( <i>Initial Yield Force</i> )	Alto	4.84
	Medio	5.12
	Bajo	5.05
<b>Firmeza al corte</b> ( <i>Shear Firmness</i> )	Alto	1.99
	Medio	2.12
	Bajo	2.04

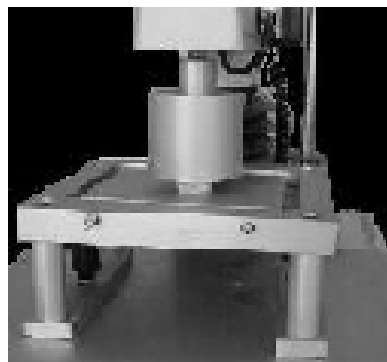
<sup>1</sup> Pla *et al.*, 1998. Peso canal: Alto: 2250-2350 g, Medio: 2000-2100 g, Bajo: 1750-1850 g.

Se han realizado otros trabajos relacionados con textura en carne de conejo, sin embargo, la metodología es muy variada respecto al tipo de músculo empleado y las formas de cocción de las muestras, por lo que los resultados son difíciles de comparar.

#### 1.5.4.2. Análisis del Perfil de Textura

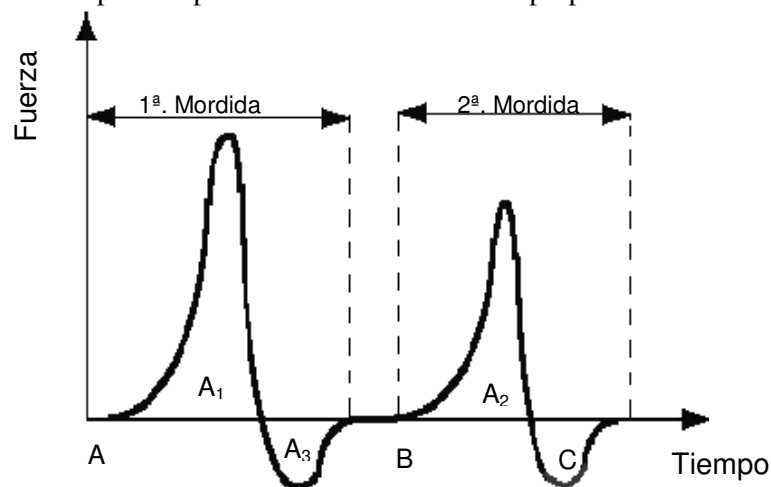
El análisis de perfil de textura (TPA) es uno de los ensayos de compresión más usados para alimentos (Figura 1.7). Con este análisis se obtiene el perfil de la fuerza que debe aplicarse para masticar un alimento, sometiendo una muestra, en dos ocasiones consecutivas, a una fuerza, simulando

Figura 1.7. Cilindro y placa para Análisis de Perfil de Textura (TPA).



el esfuerzo de la mandíbula al morder. Empleando valores bajos de tasas de compresión (20%) de las muestras de carne, es posible determinar el comportamiento de la estructura miofibrilar sin la intervención de tejido conectivo, debido a que las fibras se despliegan pero no han sufrido deformación y empleando tasas de deformación altas (80%), se determina la resistencia correspondiente al tejido conectivo (Lepetit y Culioli, 1994).

Figura 1.8. Gráfico representativo de una prueba de TPA mostrando las áreas empleadas para la determinación de las propiedades de textura.



“A” corresponde al inicio de la primera compresión, la Altura Máxima del primer pico (primer ciclo de compresión y Primera mordida); y “B” es el inicio de la segunda compresión. La “Fracturabilidad” se define como la fuerza del primer rompimiento significativo en la curva correspondiente a la primera mordida. La relación entre las áreas de fuerza positiva bajo las curvas de la 1ª y 2ª compresión ( $A_2/A_1$ ), se define como “Cohesividad”. El área de fuerza negativa de la 1ª mordida ( $A_3$ ), representa el trabajo necesario para tirar la muestra del embolo de compresión y se define como “Adhesividad”. La distancia (altura) que recupera el alimento desde el final de la primera mordida y el inicio de la segunda mordida (Distancia BC), se define como “Elasticidad”. Otros dos parámetros se derivan de los parámetros medidos, la “Gomosidad”, (calculada del producto de la DurezaXCohesividad) y la “Masticabilidad”, (definida como el producto de la gomosidadXElasticidad; o sea: DurezaXCohesividadXElasticidad) (Bourne, 1978)

Del gráfico de TPA se obtienen los parámetros que definen las propiedades de textura de determinado alimento, las cuales se describen en la figura 1.8, y en la tabla 1.19 se muestran las definiciones de los parámetros de textura obtenidos

mediante el ensayo TPA y el análisis dimensional de los parámetros resultantes de la determinación del perfil de textura. No existen datos disponibles en la bibliografía de TPA en carne de conejo.

Tabla 1.19. Descripción de los parámetros de textura obtenidos mediante el test TPA.

<b>Parámetro mecánico</b>	<b>Descripción</b>	<b>Variable</b>	<b>Unidades</b>
<b>Dureza</b>	Fuerza requerida para comprimir un alimento entre los molares. Altura Máxima del primer pico (primer ciclo de compresión y Primera mordida, figura 1.8).	Fuerza	$kg \cdot m \cdot s^{-2}$
<b>Cohesividad</b>	La fuerza que los enlaces internos hacen sobre el alimento.	Relación	<i>Adimensional</i>
<b>Elasticidad</b>	La extensión a la que un alimento comprimido retorna a su tamaño original cuando se retira la fuerza.	Distancia	<i>m</i>
<b>Adhesividad</b>	El trabajo requerido para retirar el alimento de la superficie.	Trabajo	$kg \cdot m^2 \cdot s^{-2}$
<b>Fracturabilidad</b>	La fuerza a la que el material se fractura (Los alimentos frágiles nunca son adhesivos).	Fuerza	$kg \cdot m \cdot s^{-2}$
<b>Masticabilidad</b>	La energía requerida para masticar un alimento sólido hasta que está listo para ser ingerido.	Trabajo	$kg \cdot m^2 \cdot s^{-2}$
<b>Gomosidad</b>	La energía requerida para desintegrar un alimento semisólido de modo que está listo para ser ingerido.	Fuerza	$kg \cdot m \cdot s^{-2}$

*kg = kilogramos; m = metro; s = segundo.*

Con relación a las propiedades de los alimentos sólidos y semisólidos, Szczesniac (1995), propone que la Masticabilidad y la Gomosidad no deberían ser consideradas para ambos tipos de alimentos, debido a que cada grupo tiene características diferentes. Los productos semisólidos sufren una deformación permanente, por lo tanto no tienen elasticidad y es incorrecto cuantificar la Masticabilidad y la Gomosidad en TPA de productos sólidos. De tal manera que para los productos sólidos, Szczesniac (1995) sugiere que se haga referencia a la Masticabilidad y que la Gomosidad se aplique a productos semi-sólidos.



#### 1.5.4.3. Maduración de la carne

Después de la muerte del animal y al cesar el aporte de oxígeno al músculo, tienen lugar los cambios estructurales y bioquímicos que constituyen la transformación de músculo a carne. En esta conversión se distinguen dos fases:

- a). Durante la primera se desarrolla el *rigor mortis* y el músculo alcanza una dureza máxima. Este proceso es paralelo a la disminución del ATP, disminución del pH hasta cerca de 5.5 y a la liberación lenta del  $\text{Ca}^{++}$  de las reservas intracelulares.
- b). La segunda fase se caracteriza por una gradual mejora en la textura durante la etapa *post-mortem*. El almacenamiento *post-mortem* o acondicionamiento (*ageing*) de la carne ha sido considerado como esencial para la obtención de carne tierna. Además, durante el proceso de maduración las proteínas y los lípidos se degradan sufriendo alteraciones que darán como resultado los compuestos precursores del aroma y el sabor final de la carne (Campo, 1999). Esta fase es más o menos larga dependiendo de la especie animal y el tipo de músculo (Dransfield *et al.* 1980-81).

El proceso de maduración de la carne involucra varios procesos bioquímicos, entre ellos el rompimiento de las proteínas miofibrilares por proteinasas endógenas, primeramente en la unión de las bandas A e I, así como la fragmentación de las líneas Z, también asociada con la pérdida de troponina-T (Penny & Dransfield, 1979). Con la liberación de las proteinasas, comienza la degradación miofibrilar produciendo posteriormente el ablandamiento lento. Entre ellas, las proteasas calcio-dependientes (calpaínas) parecen ser las más importantes aunque según algunos autores también las catepsinas, enzimas lisosomales, pueden estar involucradas (Koohmaraie, 1994; Ouali, 1990a; Roncalés *et al.*, 1995). En la tabla 1.20 se muestran la clasificación de las principales proteinasas del músculo y sus características.

## 1.5.4.3.1. Proteinasas musculares

Las calpaínas forman parte de la clase de cisteinproteinasas, actúan a un pH óptimo de 7- 7.5 y requieren de calcio para su actividad.

Este sistema de proteinasas consta de al menos tres componentes bien documentados, dos proteinasas, calpaína I ó  $\mu$ -calpaína y la calpaína II ó m-calpaína, y un inhibidor específico de las mismas (calpastatina) (Roncalés *et al.*, 1995). La m-calpaína necesita concentraciones milimolares de calcio para su actividad, mientras que la  $\mu$ -calpaína requiere solamente concentraciones micromolares del catión para su activación. Durante el almacenamiento *post-mortem* los niveles de m-calpaína permanecen casi constantes, pero la actividad de la  $\mu$ -calpaína disminuye rápidamente. Por esta razón, Koohmaraie (1988) sugiere que solo la  $\mu$ -calpaína está involucrada en la maduración.

Tabla 1.20. Principales proteinasas del músculo y sus características.

Sistema Enzimático	Reguladores	pH Óptimo	Localización
<b>Calpaínas</b> • $\mu$ -Calpaína (I) • m-Calpaína (II) • Calpaína-3	Calcio pH Fosfolípidos Activadores Inhibidores (calpastatina)	7.5	Citoplasma
<b>Catepsinas</b> • Catepsina B • Catepsinas D • Catepsinas H • Catepsinas L	Grado de liberación de los lisosomas Inhibidores (cistatinas)	4.0-6.0	Lisosomas
<b>Proteínasa Multicatalítica (MCP)</b>	pH Inhibidores	7.5-8.0	Citoplasma

Una vez activadas, las calpaínas sufren autólisis y gradualmente pierden su actividad. También se sabe que las calpaínas degradan a la troponina-T, nebulina, titina y desmina, pero no a la actina, miosina y  $\alpha$ -actinina (Demeyer, 1995).

Las catepsinas son proteinasas que se encuentran en casi todos los tejidos animales. Estas enzimas se hallan normalmente encerradas en unas estructuras membranosas, los lisosomas. Se ha demostrado que existen ocho catepsinas en el músculo esquelético (Goll *et al.*, 1989), entre ellas se incluyen las catepsinas A, B, C, D, H, L, J y la carbopeptidasa lisosomal B. Las catepsinas B, D, H, y L, parecen tener una gran actividad en las células del músculo esquelético (Goll *et al.*, 1983) y son activas a pH ácidos (3.0-6.0; 2.5-4.5; 5.0-7.0 y 3.0-6.0, respectivamente; Etherington, 1984). Su actividad está controlada por inhibidores de proteasas, principalmente, las cistatinas, que están localizadas en el citoplasma y probablemente protejan a la célula contra proteólisis indeseadas. (Barrett, 1977; Bond, 1987). Según resumen Roncalés *et al.* (1995), existen algunos factores que apoyan la teoría de que las catepsinas no intervienen en la maduración, entre ellos, su ubicación lisosomal, las bajas temperaturas usadas para la maduración de la carne, la presencia de fuertes inhibidores en el sarcoplasma y el hecho de que el pH del músculo *post mortem* esté lejos de su pH óptimo. Sin embargo los siguientes argumentos apoyan una participación parcial de las catepsinas en la maduración, después de ser liberadas de los lisosomas en el músculo *post-mortem*:

- Existen similitudes entre los cambios estructurales de las miofibrillas durante el acondicionamiento y con el tratamiento con catepsinas (Mikami *et al.*, 1987 y Ouali, 1990);
- El acidificación a temperaturas superiores a las de refrigeración da lugar a cambios proteolíticos no imputables a la acción de las calpaínas (Etherington *et al.*, 1990);

- El incremento de terneza obtenido con los tratamientos de estimulación eléctrica, altas presiones o altas temperaturas, se explican por un aumento en la actividad proteolítica de las enzimas lisosomales liberadas.

La acidificación del músculo durante la instauración del *rigor mortis*, va acompañada, paralelamente de un incremento en la presión osmótica, el cual podría influir de manera importante en el proceso de maduración. El incremento en estos valores de presión osmótica va desde 300 hasta 500-600 mOsmol, casi el doble que en el animal vivo. Dependiendo del tipo de músculo, la presión osmótica alcanzada al final del *rigor mortis*, correspondería a una fuerza iónica de 0.24-0.30. Estos valores de fuerza iónica son lo suficientemente altos para debilitar la estructura miofibrilar y hacerla más susceptible a la proteólisis, por lo que algunos autores sugieren la posibilidad de una acción sinérgica entre la fuerza iónica y las proteinasas en el proceso de maduración de la carne (Ouali, 1990, 1992; Wu y Smith, 1987).

#### 1.5.4.3.2. Principales cambios en la estructura miofibrilar

De acuerdo con varios autores (Bailey, 1972; Dabrowska, 1973; Mestre Prates *et al.*, 2001; Negishi *et al.*, 1996) los principales cambios en la estructura miofibrilar producidos durante la maduración (10-15 días a 4°C) son:

- a) La miofibrilla y parte de las proteínas miofibrilares aparentan estar intactas. Destaca al microscopio electrónico la degradación de la cadena pesada de miosina.
- b) Los mayores cambios estructurales son la separación y pérdida de la estructura de la línea Z y algo de la línea M y la degradación de la estructura del sarcómero en la unión entre la línea Z y las bandas I; las bandas A e I permanecen intactas.
- c) Durante este periodo (después del *rigor mortis*) el complejo acto-miosina cambia, se alargan las miofibrillas y tiene lugar la desaparición del ATP, por lo que los filamentos se deslizan.
- d) Aparecen fragmentos proteicos de 34 000; 30 000 y 27 000 Da.

e) Aumenta la capacidad de extracción de las proteínas miofibrilares.

La actina y miosina de los músculos *psoas major*, *minor* y *semitendinosus* de becerros, novillas y vacas, después de 12 días de maduración no sufren cambios (Kolczac *et al.*, 2003). Para el caso de la carne de conejo, Mestre Prates *et al.* (2002), encontraron un debilitamiento al nivel de la línea-N<sub>2</sub> en la estructura miofibrilar en conejo, por lo que sugieren que las cisteinendopeptidasas podrían ser las principales responsables de la maduración en este tipo de carne. De igual forma Koohmaraie (1994) y Taylor *et al.* (1995), observaron una mejora en la textura con el rompimiento transversal del sarcómero al nivel de la línea N<sub>2</sub>. Sotelo *et al.* (2004) observaron la microestructura después de 24 h *post-mortem* y encontraron que prácticamente todos los tejidos del perimisio, endomisio y conectivo se destruyen a las 24 horas, mientras que sólo tiene lugar una pequeña degradación de las miofibrillas y Senesi *et al.* (1975), recomiendan que para obtener mayor terniza de una carne de conejo se almacene durante 15 días a + 2°C.

#### 1.5.4.3.3. Otros factores que influyen en la terniza

Dentro de una misma especie, la terniza de la carne es consecuencia de diversos factores, como la edad del animal y el tipo de músculo y el fenómeno denominado acortamiento por frío.

De un animal de mayor edad se obtiene carne más dura que de un animal joven, debido principalmente al incremento en la cantidad y características de su tejido conectivo, es decir, su mayor contenido de enlaces cruzados (Bailey & Light, 1989; Harris & Shorthose, 1988). Dransfield *et al.* (1981), encontraron para carne de vacuno, ternera y conejo, que el 80% de la terniza se alcanza entre 4.9 y 9.5 días, según la especie. Además, los valores de Fuerza Máxima (*Shear Force*) obtenidos para las carnes de cordero (4.3 kg) y ternera (4.4 kg), fueron menores que los de vacuno (5.8 kg), conejo (5.4 kg) y cerdo (5.3 kg). Para obtener carne en condiciones de terniza óptimas, en los países

del Norte de Europa e Inglaterra se acostumbra a almacenar la carne de ternera hasta 2 semanas en refrigeración (López y Carballo, 1991).

Las diferencias en terneza según los distintos músculos, están estrechamente relacionadas con el tipo de fibras (velocidad de contracción, metabolismo predominante, contenido de glucógeno). La susceptibilidad a la proteólisis y las variaciones de presión osmótica *post-mortem*, varían también entre tipos de músculos y pueden explicar en parte las diferencias en la terneza final (Ouali, 1992). La caída del pH también depende de las características del músculo (Delmas & Ouhayoun, 1990), ya que la capacidad de acidificación de la carne será determinada por el contenido de glucógeno muscular (Lambertini *et al.*, 1996), afectando a su vez las características de las proteínas y por consecuencia la terneza al final del proceso de acondicionamiento de la carne.

La dureza de la carne también puede resultar del enfriamiento rápido, después del sacrificio del animal (*Cold Shortening*). Este defecto consiste en la contracción excesiva de las miofibrillas debida a un enfriamiento *pre-rigor* y se debe a la liberación de los iones calcio del retículo sarcoplásmico a temperaturas inferiores a 15-16°C provocando una contracción y acortamiento del músculo superior a lo normal; este fenómeno también se presenta cuando se descongelan los músculos que fueron congelados antes de la instauración del *rigor mortis* (*rigor* de descongelación) (Lawrie, 1998). Las canales con menor peso y/o magras son generalmente más susceptibles a este defecto ya que la cantidad de grasa que contienen es limitada e insuficiente para aislar al músculo (Strom, 2001). La dureza alcanzada como resultado del acortamiento por frío (*cold shortening*), no mejora con el acondicionamiento de la carne.

Otro factor fundamental para obtener óptimas condiciones de terneza de la carne (y pocas veces considerado), es la temperatura de cocción, ya que la terneza disminuye al aumentar el grado de cocción (Wheeler, 1999). Por esta causa, el tiempo, temperatura y forma de cocción, son condiciones de importancia relevante y que deben tomarse en cuenta para la evaluación de las propiedades de textura, ya que de ellas dependerán, en gran medida, las

características finales de textura de la carne (Koohmaraie, 1996). En este sentido, la velocidad de maduración se incrementa cuando la temperatura aumenta, incluso se lleva a cabo durante la cocción, pero cesa a 66°C (Davey & Gilbert, 1976).

**BIBLIOGRAFÍA**

- Alasnier, C., Viau, M. & Gandemer, G. 1994. Lipid composition of two rabbit muscles of opposite metabolic type. En: *Proceedings 40th. International Congress of Meat Science and Technology*. The Hague, The Netherlands. pp. SIV-B.44/1.
- Alasnier, C., Réminon, H. & Gandemer, G. 1996. Lipid characteristics associated with oxidative and glycolitic fibres in rabbit muscles. *Meat Science*, **43**, 213 - 224.
- Alasnier, C. & Gandemer, G. 1998. Fatty acid and aldehyde composition of individual phospholipid classes of rabbit skeletal muscle is related to the metabolic type of the fibre. *Meat Science*, **48**, 225-235.
- Allen, C.E.& Foegeding, E.A. 1981. Some lipid characteristics and interactions in muscle. A review. *Food Technology*, **35**, 253-257.
- Asghar, A., Lin, C.F., Gray, J.I., Buckley, D.J., Booren, A.M. & Flegal, C.J. 1990. Effect of dietary oils and alfa tocoferol supplementation on membranal lipid oxidation in broiler meat. *J. Food Science*, **55**, 46-50.
- Ashmore, C.R. and Doerr, L. 1971. Comparative aspects of muscle fibre types in different species. *Exper. Neurol.*, **31**, 408-418.
- Bailey, A.J. 1972. The basis of meat texture. *J. Science Food and Agriculture*, **23**, 995-1007.
- Bailey, A.J. and Light N.D. 1989. The role of connective tissue in determining the textural quality of meat. En: *Connective tissue in meat and meat products*. Ed. Elsevier Applied Science London UK. pp. 170-194.
- Bandman E. 1987. Chemistry of animal tissues. Part 1. Proteins. En: *The Science of Meat and Meat Products*. Eds.: Price, J.F.& Schweigert. B.S. pp. 61-102.



- Barrett, A.J. 1977. Intruction to the story and classification of tissue proteinases. En: Proteinases in mammalian cells and tissues. Ed.: A.J. Barret. Elsevier/North Holland, pp 1-19.
- Barton-Gade, P.A., Demeyer, D. Honikel, K.O., Joseph, R.L. Poulanne, E. Severini, M., Smulders, F. and Tornberg, E. 1994. Final Version of reference methods for water holding capacity in meat and meat products: Procedures Recommended by OECD Working Group and presented at the 39th. ICOMST in 1993. En: *Proceedings of International Congress of Meat Science and Technology*, The Hague, Netherlands S-V.05.
- Bate-Smith, E.C. and Bendall, J.R. 1949. Factors determining the time course of *rigor mortis*. *J. Physiology*. **110**, 47-65.
- Battaglini, M.B., Castellini, C., Lattaiolo, P. 1994. Rabbit carcass and meat quality: Effect of strain, rabbitry and age. *Italian Journal Food Science*. **2**, 157-166.
- Bechtel, P. J. 1986. *Muscle development and contractile proteins*. En: *Muscle as Food*. Ed.: P.J. Bechtel, Food Science and Technology. En: Series of monographs. Academic Press, Inc., Orlando, Florida. pp. 2-35.
- Belitz, H.D. & Grosh, W. 1988. Lípidos. En: *Química de los Alimentos*. 2ª. Ed. Ed. Acribia. Zaragoza, España. pp 133-210.
- Bendall, J.R. 1973. Post-mortem change in muscle. En: *Structure and functions of muscle*. Ed. Bourne G.H. Academic Press, New York, USA, 243-309.
- Bernardini-Battaglini, M. Castellini, C. & Lattaioli, P. 1994. Rabbit carcass and meat quality: effect of strain, rabbitry and age. *Italian Journal of Food Science*, **2**, 157- 166.
- Bielansky, P., Zajac, J., Fijal, J. 2000. Effect of genetic variation of growth rate and meat quality in rabbits. En: *Proceedings 7th. World Rabbit Congress*, Valencia, Spain. pp. 561-566.

- Blanchard, P.J. and Mantle, D. 1996. Comparison of proteolytic enzyme levels in chicken, pig, lamb and rabbit muscle at point of slaughter: Role in meat tenderisation *post-mortem*. *J. Food and Agriculture*, **71**, 83-91.
- Blasco A. and Piles M. 1990. Muscular pH of the rabbit. *Annales Zootechnie*, **39**, 133-136.
- Blasco, A., Ouhayoun, J., Masoero, G. 1993. Harmonization of criteria and terminology in rabbit meat research. *World Rabbit Science*, **1**, 3-10.
- Blasco, A., Piles, M., Rodríguez, E. & Pla, M. 1996. The effect of selection for growth rate on the live weight growth curve in rabbits. En: *Proceedings of 6<sup>th</sup> World Rabbit Congress*, **2**, 245-248. Toulouse.
- Bolet, G., Brun, J.M., Monnerot, M., Abeni, F., Arnal, C., Arnold, J., Bell, D., Bergoglio, G., Besenfelder, U., Bosze, S., Boucher, S., Chanteloup, N., Ducourouble, M.C., Durand-Tardif, M., Esteves, P.J., Ferrand N., Gautier, A., Haas, C., Hewitt, G., Jehl, N., Joly, T., Koehl, P.F., Laube, T., Lechevestrier, S., López, M., Masoero, G., Menigoz, J.J., Piccinin, R., Queney, G., Saleil, G., Surridge, A., van der Loow, W., Vicente, J.S., Viudes de castro, M.P., Virag, J.S. & Zimmermann, J.M. 2000. Evaluation and conservation of European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). Genetic resources, first results and inferences. En: *Proceedings 7th World Rabbit Congress*. Vol. A, 281-316.
- Bond, J.S. and Buttler, P.E. 1987. Intracellular proteases. *Ann. Rev. Biochim.* **74**, 267-273.
- Bonnet, M., and Kopp, J. 1984. Dosage du collagène dans les tissus conjonctifs, la viande et les produits carnés. *Cah. Techn. INRA*, **5**, 19-30.
- Bosselman, A., Möller, C., Steinhart, H., Kirchessner, M. & Schwarz, F.J. 1995. Pyridinolinoline cross-links in bovine muscle collagen. *J. Food Science*, **60**, 953-958.
- Bourne, M. 1978. Texture Profile Analysis. *Food Technology*, **32**, 7, 62-66.

- Bourne, M.C. 1982. Food Texture and Viscosity. Academic Press. New York.
- Brenner, R.R. 1981. Nutritional and hormonal factors influencing desaturation of essential fatty acids. *Prog. Lipid Research*, **20**, 41-47.
- British Nutrition Foundation. 1996. Diet and heart disease: A round table of facts, Ed. M Ashwell, 2ed., BNF, London.
- Brooke, M. H. & Kaiser, K.K. 1970a. Muscle fibre types: How many? and What kind? *Arch. Neurol.* **23**, 369-379.
- Brooke, M. H. & Kaiser, K.K. 1970b. Three myosin adenosin triphosphatase systems: the nature of their pH lability and sulphhydryl dependence. *J. Histochem. Cytochem.*, **18**, 670-672.
- Brooks, C.C. 1971. Fatty acid composition of pork lipids as affected by basal diet, fat source and fat level. *J. Animal Science*, **33**, 1224-1231.
- Cabanes, A. 1996. Qualités de la viande de lapin facteurs de variation des qualités organoleptiques et caracteres corrélés. *Viandes Prod. Carnés*, **17**, 10-16.
- Cambero, M.I., de la Hoz, L., Sanz, B., Ordóñez, J.A. 1991. Lipid and fatty acid composition of rabbit meat: Part I – Apolar fraction. *Meat Science*, **29**, 153-166.
- Campo, M.M. 1999. Influencia de la Raza, sobre la textura y las características sensoriales de la carne bovina a lo largo de la maduración. *Tesis Doctoral*. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. España.
- Cantoni, C., Bianchi, M.A., Bereta, G. 1975. Variazioni del pH in carni di suino e di coniglio. *Arch. Veter. Ital.* **26**, 133-136.
- Cassens, R.G. 1994. *Meat Preservation*. Preventing losses and assuring safety. Food & Nutrition Press, Inc. U.S.A. pp. 11-31.
- Christensen, M., Henkel, P. & Purslow, P.P. 2000. Does *post-mortem* proteolysis depend on fibre type distribution? En: *Proceedings of 46th. International*

- Congress of Meat Science and Technology (ICoMST)*. Argentina. pp. 472-473.
- Commission Internationale de l'Éclairage (CIE). 1976. *Colorimetry*. Publication No. 15. Bureau Central de la CIE, Vienna, Austria.
- Cobos, A., Cambero, M.I., Ordoñez, J.A. y Hoz, L. 1992. Rabbit Meat Fatty acids as affected by diet fat. En: *Proc. 38th. International Congress of Meat Science and Technology (ICoMST)*. Clermont-Ferrand, France. 2, 17-20.
- Cobos, A., Cambero, M., Ordoñez, J., de la Hoz, L. 1993. Effect of fat-enriched diets of rabbit meat fatty acid composition. *J. Science Food and Agriculture*. **62**, 83-88.
- Cobos, A., de la Hoz, L., M.I., Cambero, J.A., Ordoñez. 1994. Revisión de la influencia de la dieta animal en los ácidos grasos de los lípidos de la carne. *Revista Española de Tecnología de Alimentos*. **34.**, 35-51.
- Combes, S., Larzul, C., Gondret, F., Cauquil, L., Darche, B. & Lebas, F. 2001. Tendreté mécanique du muscle *Longissimus dorsi* de lapin: étude méthodologique. In: *9èmes. Journ. Rech. Cunicole*. Paris. pp. 3 – 6.
- Combes, S., Lepetit, J.; Darche, B. & Lebas, F. 2003. Effect of cooking temperature and cooking time on Warner-Bratzler tenderness measurement and collagen content in rabbit meat. *Meat Science*, **66**, 91-96.
- Corino, C., Filetti, F., Gambacorta, M., Manchisi, A., Magni, S., Pastorelli, G., Rossi, R. & Maiorano, G. 2003. Influence of dietary conjugated linolenic acids CLA and age at slaughtering on meat quality and intramuscular collagen in rabbits. *Meat Science*, **66**, 97-103.
- Cross, H.R., Crouse, J.D., Macneil, M.D. 1984. Influence of breed age and electrical stimulation on carcass palatability traits on three bovine muscles. *J. Animal Science*, **58**, 1358-1365.
- CTC/IRTA. 2003. Datos no publicados.

- Culioli, J., Touraille, C., Bordes, P. & Girard, J.P. 1990. Caractéristiques des carcasses et de la viande du poulet "label fermier". *Archiv. Für Geflügelkunde*, **54**, 237-245.
- Dabrowska, R., Baryeko, B., Nowak, E. and Drabikowski, W. 1973. The origin of 30,000 Dalton protein in troponin preparations. *FEBS Letters*. **29**, 3, 239-242.
- Dal Bosco, A., Castellini, C. and Bernardini, C. 2001. Nutritional quality of rabbit meat as affected by cooking procedure and dietary vitamin E. *J. Food Science*. **66**, 1047-1051.
- Dal Bosco, A., Castellini, C., Bienchi, L. and Mugnai, C. 2004. Effect of dietary  $\alpha$ -linolenic acid and vitamin E on the fatty acid composition, storage stability and sensory traits of rabbit meat. *Meat Science* **66**, 407-413.
- Dalle Zote, A. 2000. Propriétés spécifiques de la viande de lapin. En: *Proceedings of the Jornadas Internacionais de Cunicultura*, UTAD – Vila Real Portugal, pp. 101-110.
- Dalle Zote, A., Chiericato, G. M. & Rizzi, C. 2001. Effet de la restriction alimentaire de la lapine nullipare sur le profile en acides gras des lipides des muscles des lapins issus de la première mise bas. Edited by P. o. t. è. J. d. l. R. *Cunicole*. Paris, France.
- Dalle Zote, A. 2002. Perception of rabbit meat quality and major factors influencing the rabbit carcass and meat quality. *Livestock Production Science* **75**, 11-32.
- Davey, C.L. and Gilbert, K.V. 1976. The temperature coefficient of beef ageing. *J. Food and Agriculture*, **27**, 244-250.
- Delmas, D., Ouhayoun, J. 1990. Technologie de l'abattage du lapin. I. Etude descriptive de la musculature. *Viandes Prod. Carnés*, **11**, 11-14.

- Demeyer, D. 1995. Meat texture improvement: origins and mechanisms involved. En: Expression of tissues proteinases and regulation of protein degradation as related to meat quality. Ed. Ouali, A., Demeyer, D., Smulders, F. ECCEAMST [INRA, OECD, París].
- Denny Brown, D.E. 1929. The histological features of striped muscle in relation to its functional activity. *Proc. Roy. Soc., London, Series B*, **104**, 371.
- Department of Health and Social Security UK. 1994. Nutritional aspects of cardiovascular disease (Report on Health and Social subjects No. 46). H.M. Stationery Office, London.
- Din, J.N., Newby, D.E., Flapan, A.D. 2004. Omega 3 fatty acids and cardiovascular disease-fishing for a natural treatment. *British Medical Journal*, **328**, 30-35.
- Dransfield, E., Halliday, J.H. and Mac Fie, H.J.H.. 1980. Precision in the measurement of meat texture. *J. Food Agriculture*, **31**, 62-66.
- Dransfield, E., Jones, R.C.D. and Mac Fie, H.J.H. 1980-1981. Tenderising in *M. longissimus dorsi* of beef, veal, rabbit lamb and pork. *Meat Science*, **5**, 139-147.
- Dubowitz, V. Pearse, A.G.E. 1960a. Reciprocal relationship of phosphorilase and oxidative enzymes in skeletal muscle. *Nature*, **185**, 701-702.
- Dubowitz, V., Pearse, A.G.E. 1960b. A comparative histochemical study of oxidative enzyme and phosphorylase activity in skeletal muscle. *Histochemie*, **2**, 105-117.
- Engel, W.K. 1962. The essentiality of histo and cytochemical studies of skeletal muscle in the investigation of neuromuscular disease. *Neurology*, **12**, 778-784.

- Enser, M., Hallet, K., Hewett, B., Fursey, G. A. J. & Wood, J. D. 1996. Fatty acid content and composition of English beef, lamb and pig at retail. *Meat Science*, **42**, 443-456.
- Enser, M., Hallet, K. G., Hewett, B., Fursey, G. A. J., Wood, J. D. & Harrington, G. 1998. Fatty acids content and composition of UK beef and lamb muscle in relation to production system and implications for human nutrition. *Meat Science*, **49**, 329-341.
- Essén-Gustavson, B., Fjelkner-Modig, S. 1985. Skeletal muscle characteristics in different breeds of pigs in relation to sensory properties of meat. *Meat Science*, **13**, 33-47.
- Etherington, D.J. 1984. The contribution of proteolytic enzymes to postmortem changes in muscle. *J. Animal Science*, **59**, 1644-1650.
- Etherington, D.J., Taylor, M.A.J. Wakefield, D.J., Cousins, A., Dransfield, E. 1990. Proteinase (cathepsin B, D,L and calpains) levels and conditioning rates in normal, electrically stimulated and high-ultimate-pH chicken muscle. *Meat Science*, **28**, 99-109.
- Fisher, W. and Rudolph, W. 1979. Einfluss des Schlachters auf einige Merkmale der Schlachtkörperqualität von Broiler-Kaninchen. *Wiss. Z. Wilhelm-Pieck – Univ Rostock*, **28**, 179-182.
- Fraga, M. J., De Blas, J. C., Pérez, E., Rodríguez, J. M., Pérez, C. J. & Gálvez, J. F. 1983. Effect of diet on chemical composition of rabbits slaughtered at fixed body weights. *J. Animal Science*, **56**, 1097-1104.
- Gauthier, G.F. 1970. The ultrastructure of the three types of mammalian skeletal muscle. En: *The Physiology and Biochemistry of Muscle as Food*, 2 Eds.: E.J. Briskey, R.G. Cassens, B.B. Marsh. The University of Wisconsin Press pp. 103-130.
- Gerrard, 1985. *Prostaglandins and leukotrienes*. Marcel Dekker. New York.

- Gil, M., Serra, X., Gispert, M., Oliver, M. A., Sañudo, C., Panea, B., Olleta, J. L., Campo, M., Oliván, M., Osoro, K., García-Cachán, M. D., Cruz-Sagredo, R., Izquierdo, M., Espejo, M., Martín, M. & Piedrafita, J. 2001. The effect of breed-production systems on the myosin heavy chain I, the biochemical characteristics and the colour variables of *longissimus thoracis* from seven Spanish beef cattle breeds. *Meat Science*, **58**, 181-188.
- Gil, M., Oliver, M.A., Gispert, M., Diestre, A., Sosniki, A.A., Lacoste, A., Carrión, D. 2003. The relationship between pig genetics, myosin heavy chain I, biochemical traits and quality of *longissimus thoracis*. *Meat Science*, **65**, 1063-1070.
- Goldspink, G. 1983. Alterations in myofibril size and structure during growth, exercise and changes in environmental temperature. En: *Handbook of Physiology*, Section 10 – *Skeletal Muscle*. Ed.: Peachey. L.D. American Physiological Society, Bethesda, Maryland, pp. 539-554.
- Goll., D.E., Otzuka, Y., Nagainis, P.A., Shannon, J.D., Sathe, S.K. and Muguruma, M. 1983. Role of muscle proteinases in maintenance of muscle integrity and mass *J. Food Biochemistry*, **7**, 137-177.
- Gondret, F., Juin, H., Mourot, J. & Bonneau, M. 1998a. Effect of age at slaughter on chemical traits and sensory quality of *longissimus lumborum* muscle in the rabbit. *Meat Science*, **48**, 181-187.
- Gondret, F. & Bonneau, M. 1998b. Mise en place des caractéristiques du muscle chez lapin et incidence sur la qualité de la viande. *INRA Prod. Anim.*, **11**, 335-347.
- Gorza, L. 1990. Identification of a novel type 2 fibre population in mammalian skeletal muscle by combined use of histochemical myosin ATP-ase and anti-myosin monoclonal antibodies. *J. Histochem. Cytochem.*, **38**, 257-265.



- Griffiths, T.W., Gandemer, G., Viau, M. Vedrenne, P. 1989. Polyunsaturated fatty acid (PUFA) content of rabbit meat: a potential source of PUFA for human nutrition. *Proc. Nutr. Soc.*, **48**, 5A.
- Guerrero, L. y Guàrdia, D. 1999. Evaluación de la terneza en carne de ternera: Relación entre las medidas sensorial e instrumental según la dirección de las fibras musculares. *VIII Jornadas sobre Producción Animal*, Vol. Extra, No. **20**. Tomo I.
- Hämäläinen, N., Pete, D. 1993. The histochemical profiles of fast fiber types IIB, IID and IIA in skeletal muscles of mouse, rat and rabbit. *J. Histochem. Cytochem.* **41**, 733-743.
- Harris, P.V. & Shorthose, W.R. 1988. Meat Texture. En: *Developments in meat Science*. Advances in meat research, Vol. IV. Ed. Lawrie, R.A. Elsevier Applied. London and New York, pp. 245-296.
- Higgs, J.D. & Mulvihill, B. 2002. Henancing the nutritional value of meat. En: *Nutrition Handbook of Food Processors*. Ed. Henry, C.J.K., Chapman, C., Woodhead Publishing Limited. Cambridge, England.
- Hitchcock, C. H. S. & Crimes, A.A. 1983. Modern Techniques and applications in immunoassay. *Modern Techniques in Immunoassay*, 413-415.
- Holownia, K., Chinnan, M.S., Reynolds, A.E. and Koehler, P.E. 2003. Evaluation of induced color changes in chicken breast meat during simulation of pink color defect. *Poultry Science*, **82**,1049 –1059.
- Honikel, K.O. 1997. Reference methods supported by OECD and their use in Mediterranean meat products. *Food Chemistry*, **59**: 4, 573-582.
- Honikel, K.O. 1998. Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. *Meat Science*, **49**, 447-457.
- Hu, F.B. & Willett, W.C. 2002. Optimal diets for prevention of coronary heart disease. *J. Amer. Med. Assoc.*, **288**, 20 2569-2578.

- Hulot, F. and Ouhayoun, J. 1999. Muscular pH and related traits in rabbits: A review. *World Rabbit Science*, **7**, 15-36.
- Issanchou, S. 1996. Consumer expectations and perceptions of meat and meat products quality. *Meat Science*, **43** S, S5 - S19.
- Karlsson, A., Enfält, A. C., Essén-Gustavson, B., Lundström, K., Rydhmer, L. & Stern, S. 1993. Muscle histochemical and biochemical properties in relation to meat quality during selection for increased lean tissue growth rate pigs. *J. Animal Science*, **71**, 930-938.
- Karlsson, A., Klont, R. & Fernandez, X. 1999. Skeletal muscle fibres as factors for pork quality. *Livestock Production Sciences*, **60**, 255-269.
- Klont, R.E., Brocks, L. & Eikelenboom, G. 1998. Muscle fibre type and meat quality. *Meat Science*, **49**, Supl. 1. pp. S219- S229.
- Knight, P. and Trinick, J. 1987. En *Fibrous Protein Structure*. Cap. 10. Ed. John M. Squire and Peter J. Vibert. Academic Press Limited, London.
- Kolkzac, T., Pospiech, E., Palka, K. & Lacki, J. 2003. Changes of myofibrillar and centrifugal drip proteins and shear force of *psoas major* and *minor* and *semitendinosus* muscles from calves, heifers and cows during *post-mortem* ageing. *Meat Science*, **69**, 69-75.
- Komprda, T., Zelenka, J., Tieffova, M., Stohandlova, M. and Foltyn, J. 1999. Effect of the growth intensity on cholesterol and fatty acids content in broiler chicken breast and thigh muscle. En: *Proceedings of the XIV European Symposium on the quality of poultry Meat*, Bologna, Italy, pp. 123-128.
- Koohmaraie, M. 1988. The role of endogenous proteases in meat tenderness. *Recip. Meat Conference Proc.* **41**, 89-103.
- Koohmaraie, M. 1994. Muscle proteinases and meat aging. *Meat Science*, **36**, 93-104.

- Koohmaraie, M. 1996. Biochemical factors regulating the toughening and tenderization process of meat. *Meat Science*, **43** No. S, pp. S193-S201.
- Lambertini, L., Barrilli, M., Lalatta, G. 1996a. Considerazioni sulla composizione in fibre del muscolo scheletico di coniglio. *Rivista di Conigliocoltura*, **3**, 47-51.
- Lambertini, L., Lalatta, G., Petrosino, G., Zaghini, G., Vignola, G., Benassi, M.C. & Gatta, P.P. 1996b. Caractéristiques histoquimiques du muscle et pH de la viande du lapins hybrides sacrifiés à différents âges. *World Rabbit Science*, **4**, 4, 171-179.
- Lands, W.E.M. 1987. Polyunsaturated fatty acids and eicosanoids. Champaign, Illinois: *American Oil Chemistry Society*.
- Lawrie R.A. 1998. *Lawrie's Meat Science*. Ed. Woodhead Publishing. Cambridge, England.
- Lebret, B., Listrat, A. & Clochefert, N. 1998. age-related changes in collagen characteristics of porcine loin and ham muscles. En: *Proceedings 44th. International Congress of Meat Science and Technology*, Barcelona, Spain. Vol. **II**, 718-719.
- Lefaucheur, L. & Gerrard, D. 1998. Muscle fiber plasticity in farm mammals. En: *Proceedings of the American Society of Animal Science*. Muscle Ultrastructure, Development and Fiber Plasticity. E-2, pp. 1-19.
- Lehman, K.B. 1907. Studien über die zähigkeit des fleisches und ihre ursachen. *Arch. His.*, **63**, 134.
- Lepetit J. and Culioli J. 1994. Mechanical properties of meat. *Meat Science*, **36**, 203-237.
- Lepetit, J., Grajales, A., & Favier, R. 2000. Modelling the effect of sarcomere length on collagen thermal shortening in cooked meat: consequence on meat toughness. *Meat Science*, **54**, 239-250.

- Levene C.I. and Gross, J. 1959. Alterations in state of molecular aggregation of collagen induced in chick embryos by  $\beta$ -aminopropionitrile (Lathyrus factor). *J. Expe. Med.*, **110**, 771.
- Lockhart, R.D. 1972. Anatomy of muscles and their relationship to movement and posture En: The structure and function of muscle. Ed. Bourne, G.H., 2<sup>nd</sup> ed. Academic Press. New York. Vol. **1**, p. 1.
- López Torre, G., y Carballo, B. 1991. *Manual de Bioquímica y Tecnología de la Carne*. A. Madrid Vicente Ediciones. Madrid, pp. 15-58.
- Lukefahr, S.D., Nwosu, C.V., Rao, D.R. 1989. Cholesterol level of rabbit meat and trait relationships among growth, carcass and lean yield performances. *J. Animal Science*, **67**, 2009-2017.
- Maltin, C.A., Sinclair, K.D., Warriss, P.D., Grant, C.M., Porter, A.D., Delday, M.I. & Warkup, C.C. 1998. The effects of age at slaughter, genotype and finishing system on the biochemical properties, muscle fibre type characteristics and eating quality of bull beef from suckled calves. *J. Animal Science*, **66**, 341-348.
- Maretzki A.N. and Mills E.W. 2003. Applying a nutribusiness approach to increase animal source food consumption in local communities. *J. Nutr.*, **133** 11, Suppl. 2, 4031S-4035S.
- Mataix, J. y Mañas, M. 1998. *Tabla de Composición de Alimentos Españoles*. 3<sup>a</sup>. Ed. Universidad de Granada. España. pp. 207.
- Mc Cormick, R.J. 1994. The flexibility of the collagen compartment of muscle. *Meat Science*, **36**, 79-91.
- Mc Donald, I. W. & Scott, T.W. 1977. Foods of ruminant origin with elevated content of polyunsaturated fatty acids. *World Rev. Nutr. Diet*, **26**, 144-207.

- Mestre Prates, J. A., Ribeiro, A. M. R. & Dias Coreia, A. A. 2001. Role of cysteine endopeptidases EC3.4.22 in rabbit meat tenderisation and some related changes. *Meat Science*, **57**, 283-290.
- Mestre Prates, J. A., García e Costa, F. J. S., Ribeiro, A. M. R. & Dias Correia, A. A. 2002. Contribution of major structural changes in myofibrils to rabbit meat tenderisation during ageing. *Meat Science*, **61**, 103-113.
- Mikami, M, Whiting, A.H., Taylor, M.A.J., Maciewicz, R.A. and Etherington, D.J. 1987. Degradation of miofibrils from rabbit, chicken and beef by cathepsin L and lysosomal lysates. *Meat Science*. **21**, 81-87.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA). 2000. *La Alimentación en España*.
- Møller, A. 1980. Analysis of Warner-Bratzler shear force pattern with regard to myofibrillar and connective tissue components of tenderness. *Meat Science*, **5**, 247-260.
- Monin, G. 1988. Evolution *post-mortem* du tissu musculaire et consequences sur les qualities de la viande porc. *Viandes Prod. Carnés*. **9**, 302-15.
- Moody, W.G. and Cassens, R.G. 1968. A quantitative and morphological study of bovine *longissimus* fat cells. *J. Food Science*, **33**, 47
- Morgan, C.A., Noble, R.C., Cocchi, M. and McCartney, R. 1992. Manipulation of the fatty acids composition of pig meat lipids by dietary means. *J. Science Food Agriculture*, **58**, 357- 368.
- Murray, A.C. & Martin, A.H. 1980. Effect of muscle fiber angle on Warner-Bratzler shear force. *J. Food Science*, **45**, 1428-1429.
- Nakamura, M. and Katoh, K. 1985. Influence of thawing method on several properties of rabbit meat. *Bulletin Ishikawa Prefecture College of Agriculture*, Japan. **11**, 45-49.
- Needham, D.M. 1926. Red and white muscle. *Physiol. Rev.*, **6**, 1.

- Negishi, N., Yamamoto, E. & Kuwata, T. 1996. The origin of the 30 KDa component appearing during post-mortem ageing of bovine muscle. *Meat Science*, **42**, 3 289-303.
- Niedzwiadek, S., Bielansky, P. and Zajak, J. 1996. Slaughter traits and meat quality in relation to genotype for 90 days old rabbits. En: *Proceedings 6th. World Rabbit Congress*, Toulouse, France, Vol. **3**, 213-216.
- Norman, J.L., Berg, E.P., Heymann, H. and Lorenzen, C.L. 2003. Pork loin relative to sensory and instrumental tenderness and consumer acceptance. *Meat Science*, **65**, 927-933 .
- Oliver, M.A., Gispert, M. y Diestre, A. 1993. The effects of breed and halotane sensitivity on pig meat quality. *Meat Science*, **35**, 105-118.
- Oliver, M. A., Guerrero, L., Díaz, I., Gispert, M., Pla, M. & Blasco, A. 1997. The effect of fat-enriched diets on the perirenal fat quality and sensory characteristics of meat from rabbits. *Meat Science*, **47**, 95-103.
- Ouali, A., Obléd, A. Cottin, P., Merdaci, N., Ducastaing, A. and Valin, C. 1983. Comparative effects of post mortem storage and low-calcium requiring neutral proteinase on bovine and rabbit myofibrillar proteins. *Journal of Science and Food Agriculture*, **34**, 466-476.
- Ouali, A. 1990. Meat tenderisation: Possible causes and mechanisms. A review. *J. Muscle Foods*, **1**, 129-165.
- Ouali, A. 1992. Proteolytic and physicochemical mechanisms involved in meat texture development. *Biochimie*, **74**, 251-265.
- Ouhayoun, J. 1974. Les qualités bouchères du lapin. Acquis et perspectives de recherches. *Cuniculture*, **1**, 92-100.
- Ouhayoun, J. 1978. Etude comparative de races de lapins différant par le poids adulte. *Thèse (Agronomie, mention Zootechnie)* Academie de Montpellier France, pp. 72.

- Ouhayoun, J. 1987. Influence de la composition des graisses alimentaires sur les propriétés des lipides perirénaux et la qualité de la viande du lapin. *Sci. Aliment.*, **7**, 521-534.
- Ouhayoun, J. & Delmas, D. 1988. Meat quality of rabbit. I Differences between muscles in *post mortem* pH. En: *Proceedings 4th. World Rabbit Congress*, Budapest Hungary, Vol. **2**, 412-417.
- Ouhayoun, J. 1989 La composition corporelle du lapin. Facteurs de Variation, *INRA Prod. Anim.*, **2** (3), 215-226.
- Ouhayoun, J. & Dalle Zotte, A. 1993. Muscular energy metabolism and related traits in rabbit. A review. *World Rabbit Science*, **1**, 3, 97- 108.
- Panea, B. 2001. Influencia de la raza-sistema productivo sobre el tejido conjuntivo y la textura de la carne de bovino. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. España.
- Parigi Bini, R., Xiccato, G., Cinnetto, M. and Dalle Zotte, A., 1992. Effetto dell'età e peso di macellazione e del sesso sulla qualità della carcassa e della carne cunicola. 2. Composizione chimica e qualità della carne. *Zoot. Nutr. Anim.*, **18**, 173-190.
- Pearson, A. M. & Young, R. B. 1989. Composition and Structure Cap.1 y Skeletal Muscle fiber types Cap. 9. En: *Muscle and meat Biochemistry*. Academic Press, London. pp. 235-265.
- Penney I.F. and Dransfield. 1979. Relationship between toughness and troponin-T in conditioned beef. *Meat Science*, **3**, 135-141.
- Peter, J.B. Barnard, R.J. Edgerton, V.R., Gillespie, C.A. and Stempel, K. E. 1972. Metabolic Profiles of three fiber types of skeletal muscle in guinea pigs and rabbits. *Biochemistry*, **11**, 2627-2633.
- Petersen, J.S., Henckel, P., Maribo, H., Oksberg, N. & Sorensen, M.T. 1997. Muscle metabolic traits, *post-mortem*-pH-decline and meat quality in pigs

- subjected to regular physical training and spontaneous activity. *Meat Science*, **46**, 259-275.
- Pette, D. & Staron, R.S. 1990. Cellular and molecular diversities of mammalian skeletal muscle fibres. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* **116**, 1-76.
- Picard, B., Leger, J. & Robelin, J. 1994. Quantitative determination of type myosin heavy chain in bovine muscle with antimyosin monoclonal antibodies. *Meat Science*, **36**, 333-343.
- Piles, M., Blasco, A. and Pla, M. 2000. The effect of selection for growth rate on carcass composition and meat characteristics of rabbits. *Meat Science*, **54**, 347-355.
- Pla, M., Hernández, P. & Blasco, A. 1995. The colour of rabbit carcasses and meat. *Meat Focus International*, **4**, 5, 181-183.
- Pla, M, Cervera, C. 1997. Carcass and meat quality of rabbits given diets having a high level of vegetable or animal fat. *J. Animal Science*, **65**, 299-303.
- Pla, M., Guerrero, L., Guardia, D., Oliver, M. A. and Blasco, A. 1998. Carcass characteristics and meat quality of rabbit line selected for different objectives: I. Between lines comparison. *Livestock Production Sciences*, **54**, 115-123.
- Pla M. y Apolinar, R. 2000. The filter paper-press as method for measuring water holding capacity of rabbit meat. En: *Proceedings of the 7th. World Rabbit Science Congress*, 659-662.
- Poste, L.M.; Butler, G.; Mackie, D.; Agar, V.E.; Thompson, B.K., Cliplef, R.L. and McKay, R.M. 1993 Correlations of sensory and instrumental meat tenderness values as affected by sampling techniques. *Food Quality and Preference*, **4**, 207-214.



- Raes, K., Balcaen, A., Dirinck, P., De Winne, A., Claeysa, E., Demeyera, D. and De Smeta, S. 2003. Meat quality, fatty acid composition and flavour analysis in Belgian retail beef. *Meat Science*, **65**, 1237–1246.
- Raimondi, R., De Maria, C. Auxilia, M.A. y Masoero, G. 1975. Effetto della grassatura dei mangimi sulla produzione della carne di coniglio. III. Contenuto in acidi grassi delle carni e del grasso perirrenale. *Ann. Ist. Sper. Zootec.*, **8**, 167-181.
- Ranvier, M.L. 1873. Propriétés et structures différentes des muscles rouges et des muscles blancs chez le lapins et chez les raies. *C.R. Ac. Sc. Paris*, **77**, 1030-1035.
- Renand, G., Touraille, C., Geay, Y., Berge, P., Lepetit, J. & Picard, B. 1997. Variabilité des qualities organoleptiques de la viande bovine en relation avec les caractéristiques musculaires. *Renc. Rech. Ruminants*, **4**, 311-314.
- Renner, M. 1982. Meat colour and its measurement. *Bulletin Technique/Centre de Recherches Zootechniques et Vétérinaires de Theix, INRA*. **47**, 47-54.
- Renou, J.P., Canioni, P., Gatelier, P., Valin, C., Cozzone, P.J., 1986. Phosphorous-31 nuclear magnetic resonance study of *post-mortem* catabolism and intracellular pH in intact excised rabbit muscle. *Bioch.*, **68**, 543-554.
- Rhee, K.S. 1992. Fatty Acids in Meat and Meat Products. En: Fatty acids in foods and their health implications. Ed. Kuang Chow, C. Marcel Dekker, Inc. New York, USA. pp. 65-93.
- Ristic, M. 1986. Schlachtkörperwert und fleischbeschaffenheit von jungmastkaninchen. *Mitteilungsblatt der Bundesanstalt für fleischforschung*, **91**, 6725-6731.
- Robertson, R. M. and Smaha L. 2001. Can a Mediterranean-Style Diet Reduce Heart Disease? *Circulation*, **103**, 13, 1821-1822.

- Rochambeau de, H., 1997. Genetics of the rabbit for meat production: What's new since the world rabbit congress held in Budapest in 1988? A review. *World Rabbit Science*, **5**, 2, 77-82.
- Roncalés, P., Geesink, G.H., van Laack, R.L.J.M., Jaime, I., Beltrán, J.L., Barnier, V.M.H., Smulders, F.J.M. 1995. Meat tenderisation: Enzymatic mechanisms. En, *Expression of tissue proteinases and regulation of protein degradation as related to meat quality*. A. Ouali, D.I. Demeyer and F.J.M. Smulders, eds., ECCEAMST, Utrecht, The Netherlands, pp. 311-332.
- Ros, E. 2001. Guía para una alimentación cardiosaludable. *Guías Alimentarias para la Población Española*. Recomendaciones para una dieta saludable. 413-421.
- Salvatori, G., L. Pantaleo, C. Di Cesare, G. Maiorano, F. Filetti, G. Oriani. 2004. Fatty acid composition and cholesterol content of muscles as related to genotype and vitamin E treatment in crossbred lambs. *Meat Science*, **67**, 45–55.
- Salvini, S., Parpinel M., Gnagnarella, P., Maisonneuve, P., Turrini, A. 1998. En: *Banca dati di composizione degli alimenti per studi epidemiologici in Italia*. Istituto Europeo di Oncologia, Milano, Italia, p. 958.
- Santomá, G., De Blas, J. C., Carabaño, R. M. & Fraga, M. J. 1987. The effects of different fats and their inclusion level in diets for growing rabbits. *Animal Production*. **45**, 291-300.
- Sañudo, C., Macie, E.S., J.L., Olleta, Villarroel, M., Panea, B., Alberti, P. 2004. The effects of slaughter weight, breed type and ageing time on beef meat quality using two different texture devices. *Meat Science*, **66**, 925-932.
- Schiaffino, S., Saggin, L., Viel, A., Ausoni, S., Sartore, S., Gorza, L. 1986. Muscle fiber types identified by monoclonal antibodies to myosin heavy chains. En: *Biochemical Aspects of Physical Exercise*. Eds.: Benzi, G., Packer, L., Siliprandi, N. Elsevier, Amsterdam, pp. 27-34.

- Schiaffino, S., Ausoni, S., Gorza, L., Saggin, L., Gundersen, K., Lømo, T. 1988. Myosin heavy chain isoforms and velocity of shortening of type 2 skeletal muscle fibres. *Acta Physiol. Scand.*, **134**, 575-576.
- Schiaffino, S., Gorza, L., Sartore, S., Saggin, L., Ausoni, S., Vianello, M., Gundersen, K., Lømo, T. 1989. Three myosin heavy chain isoforms in type 2 skeletal muscle fibres. *J. Muscle Res. Cell Motil.*, **10**, 197-205.
- Schweigert, B.S. 1987 The nutritional content and value of meat and meat products. En: *The Science of Meat and Meat Products*. Ed. Price, J.F. & Schweigert, B.S. 3rd. Ed. pp. 275-306.
- Scönfelt, H.C. & Naudé, P.T. 1994. Effect of age and fatness on tenderness of beef cuts in South Africa. En: *Proceedings 40th. Intl. Congress of Meat Science and Technology*. The Hague, The Netherlands.
- Senesi, E., Crivelli, G., Maestrelli, A., Caserio, G., Patano, C. 1975. Quality and histological aspects of frozen rabbit meat. *Annali dell' Istituto Sperimentale per la Valorizzazione Tecnologica dei Prodotti Agricoli*, **6**, 89-98.
- Sims, T.J. and Bailey, A.J. 1981. Connective Tissue. En: *Developments in Meat Science* -2. Ed. R.A. Lawrie. Applied Science Publishers. Ltd, London, pp. 29-59.
- Sosniki, A.A., Wilson, E.R., Sheiss, E.B., & de Vries, A. 1998. Is there a cost effective way to produce high quality pork? En: *Reciprocal Meat Conference Proceedings*, Vol. **51**.
- Sotelo, I., Pérez-Munuera, I., Quiles, A., Hernando, I., Larrea V. and Lluch M. A. 2004. Microstructural changes in rabbit meat wrapped with *Pteridium aquilinum* fern during *post-mortem* storage. *Meat Science*, **66**, 823-829.
- Souci, S.W., Fachman, W., Kraut, H. 1986/87. Die Zusammensetzung der Lebensmittel 1986/87 (*Food Composition and Nutrition Tables 1986/87*). Wissens Chaftliche Verlagsgesellschaft mbH. Stuttgart.

- Stein, J.M. and Padycula, H.A. 1962. Histochemical classification of individual skeletal muscle fibres of the rat. *American Journal Anatomy*. **110**, 103.
- Szczesniak, A.S. 1995. Texture Profile Analysis Methodology Interpretation clarified. *J. Food Science*, **60** -vii.
- Talmant, A., Monin, G., Briand, M., Dadet, M., Briand, Y. 1986. Activities of metabolic and contractile enzymes in 18 bovine muscles. *Meat Science* **18**, 23-40.
- Taylor, R. G., Geesink, G. H., Thompson, V. F., & Koohmaraie, M. (1995). Is Z-disk degradation responsible for *post-mortem* tenderization? *J. Anim. Sci*, **73**, 1351-1367.
- Termin, A., Staron, R.S., & Pete, D. 1989. Myosin heavy chain isoforms in histochemically defined fiber types of rat muscles. *Histochemistry*, **92**, 453.
- Ulbricht T.L.V. & Southgate D.A.T. 1991. Coronary heart disease: seven dietary factors. *The Lancet*; **338**, 8773, 985-992.
- Valin, C., Touraille, C., Vigneron, P., Ashmore, C.R. 1982. Prediction of lamb meat quality traits based on muscle biopsy fibre typing. *Meat Science*, **6**, 257-263.
- Vigneron, P., Bacou, F. & Ashmore, R. 1976. Distribution heterogeneity of muscle fibre types in the rabbit *longissimus* muscle. *J. Animal Science*, **43**, 985-988.
- Villegas, F.J., Hedrick, H.B., Veum, T.L., McFate, K.L. & Bailey, M.E. 1973. Effect of diet and breed on fatty acid composition of porcine adipose tissue. *J. Animal Science*, **36**, 663-668.
- Walker, L.T., Womak, S.E. & Brunson, A.S. 1995. The tenderness of rabbit meat influenced by different ageing periods. *IFT Annual Meeting Book of abstracts*, Anaheim, California. 68B-7.

- Wattanachant, S., Benjakul, S. and Ledward, D.A. 2004. Composition, color, and texture of Thai Indigenous and broiler chicken muscles. *Poultry Science*, **83**, 123-128.
- Wheeler, T.L. & Koohmaraie, M. 1994. Prerigor and postrigor changes in tenderness of ovine *longissimus* muscle. *J. Animal Science*, **79**, 1502-1508.
- Wheeler, T.L., Shackelford, S.D. & Koohmaraie, M. 1999. Tenderness classification of beef: IV. Effect of USDA Quality grade on the palatability of tender beef *longissimus* when cooked well done. *J. Animal Science*, **77**, 882-888.
- Wood, J.D. 1984. Fat deposition and the quality of fat tissue in mat animals. En: *Fats in animal nutrition*. Ed. J. Wiseman. Butterworths, London. pp. 407-435.
- Wu, F. and Smith, S.B. 1987. Ionic strength and myofibrillar protein solubilization. *J. Animal Science*, **65**, 597.
- Xiccato, G., Parigi-Bini, R., Dalle Zotte, A., Carazzolo, A. 1994. Effect of age, sex and transportation on the composition and sensory properties of rabbit meat. En: *Proceedings 40th. Congress of Meat Science and Technology*, pp. W-2.02, The Hague, The Netherlands.

### **Direcciones de internet consultadas**

Antonios, Pierre. 1999. FAO Comunicados de prensa 99/13. La FAO ayuda a los Países del Mediterráneo A Fomentar la Cría de Conejos Datos históricos y de consumo de carne de conejo. Disponible en:

[http://www.fao.org/WAICENT/ois/PRESS\\_NE/PRESSSPA/1999/prsp9913.htm](http://www.fao.org/WAICENT/ois/PRESS_NE/PRESSSPA/1999/prsp9913.htm)

FAO. 1999. Noticias Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Disponible en:

<http://www.fao.org/Noticias/1999/990101-s.htm>

FAO. 2001. Comunicado de prensa 01/57. La FAO reconoce el papel, creciente e importante, de la cunicultura, Disponible en:

[http://www.fao.org/WAICENT/OIS/PRESS\\_NE/PRESSSPA/2001/prsp0157.htm](http://www.fao.org/WAICENT/OIS/PRESS_NE/PRESSSPA/2001/prsp0157.htm)

FAO STAT. 2003. Datos Estadísticos de: Food and Agriculture Organization

[http://faostat.fao.org/faostat/servlet/XteServlet3?Areas=%3E862&Items=1141&Elements=51&Years=2003&Format=Table&Xaxis=Years&Yaxis=Countries&Aggregate=over\\_areas&Calculate=mean+std\\_dev&Domain=SUA&ItemTypes=Production.Livestock.Primary&language=EN](http://faostat.fao.org/faostat/servlet/XteServlet3?Areas=%3E862&Items=1141&Elements=51&Years=2003&Format=Table&Xaxis=Years&Yaxis=Countries&Aggregate=over_areas&Calculate=mean+std_dev&Domain=SUA&ItemTypes=Production.Livestock.Primary&language=EN)

Forrest, J. 2002. Marbling. Purdue University Animal Science Department. Meat Quality and Services. Disponible en:

[http://ag.ansc.purdue.edu/meat\\_quality/marbling\\_consumer.html](http://ag.ansc.purdue.edu/meat_quality/marbling_consumer.html)

Guernebleich E. 2001. Press Release of Food and Agriculture Organization. 01/57. FAO Recognizes the increasingly important role of rabbit breeding. Global rabbit production exceed 1 million tonnes. Disponible en:

[http://www.fao.org/WAICENT/OIS/PRESS\\_NE/PRESSENG/2001/pren0157.htm](http://www.fao.org/WAICENT/OIS/PRESS_NE/PRESSENG/2001/pren0157.htm)

King, M. 2003. Muscle Biochemistry. Proteins of the myofilaments. Indiana State University. Disponible en:

<http://web.indstate.edu/thcme/mwking/muscle.html>

Martínez Marín, M.A., Salazar Martínez C. 2002. Tipos de Fibras Musculares. Disponible en:

[http://usuarios.lycos.es/musculacion2001/tipos\\_de\\_fibras\\_musculares.htm](http://usuarios.lycos.es/musculacion2001/tipos_de_fibras_musculares.htm)

McKenna, D. 1993. Meat tenderness. Technical Topics. Texas A&M Meat Science Section. <http://meat.tamu.edu/topics/meattenderness.html>

Strom, G. 2001. Tender Beef What causes toughness? Queensland Government. Department of Primary Industries. Disponible en:

<http://www.dpi.qld.gov.au/beef/3506.html>

United States Department Agriculture (2004). Nutrient Database for Standard Reference. Disponible en:

<http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/>





## **2. OBJETIVOS**

## 2. OBJETIVOS

En dos grupos de conejos, uno control y el otro seleccionado genéticamente por velocidad de crecimiento, estudiar:

- 1). El efecto de la velocidad de crecimiento sobre las características bioquímicas, la calidad de la carne y las propiedades de textura, en el músculo *longissimus thoracis*.
- 2). El efecto de la velocidad de crecimiento sobre la composición de los ácidos grasos de la grasa de la carne y de la grasa perirrenal y el contenido de grasa inter e intramuscular de la pierna, así como sobre los índices de ácidos grasos relacionados con la nutrición humana.
- 3). El efecto de la velocidad de crecimiento sobre la degradación miofibrilar en el músculo *longissimus* a dos tiempos de maduración (24 h y 7 días) y su relación con las propiedades de textura en los dos grupos de conejos. Así como el potencial proteolítico a 24 horas en base a la determinación de la actividad de las enzimas proteolíticas y sus inhibidores

# **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

Los resultados del presente trabajo se agrupan en tres capítulos de acuerdo al diseño experimental y a los análisis realizados.

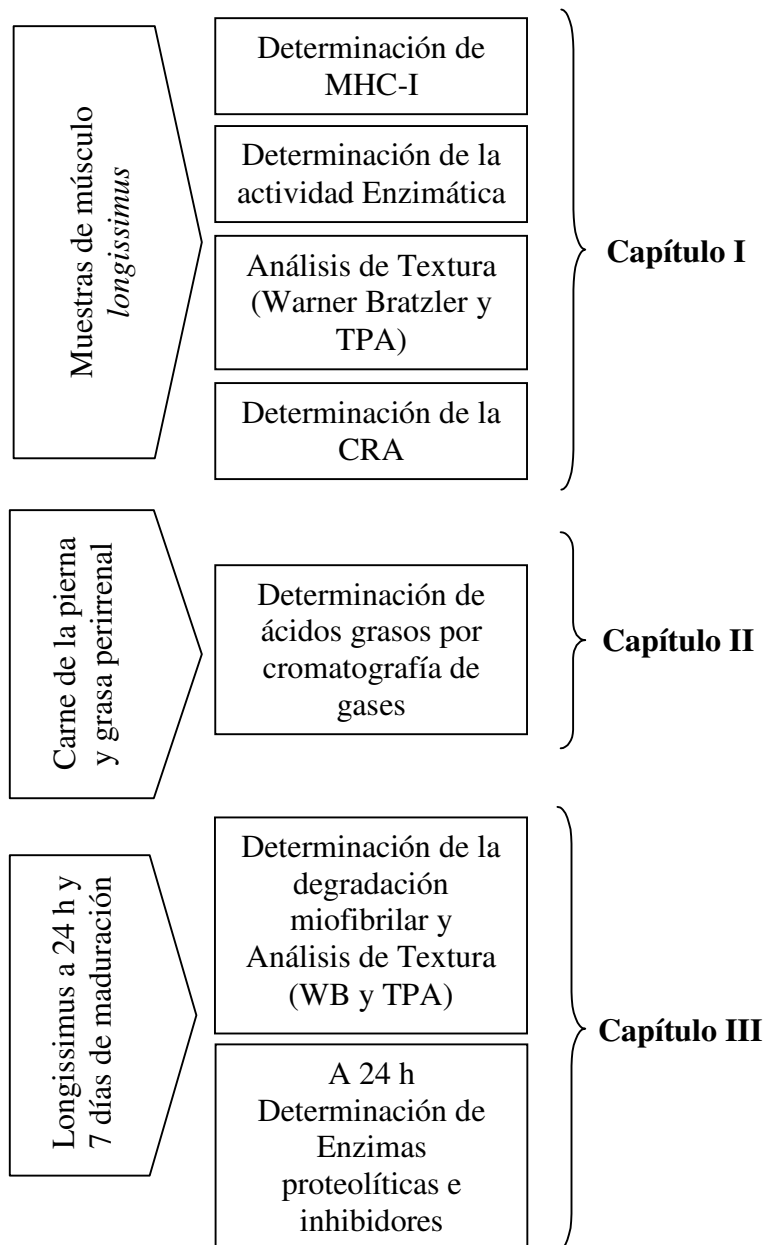
Los conejos estudiados formaban parte de la granja del Departamento de Ciencia Animal de la Universidad Politécnica de Valencia de formando dos grupos: uno control (7a. Generación) y otro de la misma línea genética seleccionada por velocidad de crecimiento (21a. Generación).

Para alcanzar el objetivo que se presenta en el primer capítulo se trabajó con 60 lomos de conejo de cada grupo. Las muestras para la determinación de la miosina tipo I y las actividades enzimáticas (aldolasa e ICDH) se tomaron de zonas consecutivas del músculo *longissimus thoracis*. Esto se hizo para disminuir el efecto de la variabilidad en cuanto a composición en fibras y actividad enzimática que existe a lo largo del músculo *longissimus*. Las pruebas de textura por los métodos de Warner-Bratzler (WB) y Análisis de Perfil de Textura (TPA) se realizaron en el resto del lomo.

Para el estudio que se presenta en el segundo capítulo se emplearon muestras de carne de la pierna deshuesada y de grasa perirrenal, a las que posteriormente se extrajo la grasa inter e intramuscular para el análisis de composición en ácidos grasos por cromatografía de gases.

Para obtener el objetivo que se presenta en el tercer capítulo, se trabajó con 20 lomos de cada grupo de conejos (C y S), separadas en dos lotes, uno se muestreó a 24 horas *post-mortem* y el otro se dejó en condiciones de refrigeración (4°C) hasta los 7 días *post-mortem* para evaluar el efecto de la maduración mediante el empleo de electroforesis y densitometría, así como las características de textura por WB y TPA en ambos tiempos (24h y 7 días). Al mismo tiempo se tomaron muestras a las 24h para analizar las actividades de las enzimas proteolíticas y sus inhibidores.

Figura 3.1. Esquema de muestreo (Para los grupos de conejos Control y Selección) y diseño experimental e integración de los capítulos obtenidos de los experimentos.



# **4. RESULTADOS**

El Capítulo I esta basado en el artículo:

*Effect of selection for growth rate on biochemical, quality and texture characteristics of meat from rabbits*

Jorge A. Ramírez; M.Àngels Oliver; Marcial Pla; Luis Guerrero; Beatriz Ariño; Agustín Blasco; Mariam Pascual and Marta Gil.

Publicado en **Meat Science**, Vol. 67, pp. 617-624.

# CAPITULO I

## **Effect of selection for growth rate on biochemical, quality and texture characteristics of meat from rabbits**

Jorge A. Ramírez<sup>a,1</sup>; M.Àngels Oliver<sup>a</sup>; Marcial Pla<sup>b</sup>; Luis Guerrero<sup>a</sup>; Beatriz Ariño<sup>b</sup>; Agustín Blasco<sup>b</sup>; Mariam Pascual<sup>b</sup> and Marta Gil,<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> *IRTA Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries, Centre de Tecnologia de la Carn, Granja Camps i Armet, 17121, Monells, Girona, Spain.*

<sup>b</sup> *Departament de Ciència Animal, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera, 14, 46020, València, Spain.*



<sup>1</sup> Present address: Facultad de Ciencias Químicas/UASLP Av. Dr. Manuel Nava No. 6, Zona Universitaria, San Luis Potosi, S.L.P. CP 78210, México.



#### **4.1.1. Abstract**

Biochemical characteristics, including myosin heavy chain I (MHC-I) percentage, isocitrate dehydrogenase and aldolase activities, meat quality traits and instrumental texture properties of rabbits selected for different growth rate were studied. The animals of control (C) group (7th. generation; n= 60) were raised in parallel with those of selection (S) group (21st. generation; n= 60). Carcass weights ( $1230.1 \pm 19.8$  and  $1348.3 \pm 20.1$  g, for C and S, respectively) and perirenal and scapular fat content differed significantly ( $P < 0.01$ ) between the two groups. Water holding capacity was expressed as the percentage of pressure released water and was significantly different ( $P < 0.05$ ) between groups C and S (33.29 and 35.57%). MHC-I percentage and aldolase activity also differed significantly ( $P < 0.05$ ) between groups, group C showing higher oxidative traits than group S (MHC-I: 12.5 and 9.8 %; aldolase: 597.11 and 636.83 UI/g muscle). Texture properties from the Warner-Bratzler test showed higher ( $P < 0.001$ ) shear firmness for loin in the S group ( $1.69 \text{ kg/s} \times \text{cm}^2$ ) than in the C group ( $1.34 \text{ kg/s} \times \text{cm}^2$ ). In addition, the Texture Profile Analysis indicated that chewiness, gumminess and hardness were also higher in the S group ( $P < 0.01$ ). In conclusion, the results confirmed a positive effect of the selection on productive traits and a negative effect on instrumental texture properties and on the water holding capacity of the meat.

*Key Words:* Genetic selection; Meat quality; Muscle biochemical traits; Texture.

#### 4.1.2. Introduction

Rabbit meat is considered a Mediterranean food. The principal countries in Europe that produce and consume rabbit meat are France, Italy and Spain. Rabbit selection by producers tends to improve the quantitative aspects of the production, such as growth rate and development of muscularity, but pays less attention to the meat quality aspects. Meat quality can be evaluated objectively by measuring some biophysical or biochemical traits such as pH, water holding capacity (WHC), colour, instrumental texture, myosin heavy chain I and enzymatic activities. The most important attributes of rabbit meat to consumers are colour, texture and flavour (Dalle Zotte, 2002). These attributes are determined by both biological and productive factors as well as by ante mortem and post mortem treatments (Dalle Zotte, 2002; Gondret & Bonneau, 1998; Oliver *et al.*, 1997). Post mortem biochemical changes in the muscle determine the transition from muscle into meat and can influence the final meat quality. At the same time, the biochemical changes depend on the type and composition of muscle fibres (Valin & Ouali, 1992). Several authors have studied rabbit muscle fibres and their relation to meat quality (Dalle Zotte, Remignon & Ouhayoun, 2001; Lambertini, Barilli & Lalatta Costerbosa, 1996). Two groups of fibres are described in the rabbit according to their contraction speed: Slow fibres (Type I) and fast fibres (Type IIA, IIX and IIB) (Hämäläinen and Pete, 1993). The speed of contraction of muscle fibres is directly bound to the specific composition of myosin heavy chain isoforms, slow (type I) and fast (type IIA, IIX and IIB). In general, muscles consist of a combination of different fibre types, the proportions of which are related to the muscle function and anatomical localisation: muscles involved in posture are more oxidative than those involved in movements (Klont, Brocks and Eikelenboom, 1998). Apart from the type of muscle, muscle fibre composition depends on species, genetics, diet, physical activity and other productive and environmental factors (Essén-Gustavson, 1996; Dalle Zotte & Ouhayoun, 1998; Gil *et al.*, 2001; Petersen, Henckel, Oksbjerg & Sorensen, 1998).

In recent years, a rising interest in the sensorial properties of rabbit meat has been shown and tenderness is probably one of the most important eating quality attributes of rabbit meat (Dalle Zotte, 2002). This property can be instrumentally measured by means of the Warner-Bratzler (WB) (Møller, 1980) and the Texture Profile Analyses (TPA) (Bourne, 1978) tests (Honikel, 1998).

The aim of this work was to evaluate the influence of the selection for different growth rate on the biochemical characteristics, meat quality and instrumental texture properties of one synthetic line of rabbits from two generations (7th. vs. 21st.).

### **4.1.3. Materials and Methods**

#### *4.1.3.1. Animals*

This study was conducted with rabbits of line R from the Department of Animal Science of the Universitat Politècnica de València (UPV). Line R is a synthetic line selected on the basis of growth rate (Baselga, 2002). The animals were divided into two groups: a control (C) and a selection group (S), comprising 60 rabbits each.

When line R was in its seventh generation of selection, embryos were recovered, vitrified and conserved for several years in the bank of embryos of the Department of Animal Science (Vicente, Viudes-de Castro & García, 1999). The process of selection from line R meanwhile continued. The embryos were later devitrified and transferred to mature adults. Young rabbits were raised until reproduction age and then crossed with each other avoiding consanguinity. Their descendants, free from the effects of vitrification-devitrification, became group C. These animals were raised in parallel with those in group S, which were young rabbits from the 21st. generation of the selection. We compared the quality and biochemical traits of carcasses from the 7th. generation (Group C) and the 21st. generation (Group S). Rabbits from the two groups were raised at the same time, in the same growth and feeding conditions. Animals were selected from litters of

at least 6 young, with one male and one female being selected from each litter. Experiments were carried out using 63-day-old animals.

At the fixed age, and without fasting, the rabbits were slaughtered in an abattoir next to the farm, so the transport time was minimum and the possible stress very low. After slaughtering and bleeding, the carcasses were suspended from tendon calcaneus for 30 min at room temperature (20°C) and then cooled in a refrigerated chamber at 3°C until 24 h *post-mortem*. Afterwards they were transported (200 m) to the laboratory of the Departamento de Ciencia Animal. After pH measurement, carcasses were prepared according to the standard procedures of the WRSA (Blasco and Ouhayoun, 1996) and sampling was carried out.

#### 4.1.3.2. Diet

All the rabbits were fed a commercial diet, drawn up to include all essential nutrients to ensure the proper growth of the rabbits. The chemical composition of the diet, given as percentage of dry matter, was as follows: moisture, 9.37%; crude protein, 14.81%; ether extract, 3.23%; crude fibre, 16.47% and ash, 8.17%.

#### 4.1.3.3. Sampling on the *M. longissimus thoracis and lumborum* (LTL)

The two loins of each rabbit carcass were used. Carcass and meat colour were measured in the right loin, while the muscle water holding capacity (WHC) was determined in the left loin at the 7th. lumbar vertebrae level. A sample from the right loin between the 8-10th. vertebrae level was taken and cubes of 3-5 mm side were cut, frozen directly in liquid nitrogen and kept in cryotubes at -80°C until analysis of myosin heavy chain I (MHC-I) content. The same procedure was carried out with the next part of the loin (10-12th. vertebrae level) and the samples were used to determine the activities of isocitrate dehydrogenase (ICDH) and aldolase. The texture profile analysis (TPA) (Bourne, 1978) and Warner-Bratzler (WB) (Møller 1980) tests were performed with using the left LTL muscle. These samples were vacuum-packed in aluminium bags and kept at -20°C until analysis.

#### 4.1.3.4. Colour measurements

Colour measurements in the CIELAB space (Lightness,  $L^*$ ; redness,  $a^*$  and yellowness,  $b^*$ ) (CIE, 1976), were measured at 24 hours *post-mortem* using a Minolta CR-300 Minolta Chromameter (Minolta Camera, Osaka, Japan), which gives the average of three measurements of  $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$  at each point. Chroma [ $C^*_{ab} = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ ] and Hue [ $H(^{\circ})_{ab} = \tan^{-1} b^*/a^*$ ] were calculated according to Wyszecki and Stiles (1967). Carcass colour was determined on the surface over the level of the 4th. lumbar vertebra (Pla, Hernández & Blasco, 1995). Meat colour was measured on the freshly cut surface of the loin at the 7th. lumbar vertebra level at room temperature (20°C).

#### 4.1.3.5. Meat quality and biochemical traits

##### 4.1.3.5.1. pH

pH of the LTL was measured at 24 h post-mortem ( $pH_{24}$ ) at the level of the 4th. lumbar vertebra at 20°C and recorded with a Crison MicropH 2001 (Crison instruments, Barcelona, Spain) using a combined electrode penetrating 3 mm.

##### 4.1.3.5.2. Water holding capacity (WHC)

WHC was studied according to the Grau-Hamm method (Hamm, 1986) by weighing  $300 \pm 5$  mg of intact meat placed on a previously desiccated and weighed (0.0001 g accuracy) filter-paper Wathmann No. 1 of 7 cm of diameter. After being weighed, the paper with meat was placed between two plexiglas plates. Loads of 2.25 kg were applied for 5 min. Circles of meat (M) and released juice (T) were then carefully drafted on clear plastic for a permanent record and the damp paper-filter was rapidly weighed after accurately removing the compressed meat. The mean of two replicates was used in analyses.

WHC was first expressed as percentage of released water (PRW):

$$\text{PRW} = \frac{\text{Damp paper-filter weight} - \text{dry paper-filter weight}}{\text{Meat sample weight}} \times 100$$

Areas of meat spot (M) and total liquid infiltrated paper (T) of each sheet of plastic were measured (Pla & Apolar, 2000). Water holding capacity was estimated as the ratio M/T (x100) of the areas.

#### 4.1.3.5.3. Slow myosin heavy chain (MHC-I)

The aim of this assay was to determine the percentage of MHC-I in the muscle with a specific MHC-I monoclonal antibody (Picard, Leger & Robelin, 1994). Muscle sample extracts were obtained by homogenizing 200 mg of frozen muscle in 10 mL of buffer solution: 50 mM Tris, 0.5 mM NaCl, 20 mM disodium pyrophosphate, 1mM EDTA and 1 mM DTT, left on ice for 10 minutes and centrifuged at 2500xg (4°C) for 10 minutes. The supernatant was then mixed with glycerol to a final concentration of 50% (v/v) and stored at -20°C until analysis. Sample protein concentration was determined less than a week before the ELISA assay, using bovine serum albumin (BSA) as standard (Bradford, 1976). For the assay, samples were diluted to a concentration of 2.4 µg of protein/mL and the microtiter-plate wells were filled with 50 µL each (triplicates).

A specific MHC-I monoclonal antibody prepared from a human ventricle specimen was used (clone F36.5B9, 2C8 isotype Mouse IgG2a, Biocytex Biotechnology) to recognize the MHC-I myosin isoform in the muscle samples. A second antibody (Anti-mouse IgG Fab fragment from sheep, Boëring Mannheim Biochemica) alkaline phosphatase conjugated was used. This provided the enzymatic reaction that enables the detection in the variation of absorbance at 405 nm, by using 4-*p*-nitrophenylphosphate (Sigma) as substrate. The percentage of MHC-I in each sample was calculated by means of a standard curve prepared from bovine *masseter* muscle (100% MHC-I) and BSA (0% MHC-I). The standard curve was run in each microtiter-plate (Picard *et al.*, 1994).



#### 4.1.3.5.4. Enzymatic analysis

The metabolic traits of the muscle were determined by measuring the aldolase (EC 4.1.2.13) and isocitrate dehydrogenase (ICDH) (EC 1.1.1.41) activities according to Delmas & Ouhayoun (1990). Enzymes were extracted using the technique described in Ansay (1974), then quantified by continuous kinetics using spectrophotometric monitoring (340 nm) (Shimadzu UV-1601 spectrophotometer) of the oxidation rate of NADH (aldolase) or the reduction rate of NADP (ICDH). Muscle extracts were obtained by homogenizing 2 g of muscle in 15 mL of phosphate buffer, pH 7.25 and centrifuged at 25000xg for 20 min at 5°C. Two aliquots of 1.5 mL of the supernatant were stored at -30°C for analysis within a week.

Aldolase activity was measured using the MPR 3 aldolase 123 838 Roche kit. ICDH activity was determined with isocitrate and NADP in the presence of  $Mn^{2+}$ . Enzyme activities are expressed as  $\text{mol of substrate} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g of muscle}^{-1}$  (IU/g).

#### 4.1.3.6. Texture measurements

The muscles were thawed at 4°C/24 h in their vacuum-packed plastic bag and then cooked at 80°C/1h by immersion in a water bath (Combes, Auvergne, & Lebas, 2000). The samples for Warner-Bratzler shear test (WB) were obtained by cutting at least two rectangles of 2 x 1 cm of cross section, parallel to the muscle fibre direction. They were completely cut using a WB shear blade with an angular triangular slot cutting edge. Four parameters were measured: The initial yield force and the maximum shear force ( $\text{kg/cm}^2$ ), which according to Møller (1980) represent, respectively, the myofibrillar component of tenderness and the residual force or the connective tissue component of tenderness (in samples from beef *M. semitendinosus*). Shear firmness was also calculated as the slope of a line drawn from the origin of the curve to the yield or maximum shear forces ( $\text{kg/cm}^2$ ) (Brady and Hunecke, 1985). Additionally, the total work performed to cut the sample or the area under the curve obtained was recorded ( $\text{kg} \cdot \text{s/cm}^2$ ). Samples for Texture Profile Analysis (TPA) (Bourne, 1978) were obtained cutting cubes of 1 cm each

side parallel to the muscle fibre direction, and then compressed to 75% (7.5 mm) using a crosshead speed of 5 mm/s. From this test the following variables were obtained: Springiness (ad.), Cohesiveness (ad.), Chewiness (kg), Gumminess (kg) and Hardness (kg). The Texture Analyser Mod. TA-XT2 (Stable Micro Systems, UK) was used for both tests and all the samples were cut or compressed perpendicular to the muscle fibre direction. The average value for each LTL sample was recorded (mean of two to four replicates)

#### 4.1.3.7. Statistical analysis

A least square analysis was performed using the General Linear Model Procedure program of the SAS statistical package (SAS, 2000). The effect of genetic type (group), sex and its interaction were included in the first model. The interaction of genetic type x sex was not included in the final model as it was not significant for any variable:

$$y_{ijk} = \mu + \text{group}_i + \text{sex}_j + e_{ijk}$$

where  $y_{ijk}$  is the dependent variable,  $\mu$  the general mean, group the genetic type ( $i = \text{control, selection}$ ), sex ( $j = \text{male, female}$ ), and  $e_{ijk}$  the residual term. A principal component analysis of carcass, meat quality and biochemical traits (Proc Factor, SAS 2000) was carried out to assess the relationships of these variables. Only variables showing a final communality for the two first axes higher than 0.45 were represented graphically.

### 4.1.4. Results and Discussion

#### 4.1.4.1. Carcass and meat traits

The results of the effect of selection by growth rate on carcass traits of two groups of rabbits are presented in Table 1. Significant differences in live weight and carcass weight between C and S groups were observed, the values of the selection group being higher than those of the control. The difference in weight between both groups was about 10%, which is important from a production point of view, because producers in Spain are paid according to the live weight. Differences in

perirenal fat content were significantly different in that the selection group was fatter than the control group (18.27 and 15.02 g respectively); the same differences were observed regarding scapular fat content. Selection for growth rate affected both animal weight and carcass fat content: at a given age, fat content was highly correlated with carcass weight (0.73). From the consumers' point of view, a high fat store content is not desirable because rabbit meat is usually commercialised as a whole carcass. However, in the near future most rabbit meat is going to be sold as cuts and the fat content would not be a major problem.

The effect of the group on carcass colour variables was only significant ( $p < 0.05$ ) for Hue and  $b^*$  values.

Least squares means and standard errors of meat quality and biochemical traits of LTL muscle of the two groups of rabbits under study are shown in table 2. Although no effect of the selection was found in the pH 24, the WHC of the muscle, assessed as the PRW, was significantly higher in the control group than in the selection group. No significant differences ( $p > 0.05$ ) were detected in  $L^*$ ,  $a^*$  and Hue variables measured on the cut surface of the loin between groups; however,  $b^*$  and chroma values were significantly higher ( $p < 0.05$ ) in the selection group; this would mean that meat of selected rabbits was yellower than meat of control rabbits.

The values of MHC-I obtained in the present study - directly related to type I fibres (Termin, Staron & Pette, 1989) - are quite high for both groups of rabbits (12.5 % and 9.8 %, respectively for control and selection groups) and correspond to the sampling position at the anterior end of the muscle (Vigneron, Bacou & Ashmore, 1976). A significant effect of selection on the MHC-I content was detected: the loin of selected animals had lower percentage of MHC-I (lower proportion of slow oxidative fibres), which could influence PRW, hardness and shear firmness. The variability of MHC-I was high and similar to the control line (32.4 %) and the selection line (35.3 %). Few references are found in the literature for the fibre composition of rabbit *longissimus* muscle. The fibre composition, in particular the proportion of type I fibres, is not homogeneous along the

*longissimus* muscle (Vigneron, Bacou and Ashmore, 1976): these authors reported values ranging from 3 to 10 % of type I fibres from the 5 th lumbar vertebrae to the 5/6 ribs level. This is confirmed in the studies of Alasnier, Rémignon & Gandemer (1996) and Dalle Zotte & Ouhayoun (1998), who indicate the exact sampling region in the loin. Alasnier *et al.* (1996) reported 6.2% of type I fibres in *longissimus lumborum* (LL) sampled at the level of the 1st. and the 4th. lumbar vertebrae for New Zealand rabbits of 2.2 kg weight. On the other hand, Dalle Zotte & Ouhayoun (1998) found a percentage of less than 2.5 of this type of fibres in the LL sampled between the 3rd. and 7th. lumbar vertebra of different rabbit breeds (New Zealand, Little Russian, Dutch crossing...) slaughtered at around 2,4 kg weight. Other studies do not indicate the sampling zone so precisely. The *Fauve de Bourgogne* and the *Argenté de Champagne* breeds show 5% and 4.3% of type I fibres at weights of 2.62 and 2.87 kg, respectively (Bolet *et al.*, 2000). Regarding the metabolic traits of the muscle, there was a tendency in the selection group to higher glycolytic characteristics with respect to the control group, manifested by the higher activity of aldolase ( $P < 0.05$ ) in the selection group. This is in accordance with the results of Ouhayoun and Delmas (1983) - who found that rabbits with a higher average daily gain presented a higher glycolytic activity of the *M. longissimus dorsi* (accompanied by a higher development of the musculature) - and with the poorer WHC (higher PRW) of the meat from this group with respect to the control. Dalle Zotte and Ouhayoun (1995) and Dalle Zotte, Ouhayoun, Parigi-Bini & Xiccato (1996) reported slightly higher values of aldolase (800-900 UI/g) in New Zealand White breed and Provisal hybrid rabbits with respect to the present study. However, the values for ICDH activities found here were similar to the ones reported by the same authors, who also reported a decrease in the activity of this enzyme from 55 days of age to 70-80 days. In this study, no significant differences in ICDH activity were found between the control and selection groups.

#### 4.1.4.2. *Texture properties*

Table 3 shows the least squares means and standard errors of instrumental texture variables in the two groups of rabbits measured by the WB and TPA methods. In the WB test the Maximum Shear Force variable coincided with the Yield Force (Results not shown). According to Møller (1980) Maximum Shear Force is correlated with connective resistance and Yield Force is related to myofibrillar resistance in beef. In other studies dealing with rabbit meat only the Maximum Shear Force was measured (Combes *et al.* 2000; Xiccato, Parigi-Bini, Dalle Zotte & Carazzolo, 1994). Pla, Guerrero, Guàrdia, Oliver & Blasco (1998) also measured the Yield Force in rabbit meat. These authors obtained the same force values for Yield and Maximum Shear as in the present study. These results seem to indicate a minor contribution of the connective tissue to the tenderness of rabbit meat in the experimental conditions used in this study. The results for Shear Firmness ( $kg/s \times cm^2$ ) were significant ( $p < 0.001$ ) indicating that the meat of the selection group showed more resistance to cutting than the meat of the control group. Shear Force and Total Work (defined as Area), calculated in the WB test, were not significantly different. The results for TPA test showed significant differences between groups in chewiness, gumminess and hardness, which were higher in the selection group than in the control group. These results were related to those in the WB test for firmness. Although there were no significant differences in Shear Force, the rabbit meat of the selection group was harder than the meat of the control group. Results from sensory analysis of the same samples reported here (Hernández, Guerrero, Ramírez, Ariño & Blasco, 2003) showed no significant differences in hardness between both groups.

#### 4.1.4.3. *Relationship between carcass, meat quality, texture and biochemical traits in the control and selection groups of rabbits.*

The Principal Component Analysis of carcass and meat quality and biochemical traits is shown in Figure 1. The first two axis were able to differentiate between groups C and S and between males and females for the selected variables. The

first principal component accounted for 21.4% of the total variance. This axis was explained by carcass variables (LW, CCW, perirenal and scapular fat content), by glycolytic traits (aldolase activity and the ratio) and by TPA parameters. The selection group (S) was located in the positive part of this axis while the control group (C) was located on the opposite side (the negative part of the axis). The second dimension accounted for 19.5% of the total variance and the difference was mainly between males and females. Colour parameters were situated in the positive zone of this axis as well as the male group, whereas the female group together with the WB shear force and area variables were found in the negative part of this dimension. The differences found between both sexes, although interesting, were out with the scope of the present study. The objective was not focused on the analysis of the effect of sex, because line R is used either as terminal sire in crosses or as a pure line.

In conclusion, the results confirmed a positive effect of the selection group (faster growth rate) on productive traits (i.e. live and carcass weight) and a negative effect on instrumental texture properties and on the percentage of released water (water holding capacity) of the meat. These changes in meat quality were related to the higher glycolytic metabolism found in this group (Dalle Zotte, 2002). That would mean that meat from rabbits of the selection group would probably have a poorer eating quality since consumers normally prefer tender and juicy meat (Rousset & Jolivet, 2000). Animals commercialized in Spain at present are from the selection group (21st generation); therefore, their characteristics could influence negatively the acceptability of rabbit meat to consumers. This, however, should be confirmed by a consumer preference study.

#### **4.1.5. Acknowledgements**

The authors thank Maria José Bautista for her technical assistance. This work was partly financed by the *Comisión Española Interministerial de Ciencia y Tecnología* (CICYT). We thank the *Programa de Mejoramiento de Profesores* (PROMEP) *Secretaría de Educación Pública* (SEP) of México for the grant

awarded to Jorge A. Ramírez to finance his doctoral studies in the Universitat Autònoma de Barcelona.

#### **4.1.6. References**

- Alasnier, C., Rémignon, H. & Gandemer, G. (1996) Lipid Characteristics Associated with Oxidative and Glycolytic Fibres in Rabbit Muscles. *Meat Science*, 43, 213-224.
- Ansary, M. (1974) Développement biochimique du muscle de foetus bovin 3. Enzymes et differentiation. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* 14, 105-116.
- Baselga, M. (2002) Line R (Spain) in Rabbit genetic resources in Mediterranean countries. Eds. Options méditerranéennes.
- Blasco A., Ouhayoun, J. (1996) Harmonization of criteria and terminology in rabbit meat research: Revised Proposal. *World Rabbit Science* 4 (2), 93-99.
- Bolet, G., Brun ; J.M., Monnerot, M., Abeni, F., Arnal, C., Arnold, J., Bell, D., Bergoglio, G., Besenfelder, U., Bosze, S., Boucher, S., Chanteloup, N., Ducourouble, M.C., Durand-Tardif, M., Esteves, P.J., Ferrand N., Gautier, A., Haas, C., Hewitt, G., Jehl, N., Joly, T., Koehl, P.F., Laube, T., Lechevestrier, S., López, M., Masoero, G., Menigoz, J.J., Piccinin, R., Queney, G., Saleil, G., Surridge, A., van der Loow, W., Vicente, J.S., Viudes de castro, M.P., Virag, J.S. & Zimmermann, J.M. (2000) Evaluation and conservation of European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). Genetic resources, first results and inferences. *Proceedings of the 7th. World Rabbit Congress*. Vol. A, 281-316.
- Bourne, M.C. (1978) Texture Profile Analysis. *Food Technology* 32(7), 62-66, 72.
- Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry* 72, 248-254.
- Brady, P.L., Hunecke M.E. (1985) Correlations of sensory and instrumental evaluations of roast beef texture. *Journal Food Science* 50, 300-303.

- Combes, S., Auvergne, A., Lebas, F. (2000) Effect of cooking temperature on Warner-Bratzler tenderness measurement in rabbit meat. *Proceedings of the 7th. World Rabbit Congress*, supp 1, vol A, 573-578.
- CIE. (1976) Commission Internationale de l'Éclairage. *Colorimetry*. Publication 15. Bureau Central de la CIE, Vienna, Austria.
- Dalle Zotte, A. (2002) Perception of rabbit meat quality and major factors influencing the rabbit carcass and meat quality. *Livestock Production Science* 75, 11-32.
- Dalle Zote, A., Ouhayoun, J. (1995) Post-weaning evolution of muscle energy metabolism and related physico-chemical traits in rabbit. *Meat Science* 39, 395-401.
- Dalle Zote, A., Ouhayoun, J., Parigi Bini, R. & Xiccato, G. (1996) Effect of age, diet and sex on muscle energy metabolism and related physicochemical traits in the rabbit. *Meat Science* 43, 15-24.
- Dalle Zote, A. & Ouhayoun, J. (1998). Effect of genetic origin, diet and weaning weight on carcass composition, muscle physicochemical and histochemical traits in the rabbit. *Meat Science* 50, 471-478.
- Dalle Zote, A., Remignon, H. & Ouhayoun, J. (2001) Effect of some biological and zootechnical factors on appearance of giant fibres in the rabbit. Consequences on muscle fibre type, morphology and meat quality. *World Rabbit Science* 9, 1-7.
- Delmas D., Ouhayoun J. (1990) Technologie de l'abattage du lapin. 1- Etude descriptive de la musculature. *Viandes et Produits Carnés* 11, 11-14.
- Essén-Gustavson, B. (1996) Skeletal muscle adaptation with use and disuse. Comparative aspects between species. *42nd. International Congress of Meat Science and Technology*, Lillehammer, Session 5, Lecture 2.
- Gil, M, Serra, X., Gispert, M., Oliver, M.A., Sañudo, C., Panea, B., Olleta, J.L., Campo, M., Oliván, M., Osoro, K., García-Cachan, M.D., Cruz-Sagredo, R. Izquierdo, M., Espejo, M., Martín, M., Piedrafita, J. (2001) The effect of breed-production systems on the myosin heavy chain I, the biochemical



- characteristics and the colour variables of *Longissimus thoracis* from seven Spanish beef cattle breeds. *Meat Science* 58, 181-188.
- Gondret, F. & Bonneau, M. (1998) Mise en place des caractéristiques du muscle chez le lapin et incidence sur la qualité de la viande. *INRA Productions animals* 11, 335-347.
- Hämäläinen, N., Pete, D. (1993) The histochemical profiles of fast fiber types IIB, IID and IIA in skeletal muscles of mouse, rat and rabbit. *J. Histochem. Cytochem.*, 41, 733-743.
- Hamm (1986). Functional properties of the myofibrillar system and their measurement. In: Betchel P.J. (Eds.) *Muscle as food*. (pp 135-199) Academic Press Inc. London.
- Hernández, P., Guerrero, L., Ramírez, J., Ariño, B., Blasco, A. (2003) Efecto de la selección por velocidad de crecimiento sobre la calidad sensorial de la carne de conejo. *Información Técnica Económica Agraria* 24, Tomo I, 256-258.
- Honikel, K.O. (1998) Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. *Meat Science* 49, 447-457.
- Klont, R.E., Brocks L. and Eikelenboom, G. (1998) Muscle fibre type and meat quality. *Meat Science* 49 (Supl.1),S219-S229.
- Lambertini, L., Barilli, M., Lalatta Costerbosa, G. (1996) Considerazioni sulla composizione in fibre del muscolo scheletrico di coniglio. *Rivista di conigliicoltura* 3, 47-51.
- Møller, A. (1980) Analysis of Warner-Bratzler shear force pattern with regard to myofibrillar and connective tissue components of tenderness. *Meat Science* 5, 247-260.
- Oliver, M.A., Guerrero, L., Díaz, I., Gispert, M., Pla, M. & Blasco, A. (1997) The effect of fat-enriched diets on the perirenal fat quality and sensory characteristics of meat from rabbits. *Meat Science* 47, 95-103.
- Ouhayoun, J. & Delmas, D. (1983) Valorisation comparée d'aliments à niveaux protéiques différents, par des lapins sélectionnés sur la vitesse de croissance et par des lapins provenant d'élevages traditionnels. 2- Étude de la

- composition azotée et du métabolisme énergétique des muscles *L. dorsi* et *B. femoris*. *Ann. Zootech.*, 32, 277-286.
- Petersen, J.S., Henckel, P., Oksbjerg, N. & Sorensen, M.T. (1998) Adaptations in muscle fibre characteristics induced by physical activity in pigs. *J. Animal Science*, 66:733-740.
- Picard, B., Leger, J. & Robelin, J. (1994) Quantitative determination of type I myosin heavy chain in bovine muscle with antimyosin monoclonal antibodies. *Meat Science* 36, 333-343.
- Plá, M., Hernández, P., Blasco, A. (1995) The colour of rabbit carcasses and meat. *Meat Focus International* 4 (5), 181-183.
- Pla, M., Guerrero, L., Guardia, D., Oliver, M. A. & Blasco, A. (1998) Carcass characteristics and meat quality of rabbit line selected for different objectives: I. Between lines comparison. *Livestock Production Science* 54, 115-123.
- Pla M., Apolinar R. (2000) The filter-paper press as method for measuring water holding capacity of rabbit meat. *Proceedings of the 7th. World Rabbit Congress*, 659-662
- Rousset, S., Jolivet, P. (2002) Discrepancy between the expected and actual acceptability of meat products, eggs and fish: the case of older consumers. *Journal of Sensory Studies* 17 (1), 61-75.
- SAS. (2000) *SAS/STAT user's guide. Release 8.1. Statistical Analysis System*, SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, U.S.
- Termin, A., Staron, R.S. & Pette, D. (1989). Myosin heavy chain isoforms in histochemically defined fiber types of rat muscles. *Histochemistry*, 92, 453.
- Valin, C. & Ouali, A. (1992) Proteolytic muscle enzymes and *post-mortem* meat tenderisation. In: Smulders F.J.M., Toldrá F., Flores J., Prieto M. (Eds.) *New technologies for meat and meat products* (pp. 163-178) Utrecht: ECCEAMST.

- Vicente, J.S., Viudes-de-Castro, M.P., García, M.L. (1999). *In vivo* survival rate of rabbit morulae after vitrification in a medium without serum protein. *Reproduction Nutrition Development* 39, 657-662.
- Vigneron, P., Bacou, F., Ashmore, C.R. (1976). Distribution heterogeneity of muscle fiber types in the rabbit *Longissimus* muscle. *Journal of Animal Science* 43(5), 985-988.
- Wyszecki, G. and Stiles, W.S. (1967) *Colour Science*. New York: John Wiley and Sons, U.S.A.
- Xiccato G., Parigi-Bini R., Dalle-Zotte A., Carazzolo A. (1994) Effect of age, sex and transportation on the composition and sensory properties of rabbit meat. *Proceedings of the 40th. International Congress of Meat Science and Technology*, The Hague, Holland. W-2.02.

Figura 4.1.1. Principal Component Analysis of carcass and meat quality and biochemical parameters. C: Control Group; S: Selection Group; CM: Males of Control group; CF: Females of Control Group; SM: Males of Selection Group; SF: Females of Selection Group; LW: Live Weight; CCW: Carcass Weight; Ratio: aldolase: isocitrate dehydrogenase.

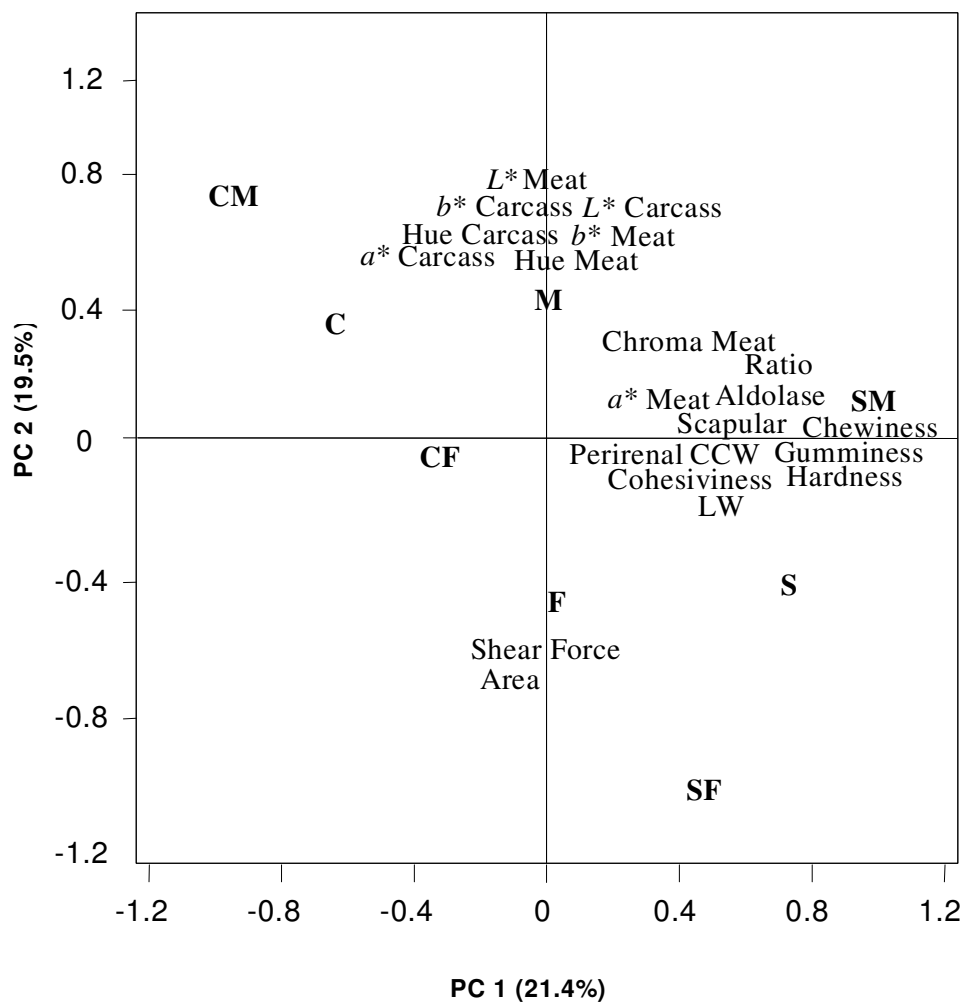


Table 1. Least squares means and standard error of carcass traits of rabbits selected by growth rate.

Traits	Group		Standard Error	Significance Level <sup>a</sup>
	Control	Selection		
<b>Live Weight (g)</b>	2261.45	2485.33	32.5	***
<b>Carcass Weight (g)</b>	1230.08	1348.33	20.1	***
<b>Perirenal Fat (g)</b>	15.02	18.27	0.73	**
<b>Scapular Fat (g)</b>	6.20	8.64	0.41	***
<b><i>L</i>*<sub>carcass</sub></b>	54.90	54.52	0.31	NS
<b><i>a</i>*<sub>carcass</sub></b>	2.84	2.85	0.10	NS
<b><i>b</i>*<sub>carcass</sub></b>	0.21	-0.54	0.24	*
<b>Chroma<sub>carcass</sub></b>	3.35	3.48	0.11	NS
<b>Hue<sub>carcass</sub></b>	0.06	-0.24		**

*L*\*, *a*\*, *b*\*, *Chroma* and *Hue*: Colour variables.

a: NS, no significant ( $p > 0.05$ ); \*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ ; \*\*\*,  $p < 0.001$ .

Table 2. Least squares means and standard error of meat quality and biochemical traits of *M. longissimus thoracis and lumborum* of rabbits selected by growth rate.

Traits	Group		Standard Error	Significance Level <sup>a</sup>
	Control	Selection		
<b>pH<sub>24</sub></b>	6.00	6.02	0.03	NS
<b>PRW (%)</b>	33.29	35.57	0.64	*
<b>Meat Colour Variables</b>				
<i>L*</i> <sub>meat</sub>	50.63	50.17	0.40	NS
<i>a*</i> <sub>meat</sub>	5.29	5.86	0.21	NS
<i>b*</i> <sub>meat</sub>	2.47	2.85	0.13	*
<b>Chroma</b> <sub>meat</sub>	5.89	6.58	0.22	*
<b>Hue</b> <sub>meat</sub>	0.44	0.45	0.02	NS
<b>MHC-I (%)</b>	12.5	9.8	0.7	*
<b>ICDH (UI/g muscle)</b>	4.66	4.79	0.10	NS
<b>Aldolase (UI/g muscle)</b>	597.11	636.83	11.28	*
<b>Ratio Aldo:ICDH</b>	132.89	136.72	4.23	NS

pH<sub>24</sub>: pH at 24 hours *post mortem*; PRW:Percentage of Released Water; *L\**, *a\**, *b\**, *Chroma* and *Hue*: Colour variables in meat; MHC-I: Myosin Heavy Chain I; ICDH: Isocytate deshydrogenase; Ratio Aldo:ICDH: Ratio Aldolase:ICDH.  
a: NS, no significant (p>0.05); \*, p<0.05.

Table 3. Least squares means and standard error of texture variables by Warner-Bratzler Method and Texture Profile Analysis of rabbits selected by growth rate.

	Group		Standard Error	Significance Level <sup>a</sup>
	Control	Selection		
<b>Warner-Bratzler Test</b>				
<b>Shear Force (<math>kg/cm^2</math>)</b>	3.88	3.99	0.15	NS
<b>Area (<math>kg \cdot s/cm^2</math>)</b>	6.41	6.42	0.28	NS
<b>Shear firmness (<math>kg/s \cdot cm^2</math>)</b>	1.34	1.69	0.07	***
<b>TPA Test</b>				
<b>Springiness</b>	0.43	0.43	0.01	NS
<b>Cohesiveness</b>	0.47	0.48	0.003	NS
<b>Chewiness (<math>kg</math>)</b>	1.95	2.37	0.98	**
<b>Gumminess (<math>kg</math>)</b>	4.54	5.31	0.19	**
<b>Hardness (<math>kg</math>)</b>	9.65	11.29	0.35	***

a: NS, no significant ( $p>0.05$ ); \*\*,  $p<0.01$ ; \*\*\*,  $p<0.001$ .

El Capítulo II esta basado en el artículo:

*Fatty acid composition of leg meat and perirenal fat  
of rabbits selected by growth rate*

Jorge A. Ramírez, Isabel Díaz, Marcial Pla, Marta Gil, Agustín Blasco  
and Maria Angels Oliver

Publicado en: **Food Chemistry**



## CAPITULO II

### **Fatty acid composition of leg meat and perirenal fat of rabbits selected by growth rate**

Jorge A. Ramírez<sup>a1</sup>, Isabel Díaz<sup>a</sup>, Marcial Pla<sup>b</sup>, Marta Gil<sup>a</sup>, Agustín Blasco<sup>b</sup>  
and Maria Angels Oliver<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> *IRTA Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries, Centre de Tecnologia de la Carn, Granja Camps i Armet, 17121, Monells, Girona, Spain.*

<sup>b</sup> *Departamento de Ciencia Animal, Universidad Politécnica de Valencia, P.O. Box 22012, Valencia 46071, Spain.*

<sup>1</sup> *Present address: Facultad de Ciencias Químicas/Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Av. Dr. Manuel Nava No. 6, Zona Universitaria, C.P. 78210. San Luis Potosí, S.L.P. México.*



#### **4.2.1. Abstract**

The effect of selection for growth rate on the fatty acid composition of edible rabbit fat and meat was studied. Two groups of contemporary animals, one selected for growth rate (S) during 14 generations and other unselected control group (C) were compared. Control group were the offspring of animals originated from embryos that were vitrified at the beginning of the experiment and thawed to produce a control group contemporary with the selected group. Forty four rabbits of both sexes of group C and forty of group S were used in the experiment. The composition of fatty acids of the meat of a hind leg and of the perirenal fat was determined by gas chromatography. Selection for growth rate modified the percentage of fatty acids both in meat and in perirenal fat, and increased the content of most fatty acids in meat, but the indices related to human health were only slightly modified by selection. The changes in percentage of fatty acids in meat affected myristic (2.24 and 2.48, for C and S, respectively) palmitic (25.38 and 26.50), cis *n*-7 palmitoleic (2.08 and 2.79), oleic (22.52 and 23.51), linoleic (31.41 and 29.06) and arachidonic (2.10 and 1.77) acids. The highest change in indices related to human health was a 10% of reduction of the ratio Polyunsaturated: Saturated fatty acids, which represents less than a 1% of change per generation. The ratio *n*-6:*n*-3 fatty acids slightly improved. Selection for growth rate does not damage the quality of meat and edible fat from a human health point of view.

*Key words:* Fatty acids; Inter and intramuscular fat content, Rabbit meat; Genetics; Growth Rate.

### 4.2.2. Introduction

There is an increasing interest in the lipid composition of edible meat and fat of domestic animals because of its relationship with human health, particularly with cardiovascular illnesses (Hu and Willet, 2002). It is well known that the quantity and composition of the fatty acids found in monogastrics is directly influenced by the composition of the diet (see in rabbits, for example, Bernardini, Dal Bosco and Castellini, 1999; Oliver, Guerrero, Díaz, Gispert, Pla and Blasco, 1997). However there are no studies about the effect of selection for growth rate in the fatty acid composition of the meat. Rabbit genetic improvement programs are based in a three way cross in which the terminal sire is selected by growth rate (Blasco, 1996). Rabbit breeders and consumers are interested in knowing the consequences of this selection in the fatty acid composition of rabbit edible fat and meat. The only experiment carried out in monogastrics about the effect of selection on fatty acid composition is due to Cameron *et al.* (2000), who found differences in fatty acid composition of intramuscular fat of pig lines selected for different objectives (appetite, low food conversion rate and high lean growth tissue), but studies on rabbit meat have been focused in diet and there are no studies on the correlated response to selection for growth rate on the fatty acids composition.

### 4.2.3. Materials and Methods

Rabbit can be considered a model for other species like pigs or chicken. It has a short generation interval (6 months) and some types of experiments in rabbits are not feasible in other monogastrics, for example those which require maintaining frozen control populations. The aim of this study was to assess the effect of selection for growth rate in fatty acid composition of rabbit meat and edible fat by means of comparing a population selected for growth rate with a contemporary control population that was frozen at the beginning of the experiment and thawed several generations later.

#### 4.2.3.1. *Animals*

Animals came from a synthetic line selected for high growth rate between the 4th. and 9th. weeks of life by individual selection (Estany, Camacho, Baselga and Blasco, 1992). This line was formed by crossing a Californian line with a synthetic line created by mating commercial crossbred rabbits. Matings involved approximately 25 males and 90 females per generation.

Embryos belonging to generation 7 of selection were vitrified and thawed to be contemporary of animals born in generation 21. The procedure is described by Vicente, Viudes-de-Castro and García (1999). The control group (C) was formed from offspring of the thawed embryos, to avoid any effect of cryoconservation, and was maintained contemporary to rabbits from generation 21 of the selection line, fed with the same food and in the same farm. Forty four rabbits of group C and 40 rabbits of group S, chosen at random from litters of at least 6 young rabbits, one male and one female per litter, were used to assess the effects of selection for growth rate.

Animals were reared at the experimental farm of the Universidad Politécnica de Valencia. After weaning at 4 weeks of age, rabbits were placed in collective cages with 8 individuals each, and fed *ad libitum* with a commercial pelleted food (16.0% crude protein, 15.5% fibre, 3.4% fat) until 9 weeks of age, at which commercial slaughter weight in Spain (about 2 kg) was expected to be reached. Rabbits were slaughtered at a slaughter house in the farm, so there was no stress due to transport. No fastening was practised. Hot carcasses were put in a ventilated area for one hour, and were then stored at 3-5°C during 24 hours.

#### 4.2.3.2 *Fatty acid composition*

Meat and perirenal fat samples were taken 24 h post mortem. A whole (deboned) hind leg was ground up using a domestic mincing machine and a 10 g sample was weighed. Another 20 g sample was then immediately taken from the remaining meat in order to predict its ethereal extract content using a NIR spectroscope (Model 5000, NIR Systems Inc., Silver Spring, MD, USA). Perirenal fat was

weighed and a 10 g sample was taken. All samples were kept in vacuum-sealed aluminium bags and stored at -20°C for later analysis at the Meat Technology Centre (IRTA) in Monells.

Fatty acids were extracted from meat using chloroform-methanol 2:1 (Folch, Lees and Stanley, 1957). The solution was then treated in a separation funnel with a saturated solution of NaCl (40% in volume with respect to the organic phase). Once the two phases were well separated, the organic phase was added to the internal standard. Concentrated and methyl esters from the fatty acids were obtained through KOH-methanol (0.5 N) and boron trifluoride-methanol 14% (Sigma). The reaction was carried out at 100°C for 1 hour. The fatty acids methyl esters were extracted into hexane after addition of water saturated with NaCl (Díaz, 1994). The composition of the fatty acids was determined by gas chromatography (GC) using a Hewlett-Packard 5890 gas chromatograph equipped with a split flame ionisation detector and using a capillary column (DB 225 J&W, 30 m long, 0.25 mm internal diameter, 0.25 µm film thickness) and containing a polar stationary phase (cyano-propylphenyl-methylpolysiloxane). The carrier gas was Helium at flow rate of 1 mL/min. Oven temperature remained at 110°C for 1 minute, increasing to 230 at a rate of 4°C/min. The temperatures of the injector and detector were 250°C. Meat fatty acids were quantified using pentadecanoic acid (C15:0) as an internal standard. The methyl esters were identified using a Sigma Chemical Co. Standard (Lipid Standard: Fatty Acid Methyl Ester Mixture # 189-19). Perirenal fat lipids were extracted and subsequently methylated following the same procedure as in the extraction of meat fatty acids. For the analysis of perirenal fat an internal standard was not used. The commercial diet used in the experiment was also analysed, and the analysis gave a high proportion of C18:2 *n-6* (45.5%), C18:1 *n-7* (22%) and C16:0 (17.7%). The percentage of C18:3 *n-3* was 6.4%.

#### 4.2.3.3. *Statistical analysis*

Least square means were calculated to compare both groups. The GLM program of the SAS statistical package was used (SAS 1988).

#### 4.2.4. **Results and Discussion**

Selection for growth rate was successful, improving growth rate about a 1% per generation (Piles and Blasco, 2003). This led to differences in carcass weight at the same age. Least square means and standard errors of carcass weight were  $1230 \pm 20$  g and  $1348 \pm 20$  g, for groups C and S, respectively ( $P < 0.01$ ).

##### 4.2.4.1. *Effect of selection on fatty acid composition of the hind leg meat*

Selection for growth rate seems to have increased the fat content in the meat of the hind leg from  $2.97 \pm 0.10$  (group C) to  $3.21 \pm 0.10$  (group S),  $P < 0.10$ . This has led to a general increase of the amount of fatty acids in the meat, although this increase has not been the same for all fatty acids. In a similar experiment in rabbits, made with the same line but in different generations, Piles, Blasco and Pla (2000) did not find either clear differences in fat content of the hind leg between a control group and a group selected for growth rate.

Table 1 shows the fatty acid composition of the meat of the hind leg for both groups, whereas table 2 shows the relative percentage of these fatty acids. Selection for growth rate did not decrease the content of any fatty acid, whereas clearly increased the content of myristic, palmitic, palmitoleic, C16:1 *n*-9, margaric, C17:1, oleic and C20:2 *n*-6 fatty acids. This increase was particularly high for palmitoleic (augmenting a 55%) and Heptadecenoic (39%). The relative composition of fatty acids has been also modified; differences between C and S groups were found for myristic, palmitic, palmitoleic, oleic, linoleic and arachidonic acids, some of the changes being relevant.

Fatty acids C18:1 trans, C18:3 *n*-6 ( $\gamma$ -linolenic) and C20:5 *n*-3 (icosapentaenoic) were not detected in concentrations greater than 0.01%. When considering the

percentages, the C18:1 trans, C18:3 *n*-6 ( $\gamma$ -linolenic) and long-chain fatty acids, C20:0, C20:3 *n*-3 and C20:5 *n*-3 (EPA), were below 0.01%.

There are no experiments of selection in the literature in which correlated response to selection for growth rate on fatty acid composition is assessed. Cameron *et al.* (2000) found in intramuscular fat of pigs some differences between lines selected for other criteria than ours: daily gain, food conversion rate and lean growth rate (i.e., growth rate corrected by fatness). Comparisons of the mean quantities with other experiments should be taken with caution, because fatty acid composition is affected by specie and diet (Oliver *et al.*, 1997; Bernardini *et al.*, 1999). When comparing rabbit meat to other meats, differences in fatty acid composition are large (see, for example Enser, Hallet, Hewett, Fursey and Wood, 1996, for comparisons with beef, lamb and pork).

#### 4.2.4.2. Fatty acid composition in perirenal fat

Table 3 shows the percentage of weight of total fatty acids of perirenal rabbit fat. Here selection also changed the proportions of several fatty acids; percentage of capric, lauric, pentadecanoic, palmitoleic, margaric and C20:0 was modified by selection for growth rate. The changes were not as pronounced as in the meat of the hind leg, with the exception of palmitoleic. As in the meat, the percentage of linoleic acid was very high as a consequence of the rabbits diet. Fatty acid C18:3 ( $\alpha$ -linolenic) was detected in greater concentrations in perirenal fat compared with the concentration in the meat of the hind leg. Some Fatty acids not found in the meat of the hind leg (C14:1, C15:0,  $\gamma$ -linolenic, C20:0 and C20:3 *n*-3) were detected in perirenal fat, though in very low percentages. C18:1 trans and C20:5 *n*-3 (EPA) fatty acids were detected in concentrations lower than 0.01%.

#### 4.2.4.3. Indices related to human health

Tables 4 and 5 show the indices related to human health for the meat of the hind leg and for perirenal fat, respectively. The nutritional quality of fat has been evaluated in terms of the ratio Polyunsaturated : Saturated Fatty Acids (P:S),



and the ratio (*n-6*) : (*n-3*) fatty acids. In a balanced diet, the recommended ratio for P:S is 0.45 or higher (Department of Health and Social Security UK, 1994), and that for the ratio *n-6:n-3* a maximum of 4.0 is recommended.

Selection for growth rate modified some of the indices, although these modifications were small. The highest effect of selection was for the P:S ratio of the meat of the hind leg, which only decreased a 10% in 14 generations of selection, which represents less than a 1% per generation. Selection seems to have improved ( $P<0.10$ ) the ratio *n-6:n-3* fatty acids in the meat, but no differences were found for this ratio in perirenal fat. This ratio is very high in rabbit meat, due to the high content in linoleic acid. (for example, our values were similar to the results published by Dalle Zote (2002), who reported a *n-6:n-3* index of 11.6 for the meat of rabbit hind leg). As we said before, there are no other selection experiments for which our results could be compared. In the experiment with pigs quoted before, Cameron *et al.* (2000) found very small differences between the selected lines and the control line for the ratio *n-6:n-3* after seven generations of selection. In the same experiment, the ratio P:S only changed for the line selected for low food conversion rate. Lines selected for growth rate corrected for fatness cannot be properly compared with our line, but they did not change their P:S ratio.

In conclusion, selection for growth rate changes the fatty acid composition of both meat and edible fat. This change can be high for some fatty acids (for example palmitoleic), but changes of indices related to human health are very small. Some of the changes in these indices are favourable and some of them are not favourable, but as a whole, the effects of selection for growth rate does not lower the meat and fat quality from a human health point of view.

#### 4.2.5. Acknowledgements

This work was partly financed by the CICYT AGF98-0382 and AGL2002-04383. We thank the *Programa de Mejoramiento de Profesores (PROMEP) Secretaría de Educación Pública (SEP)* of México for the grant awarded to Jorge A. Ramírez to finance his doctoral studies in the Universitat Autònoma de Barcelona and at the Centre de Tecnologia de la Carn - IRTA.

#### 4.2.6. References

- Bernardini, M., Dal Bosco, A. and Castellini, C. (1999). Effect of dietary  $n-3/n-6$  ratio on fatty acids composition of liver, meat and perirenal fat in rabbits. *Animal Science*, 68, 647-654.
- Blasco A., 1996. Genetics of litter size and does fertility in the rabbit. 6<sup>th</sup> *World Rabbit Congress*. (vol 2: 219-228), Toulouse.
- Cameron, N.D, Enser, M., G. R. Nute, G.R., Whittington, F.M. ,Penman, J.C., Fiskén, A.C., Perry, A. M. and Wood, J.D. 2000. Genotype with nutrition interaction on fatty acid composition of intramuscular fat and the relationship with flavour of pig meat. *Meat Science* 55:187-195.
- Dalle Zote, A. (2002). Perception of rabbit meat quality and major factors influencing the rabbit carcass and meat quality. *Livestock Production Science*, 75, 11-32.
- Department of Health and Social Security (1994). Nutritional aspects of cardiovascular disease (Report on health and social subjects no. 46). H.M. Stationery Office, London.
- Díaz, I. (1994) *Modificaciones de la composición lipídica durante procesos tecnológicos del jamón curado*. Tesis Doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona. Spain.
- Enser, M., Hallet, K., Hewett, B., Fursey, G.A.J. & Wood, J.D. (1996). Fatty acid content and composition of English beef, lamb and pig at retail. *Meat Science*, 42, (4), 443-456.

- Estany J.; Camacho, J.; Baselga, M.; Blasco, A. (1992). Selection and genetic response on growth rate in rabbits for meat production. *Génétique, Sélection, Evolution*. 24: 527-537.
- Folch, J., Lees, M. and Stanley, G.H.S. (1957). A simple method for the isolation and purification of lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226, 497-509.
- Hu, F.B.; Willett, W.C. (2002). Optimal diets for prevention of coronary heart disease. *J. Amer. Med. Assoc.* 288: 2569-2578.
- Oliver, M.A., Guerrero, L., Díaz, I., Gispert, M., Pla, M., Blasco, A. (1997). The effect of fat-enriched diets on the perirenal fat quality and sensory characteristics of meat from rabbits. *Meat Science*, 47, (1/2), 95-103.
- Piles M., Blasco A. (2003). Response to selection for growth rate in rabbits. *World Rabbit Science* 11: 1-11.
- Piles, M., Blasco, A., Pla, M. (2000) The effect of selection for growth rate on carcass composition and meat characteristics of rabbits. *Meat Science*, 54, 347-355.
- SAS (1988). *SAS/STAT User's Guide Statistics*. Cary, NC: SAS Institute Inc.USA.
- Vicente, J.S.; Viudes-de-Castro, M.P.; García, M.L. (1999). *In vivo* survival rate of rabbit morulae after vitrification in a medium without serum protein. *Reproduction Nutrition Development* 39, 657-662.

Table 1. Least square means and standard errors of fatty acids content in the hind leg meat (mg/100g of meat).

Fatty acids	Group		Significance
	Control (n = 44)	Selection (n = 40)	
<b>C10:0 (Capric)</b>	3.75 ± 0.97	3.19 ± 1.01	ns
<b>C12:0 (Lauric)</b>	4.97 ± 0.65	6.27 ± 0.68	ns
<b>C14:0 (Myristic)</b>	54.21 ± 2.69	67.05 ± 2.82	**
<b>C16:0 (Palmitic)</b>	607.74 ± 23.42	712.28 ± 24.56	**
<b>C16:1 Cis <i>n</i>-7 (Palmitoleic)</b>	50.19 ± 4.92	78.00 ± 5.16	***
<b>C16:1 <i>n</i>-9</b>	7.88 ± 0.34	9.36 ± 0.36	**
<b>C17:0 (Margaric)</b>	14.69 ± 0.60	16.91 ± 0.63	*
<b>C17:1 (Heptadecenoic)</b>	4.84 ± 0.55	6.74 ± 0.58	*
<b>C18:0 (Stearic)</b>	169.12 ± 5.61	185.01 ± 5.88	†
<b>C18:1 <i>n</i>-9 (Oleic)</b>	537.88 ± 23.16	635.27 ± 24.29	**
<b>C18:1 <i>n</i>-7</b>	31.79 ± 1.26	34.86 ± 1.32	†
<b>C18:2 <i>n</i>-6 (Linoleic)</b>	757.89 ± 31.70	776.84 ± 33.24	ns
<b>C18:3 <i>n</i>-3 (<math>\alpha</math>-Linolenic)</b>	77.92 ± 4.59	81.20 ± 4.81	ns
<b>C20:1 (Icosaenoic)</b>	8.24 ± 0.70	9.96 ± 0.73	†
<b>C20:2 <i>n</i>-6</b>	10.95 ± 0.56	12.78 ± 0.58	*
<b>C20:3 <i>n</i>-6</b>	6.67 ± 0.51	6.68 ± 0.54	ns
<b>C20:4 <i>n</i>-6 (Arachidonic)</b>	47.98 ± 1.18	45.44 ± 1.24	ns

ns : No significant; † p < 0.10; \* p < 0.05; \*\* p < 0.01; \*\*\* p < 0.001.

Table 2. Least square means and standard errors of relative percentage of fatty acids in rabbit hind leg meat.

Fatty Acids	Group		Significance
	Control (n = 44)	Selection (n = 40)	
<b>C10:0 (Capric)</b>	0.11 ± 0.02	0.11 ± 0.02	ns
<b>C12:0 (Lauric)</b>	0.20 ± 0.02	0.23 ± 0.02	ns
<b>C14:0 (Myristic)</b>	2.24 ± 0.05	2.48 ± 0.05	***
<b>C16:0 (Palmitic)</b>	25.38 ± 0.24	26.50 ± 0.25	**
<b>C16:1 Cis <i>n</i>-7 (Palmitoleic)</b>	2.08 ± 0.12	2.79 ± 0.13	***
<b>C16:1 <i>n</i>-9</b>	0.33 ± 0.01	0.35 ± 0.01	ns
<b>C17:0 (Margaric)</b>	0.61 ± 0.02	0.63 ± 0.02	ns
<b>C17:1 (Heptadecenoic)</b>	0.21 ± 0.02	0.24 ± 0.02	ns
<b>C18:0 (Stearic)</b>	7.19 ± 0.13	6.91 ± 0.14	ns
<b>C18:1 <i>n</i>-9 (Oleic)</b>	22.52 ± 0.38	23.51 ± 0.39	†
<b>C18:1 <i>n</i>-7</b>	1.35 ± 0.03	1.29 ± 0.03	ns
<b>C18:2 <i>n</i>-6 (Linoleic)</b>	31.41 ± 0.62	29.06 ± 0.65	*
<b>C18:3 <i>n</i>-3 (α-Linolenic)</b>	3.17 ± 0.12	3.02 ± 0.13	ns
<b>C20:1 (Icosaenoic)</b>	0.34 ± 0.02	0.36 ± 0.02	ns
<b>C20:2 <i>n</i>-6</b>	0.47 ± 0.02	0.48 ± 0.02	ns
<b>C20:3 <i>n</i>-6</b>	0.28 ± 0.02	0.26 ± 0.02	ns
<b>C20:4 <i>n</i>-6 (Arachidonic)</b>	2.10 ± 0.08	1.77 ± 0.08	***

ns : No significant; †  $p < 0.10$ ; \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ .

Table 3. Least square means and standard errors of relative percentage of total fatty acids in rabbit perirenal fat

Fatty Acids	Group		Significant level
	Control (n = 44)	Selection (n = 40)	
<b>C10:0 (Capric)</b>	0.37 ± 0.04	0.50 ± 0.05	*
<b>C12:0 (Lauric)</b>	0.38 ± 0.04	0.51 ± 0.04	*
<b>C14:0 (Myristic)</b>	2.63 ± 0.06	2.74 ± 0.07	ns
<b>C14:1</b>	0.12 ± 0.05	0.24 ± 0.05	ns
<b>C15:0 (Pentadecanoic)</b>	0.58 ± 0.01	0.64 ± 0.01	**
<b>C16:0 (Palmitic)</b>	25.08 ± 0.27	25.66 ± 0.29	ns
<b>C16:1 Cis <i>n</i>-7 (Palmitoleic)</b>	2.18 ± 0.12	2.61 ± 0.13	*
<b>C16:1 <i>n</i>-9</b>	0.35 ± 0.01	0.33 ± 0.01	ns
<b>C17:0 (Margaric)</b>	0.60 ± 0.01	0.67 ± 0.01	***
<b>C17:1 (Heptadecenoic)</b>	0.24 ± 0.02	0.29 ± 0.02	ns
<b>C18:0 (Stearic)</b>	5.31 ± 0.11	5.33 ± 0.13	ns
<b>C18:1 <i>n</i>-9 (Oleic)</b>	23.16 ± 0.41	23.00 ± 0.46	ns
<b>C18:1 <i>n</i>-7</b>	1.20 ± 0.03	1.13 ± 0.03	†
<b>C18:2 <i>n</i>-6 (Linoleic)</b>	32.82 ± 0.70	31.47 ± 0.77	ns
<b>C18:3 <i>n</i>-6 (γ-Linolenic)</b>	0.09 ± 0.01	0.06 ± 0.01	†
<b>C18:3 <i>n</i>-3 (α-Linolenic)</b>	3.92 ± 0.13	3.87 ± 0.14	ns
<b>C20:0</b>	0.10 ± 0.01	0.05 ± 0.01	**
<b>C20:1 (Icosaenoic)</b>	0.32 ± 0.02	0.32 ± 0.02	ns
<b>C20:2 <i>n</i>-6</b>	0.27 ± 0.02	0.28 ± 0.02	ns
<b>C20:3 <i>n</i>-6</b>	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.01	ns
<b>C20:3 <i>n</i>-3</b>	0.03 ± 0.00	0.01 ± 0.00	†
<b>C20:4 <i>n</i>-6 (Arachidonic)</b>	0.21 ± 0.01	0.23 ± 0.01	ns

ns : No significant; † p < 0.10; \* p < 0.05; \*\* p < 0.01; \*\*\* p < 0.001.

Table 4. Least square means and standard errors of indices related to human health in rabbit hind leg meat.

	Group		Significance
	Control	Selection	
<b>S</b>	35.73 ± 0.31	36.86 ± 0.33	*
<b>M+P</b>	64.27 ± 0.31	63.14 ± 0.33	*
<b>P:S</b>	1.06 ± 0.03	0.95 ± 0.03	**
<b>S:M</b>	1.35 ± 0.02	1.30 ± 0.02	ns
<b>S:(M+P)</b>	0.56 ± 0.01	0.59 ± 0.01	*
<b>Total n-6</b>	34.26 ± 0.62	31.58 ± 0.65	**
<b>n-6:n-3</b>	11.47 ± 0.30	10.67 ± 0.32	†
<b>(M+P):S</b>	1.81 ± 0.02	1.72 ± 0.03	*

S (Saturated fatty acids)= C10:0 (capric) + C12:0 (lauric) + C14:0 (myristic) + C16:0 (palmitic) + C17:0 (margaric) + C18:0 (stearic).

M (Monounsaturated fatty acids) = C16:1 *n*-7 (palmitoleic) + C16:1 *n*-9 + C17:1 (heptadecenoic) + C18:1 *n*-9 (oleic) + 18:1 *n*-7 + C20:1 (icosaenoic).

P (Polyunsaturated fatty acids) = C18:2 *n*-6 ( $\gamma$ -linoleic)+ C18:3 *n*-3 ( $\alpha$ -linolenic) + C20:2 *n*-6+ C20:3 *n*-6 + 20:4 *n*-6 (arachidonic).

*n*-6 = C18:2 *n*-6 (linoleic) + C20:2 *n*-6 + C20:3 *n*-6 + C20:4 *n*-6 (arachidonic).

*n*-3 = C18:3 *n*-3 ( $\alpha$ -linolenic)

ns : No significant; †  $p < 0.10$ ; \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ .

Table 5. Least Square means and standard errors of fatty acids indices of perirenal rabbit fat related with human health.

	Group		Significance
	Control	Selection	
<b>S</b>	35.04 ± 0.34	36.11 ± 0.37	*
<b>M+P</b>	64.96 ± 0.34	63.89 ± 0.37	*
<b>P:S</b>	1.08 ± 0.03	1.01 ± 0.04	ns
<b>S:M</b>	1.29 ± 0.02	1.30 ± 0.02	ns
<b>S:(M+P)</b>	0.54 ± 0.01	0.57 ± 0.01	*
<b>Total n-6</b>	33.44 ± 0.71	32.08 ± 0.77	ns
<b>n-6:n-3</b>	8.73 ± 0.15	8.38 ± 0.16	ns
<b>(M+P):S</b>	1.87 ± 0.03	1.78 ± 0.03	*

S (Saturated fatty acids)= C10:0 (capric) + C12:0 (lauric) + C14:0 (myristic) + C16:0 (palmitic) + C17:0 (margaric) + C18:0 (stearic).

M (Monounsaturated fatty acids) = C16:1 *n*-7 (palmitoleic) + C16:1 *n*-9 + C17:1 (heptadecenoic) + C18:1 *n*-9 (oleic) + 18:1 *n*-7 + C20:1 (icosaenoic).

P (Polyunsaturated fatty acids) = C18:2 *n*-6 ( $\gamma$ -linoleic)+ C18:3 *n*-3 ( $\alpha$ -linolenic) + C20:2 *n*-6+ C20:3 *n*-6 + 20:4 *n*-6 (arachidonic).

*n*-6 = C18:2 *n*-6 (linoleic) + C20:2 *n*-6 + C20:3 *n*-6 + C20:4 *n*-6 (arachidonic).

*n*-3 = C18:3 *n*-3 ( $\alpha$ -linolenic)

ns : No significant; \*  $p < 0.05$ .





El Capítulo III esta basado en el artículo:

*Effect of selection for growth rate on the ageing of myofibrils, the meat texture properties and the muscle proteolytic potential of longissimus from two groups of rabbits*

Jorge A. Ramírez, Isabel Díaz, Marcial Pla, Marta Gil, Agustín Blasco  
and Maria Angels Oliver

Enviado para publicación a: **Meat Science**

## Capítulo III

### **Effect of selection for growth rate on the ageing of myofibrils, the meat texture properties and the muscle proteolytic potential of *longissimus* from two groups of rabbits**

Marta Gil<sup>1</sup>, Jorge A. Ramírez<sup>1</sup>⊕ Marcial Pla<sup>2</sup>; Beatriz Ariño<sup>2</sup>, Pilar Hernández<sup>2</sup>,  
Mariam Pascual<sup>2</sup>, Agustín Blasco<sup>2</sup>, Luis Guerrero<sup>1</sup>, Gyöngyi Hajós<sup>3</sup>,  
Emöke N. Szerdahelyi<sup>3</sup> and Maria Àngels Oliver<sup>1</sup>,

<sup>1</sup>*IRTA Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries, Centre de Tecnologia de la Carn, Granja Camps i Armet, 17121, Monells, Girona, Spain.*

<sup>2</sup>*Departament de Ciència Animal, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera, 14, 46020, València, Spain.*

<sup>3</sup>*Department of Biochemistry II, Central Food Research Institute, Herman Ottó út 15, H-1022 Budapest, Hungary*

⊕ *Present address: Facultad de Ciencias Químicas/Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Av. Dr. Manuel Nava No. 6, Zona Universitaria. San Luis Potosí, S.L.P. C.P. 78210. México.*



#### 4.3.1. Abstract

The effect of selection for growth rate on the degradation of the myofibrillar proteins and on meat texture properties of rabbit *longissimus* muscle at two ageing times (1 and 7 days) was studied as well as its effect on the proteolytic potential of the muscle. Two groups of contemporary animals (20 rabbits per group), one selected for growth rate (S) for 14 generations and the other unselected control group (C) were compared. The control group was formed from the offspring of the embryos belonging to the 7<sup>th</sup> generation and was compared with selected animals belonging to 21<sup>st</sup> generation. Myofibrillar protein degradation was studied by SDS-PAGE electrophoresis (12.5% and 4-15% polyacrilamide gels) followed by densitometric analysis of the pherograms. Texture properties were evaluated by Warner-Bratzler (WB) test and Texture Profile Analysis (TPA). The activities of proteolytic enzymes calpains and cathepsins and of their inhibitors were determined in the muscle at 24 h. Densitometric analysis of the pherograms of samples aged 7 days showed an extra 30 kDa band and the disappearance of a band with higher molecular weight than the myosin heavy chain with respect to samples aged 24 h in both groups of rabbits. TPA results showed that cohesiveness was significantly lower in meat at 7 days than at 24 h ( $P < 0.0001$ ), whereas springiness and chewiness presented a clear tendency to be lower at 7 days than at 24 h ( $P = 0.0646$  and  $P = 0.0764$ , respectively). Shear firmness (WB test) differed significantly ( $p < 0.001$ ) between C and S groups, whereas no significant differences in shear force and area were found. Selection for growth rate did not affect the activities of proteolytic enzymes or their inhibitors.

*Key Words:* Myofibrillar Protein Degradation; Ageing; Texture; Rabbit; Cathepsins, Calpains.

### 4.3.2. Introduction

Terminal sires for rabbit meat production come from lines selected for high growth rate, since it means economical benefits due to the improvement in the food conversion ratio (Torres, Baselga and Gómez, 1992). Nevertheless, selection for growth rate leads to less mature animals at the same slaughter weight, with consequences in carcass composition and meat quality such as increase of muscle glycoytic activity, lowering of WHC and higher meat hardness (Piles, Blasco and Pla, 2000; Ramírez *et al.*, 2004).

Meat final tenderness depends mainly on the post-mortem changes affecting the contractile system of the muscle, the myofibrils, while the connective tissue represents the “background” toughness. The increase in meat tenderness resulting from ageing at 0-5°C is a consequence of a limited proteolytic degradation of structural (cytoskeletal) components of muscle (Bandman, 1992) by endogenous proteases. The main proteolytic enzymes found in mammalian skeletal muscle, cathepsins and calpains, have been proposed playing an important role in post mortem proteolysis (Koochmaraie, 1994; Ouali, 1990; Roncalés *et al.*, 1995). The rate and extent of post-mortem tenderisation depends on biological factors such as age of the animal, muscle type or species (Etherington, Taylor and Dransfield, 1987; Ouali, 1990; Whipple and Koochmaraie, 1992).

Texture properties of meat are considered one of the most important attributes for consumers. Most of the work on meat texture has been done on pork, beef and poultry, while information on rabbit meat is limited. Pla, Guerrero, Guàrdia, Oliver and Blasco (1998) studied the effect of rabbit genetic line on certain carcass characteristics including textural properties. These authors conclude that differences in tenderness of rabbit loin were more affected by genetic origin than by body weight. Some researchers have worked in the effect of temperature on texture properties of cooked rabbit meat using several cooking temperatures and different rabbit muscles (Cyril, Castellini, and Dal Bosco, 1996; Combes *et al.*, 2001; Cauquil, Combes, Darche, and Lebas, 2001; Combes, Lepetit, Darche and Lebas, 2003).

The aim of this work is to evaluate the effect of selection for growth rate on myofibrillar protein degradation and its relation with meat textural properties in the *longissimus* muscle of one synthetic line of rabbits from two generations (7th. vs. 21st.). It is also to determine the effect of the selection on the muscle proteolytic potential and the relations between proteinases, myofibrillar proteins and texture characteristics in both groups of rabbits. Hitherto, the effect of selection for growth rate on these variables has not been studied.

### **4.3.3. Material and Methods**

#### *4.3.3.1. Animals*

The animals used in this experiment were from a synthetic line selected for growth rate between the 4th and 9th week of life, in the Animal Science Department of Universidad Politécnica of Valencia. Traits of rabbits from 7th and 21st generations were compared: embryos belonging to generation 7th were frozen, thawed and implanted in does to be contemporary of animals born in generation 21st. The control group was formed from the offspring of the embryos belonging to the 7th generation, to avoid the cryoconservation effect. The study was carried out using 63-days-old rabbits (20 per group, 50% of males and 50% of females in each group), according to the usual commercial weight in Spain. Hot carcasses were cooled for 1 h at room temperature and then stored at 4°C for 24 h; after this, they were then dissected. All the rabbits were fed with a commercial diet, which was drawn up to include all essential nutrients to ensure the proper growth of the rabbits.

#### *4.3.3.2. Sampling*

The two loins of each rabbit carcass were used. A sample of 5 g from the right loin between the 8-12th vertebrae level was taken, minced, vacuum-packed in an aluminium bag and kept at -20°C until obtaining the myofibrils and performing the electrophoretic analysis (time = 24 h). The next part of the loin was used to measure the textural properties: the piece of muscle was vacuum packed and kept at -20°C. The left loin was sampled in the same way, except for that the samples

were kept at 4°C for 6 days and then they were moved to -20°C until analysis (ageing time = 7 days).

Cathepsins (cathepsins B, L and H: EC numbers 3.4.22.1, 3.4.22.15 and 3.4.22.16 respectively) and cysteine proteinase inhibitors, calpains (EC 3.4.22.17) and calpastatin were measured in *longissimus* muscle at 24 hours post-mortem. Samples of 10 g from right and left loins at the 7th lumbar vertebrae level were taken for the analysis of proteolytic enzymes. The muscles were vacuum packed and frozen at -20°C until they were required for enzymatic analysis.

#### 4.3.3.3. *Myofibrils preparation*

Myofibrils were obtained according to the method of Bush, Stromer, Goll and Susuki, (1972) using 50mM Tris, 5 mM EDTA and 100 mM KCl, pH 7.6 buffer as the isolation medium. The final residue was suspended in 100mM KCl, 1mM NaN<sub>3</sub>, the sample suspension adjusted to 5 mg protein/mL with the same KCl-NaN<sub>3</sub> solution and stored at -20°C until analysis.

#### 4.3.3.4. *Electrophoresis in denaturing conditions*

Myofibrillar proteins from the suspensions were precipitated with acetone and evaporated to dryness (Speed Vac Sc 210 A). The dried samples were dissolved in the following buffers: 5mM Tris, 0.5 mM EDTA, 1.25% SDS, 1% 2-Mercaptoethanol, 0.1% Urea, pH 8.0 and 8M Urea, 2M Thiourea, 3% SDS, 75 mM DTT, 25 mM Tris, pH 6.8, (Fritz and Greaser, 1991) in a 1:1 proportion. Samples were heated at 50°C for 20 minutes before the electrophoresis.

Electrophoresis was performed in the horizontal Phast System equipment (Amersham Biosciences) using a Phastgel homogeneous 12.5% and a Phastgel gradient 4-15%. Samples (5µg) were run in the stacking gel at 1.0 mA during 1Vh and then the separation gel at 3.0 mA, 80 Vh at 15°C. The gels were stained with Commassie Blue R-350 and the molecular weights of the proteins were estimated by running standard proteins of known weight in each gel (see Fig. 1). Quantification of the major proteins and identification of the bands separated on the gels were performed using a Biotech-Fischer HI-CAM densitometer.



#### 4.3.3.5. Assays of calpains and calpastatin

Five grams of trimmed fresh muscle was homogenised in 15 mL of 50 mM Tris buffer containing 3mM ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), 1mM NaN<sub>3</sub>, and 10 mM mercaptoethanol (MCE). The homogenate was centrifuged at 15000 X g for 25 min and the supernatant obtained after filtering through glass wool was again centrifuged at the same speed and time. The supernatant was filtered through glass wool and calpain I, calpain II and calpastatin were separated by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) using a Biosep-DEAE column (7.5 x 7.8 mm). The supernatant (2 mL) was injected to the column previously equilibrated with 5mM Tris buffer (0.1 mM EDTA, 1mM NaN<sub>3</sub>, 10 mM MCE). The proteins were eluted with a NaCl linear gradient from 50 to 500 mM NaCl in equilibrating buffer for 1 hour. Flow rate was 1mL/min and 1 mL fractions were collected.

Enzyme activities were measured as reported by Rosell and Toldrá (1998), with slight modifications. Casein-fluorescein isothiocyanate (FITC-casein) was dissolved in 100 mM Tris-acetate (pH = 7.5) containing 10 mM MCE and used as substrate. Calpain I and calpain II activity was determined using either 75 or 50 µL of the collected fraction, respectively. FITC-casein was added to a total volume of 100 µL. Calpastatin activity was assessed by incubating 50 µL of the inhibitor fraction with 20 µL of the calpain II fraction previously to the addition of 50 µL of the substrate. Enzyme reaction was started by the addition of 25 µL of 10 mM CaCl<sub>2</sub>. Fluorescent enhancement was continuously monitored at 25°C at an excitation wavelength of 492 nm and an emission wavelength of 520 nm. One unit of calpain activity was defined as the amount of enzyme capable of hydrolysing 1 µmol of substrate per hour at 25 °C, and one unit of calpastatin activity was defined as the amount of inhibitor that inhibits one unit of calpain activity.

#### 4.3.3.6. Assays of cathepsin activities

Two grams of muscle were homogenised in 25 mL 50 mM sodium citrate buffer, pH 5.0, containing 1 mM EDTA and 0.2% (v/v) Triton X-100. The homogenate was centrifuged at 10000 X g for 20 min, and the resulting supernatant filtered through glass wool and used for cathepsin activity assays.

Cathepsin B, B+L and H were assayed as previously described by Toldrá and Etherington (1988), using N-CBZ-L-arginyl-7-amido-4-methylcoumarin, N-CBZ-L-phenylalanyl-L-arginine-7-amido-4-methylcoumarin, both at pH 6.0, and L-arginine-7-amido-4-methylcoumarin at pH 6.8 as specific fluorimetric substrates of cathepsin B, B+L and H, respectively. The reaction mixture consists of 50 µL of enzyme extract and 250 µL of reaction buffer 40 mM sodium phosphate at different pH, containing 0.4 mM EDTA, 10 mM cysteine, and 0.05 mM of the specific substrate. The reaction mixtures with fluorimetric substrates were incubated at 37°C and fluorescence was continuously monitored at an excitation wavelength of 355 nm and an emission wavelength of 460 nm. One unit of cathepsin activity was defined as the amount of enzyme hydrolysing 1 µmol of substrate in 1 h at 37°C.

#### 4.3.3.7. Assay of cysteine proteinase inhibitors activity

The assay of the lysosomal cysteine proteinase inhibitors was carried out according to Bige, Ouali and Valin (1985), with the following modifications: to 1 mL of the muscle extract, obtained as previously described for cathepsins, 5 N NaOH was added until the extract reached a pH of 10, and was then incubated at 37°C for 60 min in order to destroy any residual proteolytic activity. The pH was readjusted to 6.0 by addition of 5 N HCl, the suspension centrifuged at 14000 X g for 10 min at 4°C, and the pH of the supernatant increased to 7.6 with 5 N Na OH. One hundred µL of the prepared extract were incubated at 37°C for 30 min with 50 µL of 10nM papain. Then, 150 µL of reaction buffer (100 mM sodium acetate, pH 6.0, containing 1 mM EDTA, 5 mM dithiothreitol, 0.1% Brij-35 and 20 µM N-CBZ-L-phenylalanyl-L-arginine- AMC) were added and incubated at 37°C again

for 10 min. Fluorescence was measured as previously described for cathepsins. One unit of cysteine proteinase inhibitors was defined as the amount of inhibitor capable of totally blocking one unit of papain activity.

#### *4.3.3.8. Texture analysis*

Muscle samples were thawed at 4°C/24 h in their vacuum-packed plastic bag and then cooked at 80°C/1h by immersion in a water bath with automatic control of temperature (Combes *et al.* 2003). The samples for Warner-Bratzler shear test (WB) were obtained by cutting at least two rectangles of 2 x 1 cm of cross section, parallel to the muscle fibre direction (Guerrero and Guàrdia, 1999). They were completely cut using a WB shear blade with an angular triangular slot cutting edge and three parameters were measured: the initial yield force, the maximum shear force (Møller, 1980) and the shear firmness (Brady and Hunecke, 1985). Additionally, the total work performed to cut the sample or the area under the curve obtained was recorded. Samples for Texture Profile Analysis (TPA) (Bourne, 1978) were obtained by cutting cubes of 1 cm each side parallel to the muscle fibre direction and then compressing to 75% (7.5 mm). In this test the following variables were obtained: springiness, cohesiveness, chewiness and hardness. The Texture Analyser Mod. TA-XT2 (Stable Micro Systems, UK) was used for both tests and all the samples were cut or compressed perpendicular to the muscle fibre direction at a crosshead speed of 10 mm/s. The average value for each LTL sample was recorded (mean of two to four replicates).

#### *4.3.3.9. Statistical analysis*

A least square analysis was performed using the General Linear Model Procedure of the SAS statistical package (SAS, 2000). The effect of genetic type (group), sex and its interaction were included in the first model as fixed effects. The interaction of genetic type x sex was not included in the final model as it was not significant for any variable studied.

A principal component analysis of enzymatic, myofibrillar and textural traits (Proc Factor, SAS 2000) at 24 hours post-mortem was carried out to assess the

relationships between these variables. Only variables showing a final Communality for the first two axes higher than 0.50 were represented graphically.

#### 4.3.4. Results and discussion

##### 4.3.4.1. Myofibrillar degradation

The degradation of myofibrillar proteins between 24 h and 7 days post-mortem in the groups of rabbits C and S was followed by SDS-PAGE electrophoresis and densitometric analysis of the gels. The percentages of the major contractile myofibrillar proteins obtained by densitometry of the 12.5% gels, myosin, actin and  $\alpha$ -actinin were not affected by ageing – as expected - or by group:  $24.1 \pm 5.9\%$ ,  $18 \pm 3.7 \%$  and  $6.5 \pm 2.9\%$ , respectively. Myosin and actin are degraded very little or not at all during meat ageing at 0-5°C, although at temperatures higher than 25°C they can undergo substantial degradation (Koochmaraie, 1994; Roncalés *et al.*, 1995). According to Bandman and Zdanis (1988) these two contractile proteins are very stable and their degradation is very difficult, even after 56 days at 4°C;  $\alpha$ -actinin, the major component of the Z-line, is not noticeably degraded in meat before two weeks of ageing at 4°C (Hwan and Bandman, 1989).

The pherograms of SDS-PAGE of myofibrillar proteins from rabbits of the control and selection group at 24 h and 7 days of ageing are shown in figure 1. In the 12.5% pherograms, the appearance of a band in the zone of 30 kDa, attributed to the degradation of troponin T (Ho, Stromer and Robson, 1994), is observed in the 7-day- aged samples, but not in the 24h-aged samples, irrespective of the group (Figura 4.3.1a). These results are in accordance with Ouali *et al.* (1983) and Prates, Ribeiro and Dias Correia (2001) who describe the appearance of a fragment in this zone during the ageing of rabbit meat.

Many studies on myofibrillar degradation through ageing have been done by analysing the changes in the electrophoretic profile using SDS-PAGE. These studies have shown the appearance of protein fragments of 27-30 kDa in aged meat of different species, resulting from the proteolysis of troponin T

(Dabrowska, 1973; Ho, Stromer and Robson, 1994; Negishi, Yamamoto and Kuwata, 1996).

In the 4-15% electropherograms, two bands were observed in the zone of proteins migrating slower than the myosin heavy chain at 24 h in both groups, whereas only one band was present in this zone at 7 days post-mortem, again independently of the group. These bands probably correspond to degradation products of the cytoskeletal proteins titin and nebulin (Pérez-Chabela, Guerrero Legarreta, Pérez Torres and Kuri, 1998) which are degraded early post-mortem and are proposed to be the major cause of the weakening of the sarcomere structure at the junction between the Z-lines and the I-bands often observed in aged meat (Steen, Claeys, Uytterhaegen, De Smet and Demeyer, 1997). According to the densitometric analysis, a variable number of bands of molecular weights in the range of 300-360 kDa were detected at 24 h, although only one or two of them could be appreciated visually. In the 7- day samples (C and S groups) a band around 310 kDa was missing, probably because at this ageing time the polypeptide was more extensively degraded. The effect of age, sex or muscle type on post-mortem degradation of titin and nebulin has been studied (Huff-Lonergan, Parrish Jr. and Robson, 1995; Paxhia and Parrish, 1988), but, to our knowledge, no studies on myofibrillar post-mortem degradation related to growth rate have been reported so far.

The three proteins troponin-T, titin and nebulin are present in the I-band regions of the intact myofibril, which undergo considerable breakage during muscle ageing (Taylor, Geesink, Thompson, Koohmaraie and Goll, 1995) and their combined disruption may contribute significantly to myofibril fragmentation and, thus, to tenderness (Huff-Lonergan *et al.*, 1995).

#### *4.3.4.2. Muscle proteolytic potential*

Table 1 shows the activities of cathepsins, calpains and their inhibitors. Several studies have indicated differences in the genetic type for the activity of cathepsins in pork (Armero, Barbosa, Toldrá, Baselga, and Pla, 1999), in chicken (Schreurs,

Van der Heide, Leenstra and De Wit, 1995) and in beef (Uytterhaegen *et al.*, 1994). However, at present there is no study on the influence of selection by growth rate in the activity of these enzymes. There were no differences between the control and the selected group for cathepsin B, cathepsin B+L and cathepsin H and neither were there for the cystein proteinase inhibitor activities. No effect of sex was found for any of these enzymes. Only the ratio cathepsin B+L/cathepsin B, which is as indicator of the activity of cathepsin L, showed small differences ( $P<0.10$ ) with higher activity in females (3.5 and 3.3 U/g in males and females, respectively).

In chicken, Schreurs *et al.* (1995) found differences in the activity of cathepsins and their inhibitor, cystatins, among strains with different growth rate. In this experiment, the experimental broiler line selected by high body weight, showed lower cathepsin B, D and H activities. However, in rabbit, according to our results growth rate did not affect the activity of these enzymes.

An exaggerated growth of the muscles may have an influence on the activity of cathepsins. Uytterhaegen *et al.* (1994) studied the effect of double-muscling on the activity of proteolytic enzymes. Double-muscled animals showed lower activities of cathepsins B+L than animals with normal conformation. Conversely, no differences were found in cathepsin activities between *Bos taurus* and *Bos indicus* (Whipple *et al.*, 1990; Wheeler, Savel, Cross, Lunt, and Smith, 1990).

No differences between groups were found for the activity of calpain II and calpastatin. However, selection for growth rate has an effect on the activity of calpain I with higher values for the selection group ( $P<0.10$ ). The activities of calpain I were 0.044 and 0.071 U/g for the control and the selection group, respectively. This higher activity of calpain I in selected animals could indicate a more tender meat in the selection group, but the results of the textural properties (Table 2 and Ramírez *et al.*, 2004) and previous results from a sensory panel (Hernández, Guerrero, Ramírez, Ariño and Blasco, 2003) are not in accordance with this: rabbits resulting from selection showed higher shear firmness and hardness than the control ones, whereas the sensory panel did not find any

differences in tenderness between the control and the selection group. Ouali and Talmant (1990) reported a positive correlation between the calpain II: calpastatin ratio and the conditioning rate in bovine, porcine and ovine skeletal muscles. Statistical models for predicting meat final tenderness point out the activities of calpastatin and cistatins as good predictors (Shackelford *et al.*, 1991).

There are no studies on the effect of selection for growth rate on the activity of calpains and calpastatin. However, several authors have studied the effect of altered growth rate on the activity of proteolytic enzymes, giving the animals different feeding regimens. Therkildsen, Larsen, Bang and Vestergaard (2002) and Thompson, Hosking, Sainz and Oddy (1997) found that growth rate did not affect the activity of calpains, but Sazili *et al.* (2003) found that calpastatin activity was higher in lambs with a high growth rate.

The activities of calpains and calpastatin at 24 h post-mortem were very low and on the detection limit of the analysis system. They were not evaluated at 7 days post-mortem. Autolysis may be responsible for these low values (Koochmaraie, 1992). Several authors have reported that calpains and calpastatin are very unstable during post-mortem storage and most of the changes in their activity occur earlier post-mortem (Dransfield, Etherington and Taylor, 1992; Boehm, Kendall, Thompson and Goll, 1998). In contrast, regarding the cathepsins activities, Dransfield *et al.* (1992) showed that the level of the lysosomal enzymes remained essentially unchanged throughout storage.

#### 4.3.4.3. *Textural properties*

Results of textural properties of *longissimus* muscle of the control and the selection groups of rabbits selected by growth rate are shown in tables 2 and 3. Shear firmness (Warner-Bratzler test) was significantly higher in the selected animals than in the control ones, as was chewiness and hardness (TPA) ( $p < 0.001$ ) (Table 2), in accordance with the results obtained previously (Ramírez *et al.*, 2004).

The textural analysis of the rabbit muscle at 24h and 7 days of ageing (Table 3) showed a significantly lower cohesiveness at 7 days than at 24 h ( $P<0.001$ ), and the same tendency in springiness and chewiness ( $P<0.1$ ). These results were probably related with the changes in the patterns of myofibrillar degradation between 1 and 7 days, as stated by several authors: Buts *et al.* (1986) find a positive correlation between the shear value and the concentrations of troponin and titin, and a negative correlation between this textural property and the 30 kDa fragment. In the same sense, Anderson and Parrish (1989) suggest a dependence of the extent of tenderness – assessed by sensory panel evaluation and WB shear force values - in beef steaks on the *post-mortem* degradation of titin and nebulin. Conversely, Fritz *et al.* (1993), report no relationship between titin content and instrumental meat tenderness. The present results would indicate that ageing improved the tenderness of rabbit meat, although a sensory analysis with a trained panel would be needed in order to confirm this hypothesis.

#### 4.3.4.4. Relations between variables

Figure 2 shows the results of Principal Component Analysis (PCA) of proteolytic and inhibitor activities, myofibrillar proteins content (myosin, actin and  $\alpha$ -actinin) and texture properties for rabbit samples at 24 hours post-mortem. The first two factors account for 65.51% of the total variance. Those variables showing a final communality for the first two axes higher than 0.50 are the only ones graphically represented. Hardness and chewiness are well correlated with each other and close to the selection samples according to Table 2. The shear firmness and the area from the Warner-Bratzler test showed a similar importance for the control and selection samples; again these results confirm the lack of statistical differences between groups for these two variables. Regarding the rest of the variables, actin tends to be closer to the selection samples than to the control samples as well as cathepsin B and cathepsin B+L, although none of these results were statistically significant ( $p>0.05$ ). In summary, the results obtained in the PCA confirm that only hardness and chewiness obtained from the TPA test



were able to clearly differentiate between the selection and the control animals and that a weak relationship existed between the rest of the parameters analysed.

#### **4.3.5. Conclusions**

From these results it can be concluded that, in the conditions of the present study, the genetic selection for growth rate did not affect the degradation pattern of rabbit myofibrils from *longissimus* muscle between 1 and 7 days post-mortem studied by SDS-PAGE and densitometry. Several meat texture properties differed between days 1 and 7 irrespective of the group. The proteolytic potential (cysteinproteinase activities and their inhibitors) of the muscle was independent of the growth rate of the rabbits. The results from the PCA confirm those obtained in the ANOVA: samples from selected rabbits seemed to be less tender than the control ones, and also showed a relationship between hardness and chewiness and between shear force and area.

#### **4.3.6. Acknowledgements**

This work was partly financed by the CICYT AGF98-0382 and AGL2002-04383. The authors thank Maria José Bautista for her technical assistance. We thank the *Programa de Mejoramiento de Profesores (PROMEP) Secretaría de Educación Pública (SEP)* of México for the grant awarded to Jorge A. Ramírez (Facultad de Ciencias Químicas/UASLP) to finance his doctoral studies at the Universitat Autònoma de Barcelona and the Centre de Tecnologia de la Carn /IRTA.

#### **4.3.7. References**

- Anderson, T.J., Parrish Jr., F.C. (1989) *Post-mortem* degradation of titin and nebulin of beef steaks varying in tenderness. *Journal of Food Science*, 54 (3), 748-749.
- Armero, E., Barbosa, J. A., Toldrá, F., Baselga, M. and Pla M. (1999). Effects of the terminal sire type and sex on pork muscle cathepsins (B, B+L and H), cysteine proteinase inhibitors and lipolytic enzyme activities. *Meat Science*, 51, 185-189.

- Bandman, E. (1992) Changes in myofibrillar and cytoskeletal proteins in post-mortem muscle. *Recip. Meat Cof. Proeedings*, 45, 47-50.
- Bandman, E. and Zdanis, D. (1988). An immunological method to asses protein degradation in post mortem muscle. *Meat Science*, 22, 1-19.
- Bigé, L., Ouali, A. and Valin, C. (1985) Purification and characterization of a low molecular weight cysteine proteinase inhibitor from bovine muscle. *Biochimica Biophysica Acta*, 843, 269-275.
- Boehm, M. L., Kendall, T.L., Thompson, V.F., Goll, D. E. (1998) Changes in the calpains and calpastatin during post-mortem storage of bovine muscle. *Journal of Animal Science*, 76, 2415-2434.
- Bourne M.C. (1978) Texture Profile Analysis. *Food Technology* 32 (7), 62-66, 72.
- Brady, P.L., Hunecke M.E. (1985) Correlations of sensory and instrumental evaluations of roast beef texture. *Journal of Food Science*, 50, 300-303.
- Bush, W.A., Stromer, M.H., Goll, D.E., Susuki, A. (1972) Ca<sup>2+</sup>-specific removal of Z lines from rabbit skeletal muscle. *Journal of Cell Biology*, 52, 367-381.
- Buts, B., Claeys, E., Demeyer, D. (1986) Relation between concentration of troponin-t, 30 000-Dalton and titin on SDS-PAGE and tenderness of bull longissimus dorsi. In *Proceedings of the European Meeting of Meat Research Workers* No.32, Vol.I, 3:10, 175-178. Ghent (Belgium)
- Cauquil, L., Combes, S., Darche, B., and Lebas, F. (2001). Caractèrisation physico-chimique et rhéologique de la viande de lapin. Application à la comparación de lapins label et estándar. In *Proceedings 9èmes Journées de la Recherche Cunicole en France* (pp. 11-13). Paris, France.
- Combes, S., Larzul, C., Gondret, F., Cauquil, L., Darche, B., Lebas, F. (2001). Tenderté mécanique du muscle *longissimus dorsi* de lapin: étude méthodologique. In: *Proceedings 9èmes. Journées de la Recherche Cunicole en France* (pp. 3-6), Paris.

- Combes, S., Lepetit, J., Darche, B., Lebas, F. (2003). Effect of cooking temperature and cooking time on Warner-Bratzler tenderness measurement and collagen content in rabbit meat. *Meat Science*, 66, 91 - 96.
- Cyril, H.M., Castellini, C. and Dal Bosco. (1996). Comparison of three cooking methods of rabbit meat. *Italian Journal of Food Science*, 8 (4), 337-340.
- Dabrowska, R., Baryeko, B., Nowak, E. and Drabikowski, W. (1973). The origin of 30,000 Dalton protein in troponin preparations. *FEBS Letters*, 29 (3), 239-242.
- Dransfield, E., Etherington, D. J., Taylor, M. A. J. (1992). Modelling post-mortem tenderisation. II. Enzyme changes during storage of electrically stimulated and non-stimulated beef. *Meat Science*, 31(1), 75-84.
- Etherington, D.J., Taylor, M.A.J., Dransfield, E. (1987) Conditioning of meat from different species. Relationship between tenderising and the levels of cathepsin B, cathepsin L, calpain I, calpain II and  $\alpha$ -glucuronidase. *Meat Science*, 20, 1-16.
- Fritz, J.D., Greaser, M.L. (1991) Changes in titin and nebulin in post-mortem bovine muscle revealed by gel electrophoresis, western blotting and immunofluorescence microscopy. *Journal of Food Science*, 56(3), 607-610, 615.
- Fritz, J.D., Mitchell, M.C., Marsh, B.B., Greaser, M.L. (1993) Titin content of beef in relation to tenderness. *Meat Science*, 33, 41-50.
- Guerrero, L., Guàrdia, D. (1999). Evaluación de la terneza de ternera: Relación entre las medidas sensorial e instrumental según la dirección de las fibras musculares. *VIII Jornadas sobre Producción Animal* Vol. Extra, No. 20. Tomo I.
- Hernández, P., Guerrero, L., Ramírez, J., Ariño, B., Blasco, A. (2003) Efecto de la selección por velocidad de crecimiento sobre la calidad sensorial de la carne de conejo. *ITEA* 24, Tomo 1, 256-258.

- Ho, C.Y., Stromer, M.H., 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.
- Huff-Lonergan, E., Parrish, Jr F.C., Robson, R. M. (1995). Effects of post-mortem aging time, animal age, and sex on degradation of titin and nebulin in bovine *longissimus* muscle. *Journal Animal Science*, 73, 1064-1073.
- Hwan, S.F., Bandman, E. (1989) Studies of desmin and  $\alpha$ -actinin degradation in bovine semitendinosus muscle. *Journal of Food Science*, 54, 1426-1430.
- Koohmaraie, M. (1992) Effect of pH, temperature, and inhibitors on autolysis and catalytic activity of bovine skeletal muscle mu-calpain. *Journal of Animal Science*, 70, 3071-3080.
- Koohmaraie (1994) Muscle proteinases and meat aging. *Meat Science*, 36, 93-104.
- Møller, A. (1980) Analysis of Warner-Bratzler shear force pattern with regard to myofibrillar and connective tissue components of tenderness. *Meat Science* 5, 247-260.
- Negishi, H. Yamamoto, E. and Kwata, T. (1996). The origin of the 30 Kda component appearing during post-mortem ageing of bovine muscle. *Meat Science*. 42, 289-303.
- Ouali, A. (1990) Meat tenderisation: possible causes and mechanisms: A review. *Journal of Muscle Foods 1*, 129-165.
- Ouali, A., Talmant, A. (1990) Calpains and calpastatin distribution in bovine, porcine and ovine skeletal muscles. *Meat Science*, 28, 331-348.
- Ouali, A., Obléd, A. Cottin, P., Merdaci, N., Ducastaing, A. and Valin, C. (1983). Comparative effects of post mortem storage and low-calcium requiring neutral proteinase on bovine and rabbit myofibrillar proteins. *Journal of Science and Food Agriculture*, 34, 466-476.
- Paxhia, J.M., Parrish Jr., F.C. (1988) Effect of post-mortem storage on titin and nebulin in pork and poultry light and dark muscles. *Journal of Food Science* 53 (6), 1599-1601, 1670.

- Pérez-Chabela, L., Guerrero Legarreta I, Pérez Torres A. and Kuri, V.(1998) Physicochemical and histological changes in CaCl<sub>2</sub>-treated beef, horse, rabbit and chicken meat . *Proceedings 44<sup>th</sup> International Congress of Meat Science and Technology* (pp 730-731), Barcelona, Spain.
- Piles, M., Blasco, A., Pla, M. (2000) The effect of selection for growth rate on carcass composition and meat characteristics of rabbits. *Meat Science*, 54, 347-355.
- Pla, M., Guerrero, L., Guàrdia, M.D., Oliver, M.A., Blasco, A. (1998).Carcass characteristics and meat quality of rabbit lines selected for different objectives:I. Between lines comparison. *Livestock Production Science*. 54, 115-123.
- Prates, J.A.M., Ribeiro, A.M.R., Dias Correia, A.A. (2001). Role of cysteine endopeptidases (EC 3.4.22) in rabbit meat tenderisation and some related changes. *Meat Science*, 57, 283-290.
- Roncalés, P., Geesink, G.H., van Laack, R.L.J.M., Jaime, I., Beltrán, J.L., Barnier, V.M.H., Smulders, F.J.M. (1995) Meat tenderisation: Enzymatic mechanisms. In, *Expression of tissue proteinases and regulation of protein degradation as related to meat quality*. A. Ouali, D.I. Demeyer and F.J.M. Smulders, eds., ECCEAMST, Utrecht, The Netherlands, pp.311-332.
- Ramírez, J.A., Oliver, M.A., Pla, M., Guerrero, L., Ariño, B., Blasco, A., Pascual, M., Gil, M. (2004) Effect of selection for growth rate on biochemical, quality and texture characteristics of meat from rabbits. *Meat Science*, 67, 617-624.
- Rosell, C. M. and Toldrá, F. (1998) Comparison of muscle proteolytic and lipolytic enzyme levels in raw hams from Iberian and white pigs. *Journal of Science and Food Agriculture*, 76, 117-122.
- SAS. (2000). *SAS/STAT user's guide. Release 8.1*. Statistical Analysis System, SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, U.S.

- Sazili, A. Q., Lee, G. K., Parr, T., Sensky, P. L., Bardsley, R. G., Buttery, P. J. (2003). The effect of altered growth rates on the calpain proteolytic system and meat tenderness in cattle. *Meat Science*, 66, 195-201.
- Schreurs, F. J. G., Van der Heide, D., Leenstra, F. R. and De Wit, W. (1995). Endogenous proteolytic enzymes in chicken muscles. Differences among strains with different growth rates and protein efficiencies. *Poultry Science*, 74, 523-537.
- Shackelford, S.D., Koohmaraie, M., Whiple, G., Wheeler, T.L., Miller, M.F., Crouse, J.D., Reagan, J.O. (1991) Predictors of beef tenderness: Development and verification. *Journal of Food Science*, 56, 1130-1135, 1140.
- Steen, D., Claeys, E., Uytterhaegen, L., De Smet, S., Demeyer, D. (1997) Early post-mortem conditions and the calpain/calpastatin system in relation to tenderness of double-musled beef. *Meat Science.*, 45, 307-319.
- Taylor, RG, Geesink, GH, Thompson VF, Koohmaraie, M and Goll DE (1995) Is Z-disk responsible for post-mortem tenderization? *Journal of Animal Science*, 73, 1351-1367.
- Therkildsen, M., Larsen, L. M., Bang, H. G., Vestergaard, M. (2002). Effect of growth rate on tenderness development and final tenderness of meat from Fresian calves. *Animal Science*, 74, 253-264.
- Thompson, B. C., Hosking, B. J., Sainz, R. D., Oddy, V. H. (1997). The effect of nutritional status on protein degradation and components of the calpain system in skeletal muscle of weaned wether lambs. *Journal of Agricultural Science*, 129, 471-477.
- Toldrá, F. and Etherington, D. J. (1988). Examination of cathepsins B, D, H and L activities in dry-cured hams. *Meat Science*, 23, 1-7.
- Torres, C., Baselga, M. and Gómez, E.A. (1992) The effect of weight daily gainselection on gross feed efficiency in rabbit. In *Proceedings V World Rabbit Congress* (Vol. B, pp. 884-888). Corvallis, 1992.

- Uytterhaegen, L. Claeys, E., Demeyer, D., Lippens, M., Fiems, L. O., Boucqué, C. Y., van De Vorde, G. and Bastiaens, A. (1994). Effects of double muscling on carcass quality, beef tenderness and myofibrillar protein degradation in Belgian Blue White bulls. *Meat Science*, 38, 255-267.
- Wheeler, T. L., Savel, J. W., Cross, H. R., Lunt, D. K. and Smith S. B. (1990). Mechanisms associated with the variation in tenderness of meat from Brahman and Hereford cattle. *Journal of Animal Science*, 68, 4206-4220.
- Whipple, G., Koochmarai, M. (1992) Effects of lamb age, muscle type and 24 hour activity of endogenous proteinases on post-mortem proteolysis. *Journal of Animal Science*, 70, 798-804.
- Whipple, G., Koochmarai, M., Dikeman, M. E., Crouse, J. D., Hunt, M. C. and Klemm, R. D. (1990). Evaluation of attributes that affect *longissimus* muscle tenderness in *Bos Taurus* and *Bos Indicus* cattle. *Journal of Animal Science*, 68, 2716-2728.

Figure 4.3.1. SDS-Page of rabbit myofibrils from groups C and S in Phast Gels (Amersham Pharmacia Biotech.).

- a) Phast Gel Homogeneous 12.5%. Lanes 1 and 6: 24h samples of control group. Lanes 2 and 7: 7 days samples of control group; Lane 3: Low Molecular Weight standards (Amersham Pharmacia Biotech) corresponding to 94 kDa (phosphorilase b), 67 kDa (bovine serum albumin), 43 kDa (ovoalbumin), 30 kDa (carbonic anhydrase), 20.1 kDa (soybean trypsin inhibitor) 14.4 kDa ( $\alpha$ -lactalbumin) from top to bottom. Lanes 4 and 8: 24 h sample of selection group; Lane 5: 7 days sample of selection group. MLC: myosin light chains.
- b) Phast Gel Gradient 4-15%. Lane 1: 24 h sample of selection group, Lane 2: 7 days sample of selection group. Lane 3: High Molecular Weight standards (Amersham Pharmacia Biotech.) corresponding to 330 kDa (tiroglobulin), 220 kDa (ferritin), 67 kDa (albumin), 60 kDa (catalase), 36 kDa (lactate dehydrogenase) and 18.5 (kDa ferritin) from top to bottom. Lanes 4 and 7: 24 h samples of control group. Lane 5: cross-linked phosphorylase b SDS molecular weight marker (Sigma) corresponding to 584, 487, 390, 292, 195 and 97 kDa (hexamer to monomer forms of the protein) from top to bottom. Lanes 6 and 8: 7 days samples of control group.

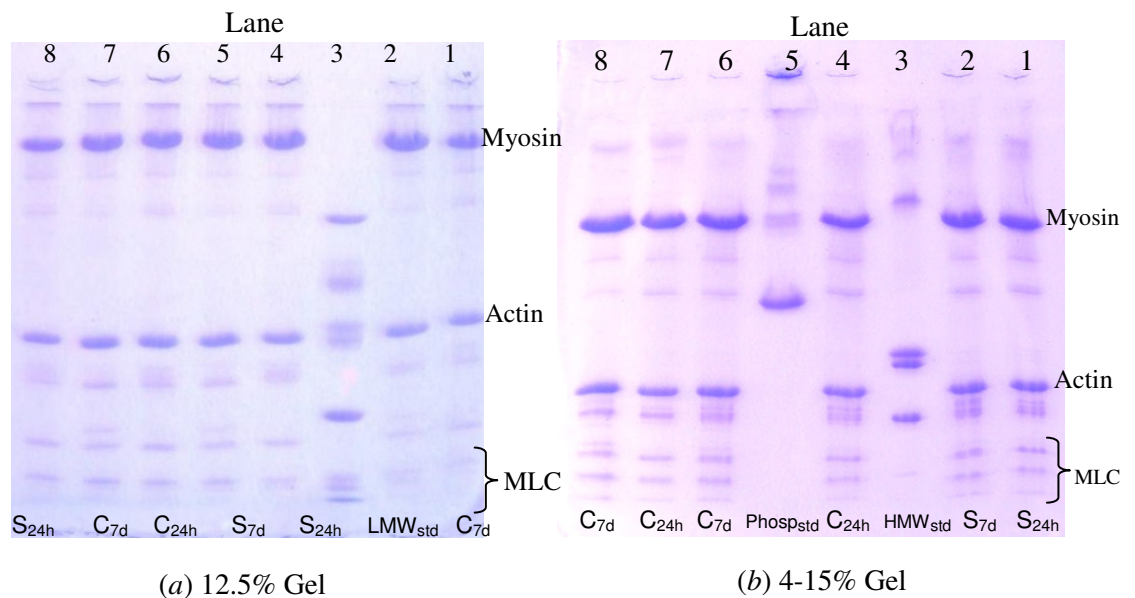




Figure 4.3.2. Principal component analysis for variables measured at 24 hours post-mortem. Factor\_(%)1 and 2 axis, percentage of the variance explained by the principal component; cathep B+L, cathepsin B+L activity; cathep B, cathepsin B activity; ratio B+L/B, ratio cathepsin B+L/cathepsin B.

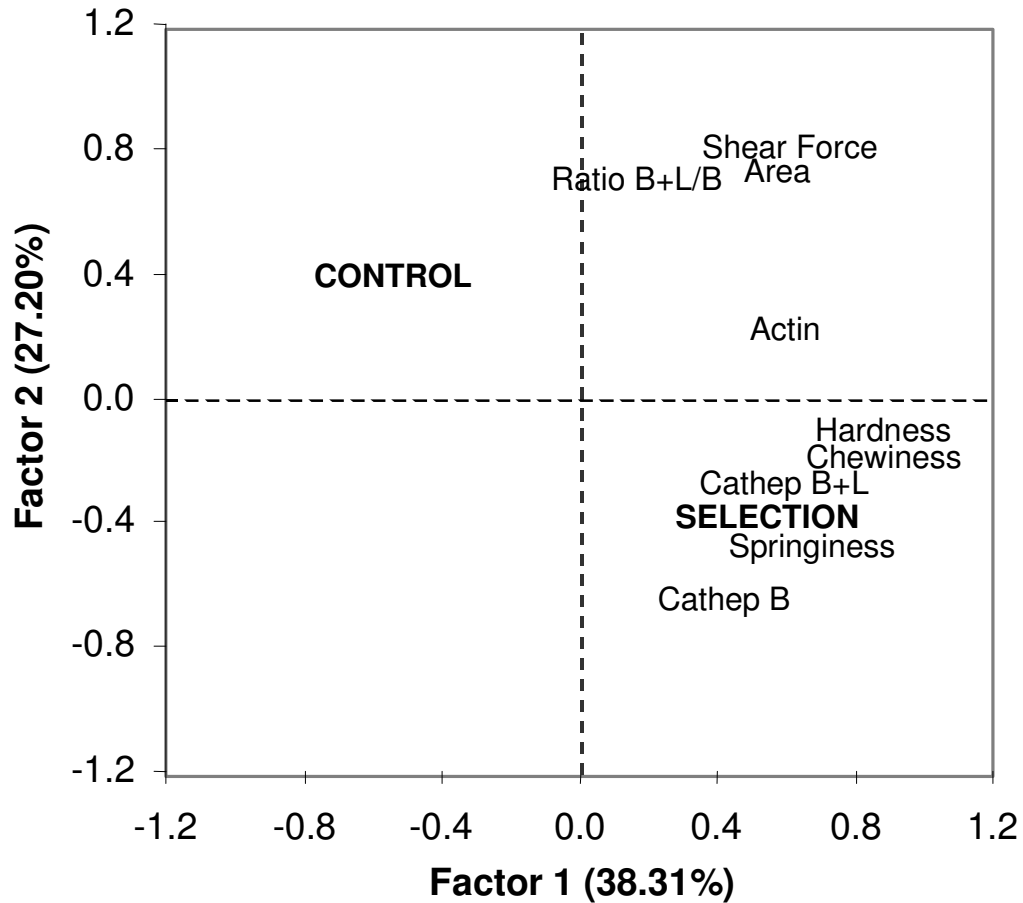


Table 1. Means and standard errors (SE) of cathepsins and their inhibitors (n=40) and of calpains and calpastatin (n=12) (Units/g) of *longissimus* muscle from rabbits selected for growth rate.

<b>Enzyme or Inhibitor Activity</b>	<b>Means</b>	<b>SE</b>
<b>Cathepsin B</b>	0.608	0.016
<b>Cathepsin B+L</b>	2.030	0.045
<b>Ratio cathepsin B+L/cathepsin B</b>	3.380	0.056
<b>Cathepsin H</b>	0.549	0.013
<b>Cystein proteinase inhibitors</b>	1.700	0.040
<b>Calpain I</b>	0.058	0.007
<b>Calpain II</b>	0.082	0.015
<b>Calpastatin</b>	0.047	0.010

Table 2. Least squares means and standard errors of textural properties by Warner-Bratzler test and Texture Profile Analysis of *longissimus* muscle from rabbits selected for growth rate.

<i>Warner-Bratzler</i>	<b>Group</b>		<b>S. E.</b>	<b>P value</b>
	<b>Control (n = 40)</b>	<b>Selection (n = 40)</b>		
<b>Shear Force (kg/cm<sup>2</sup>)</b>	3.48	3.82	0.160	0.1422
<b>Shear firmness (kg/s·cm<sup>2</sup>)</b>	1.11	1.54	0.070	<0.0001
<b>Area (kg·s/cm<sup>2</sup>)</b>	5.66	6.08	0.270	0.2822.
<b><i>Texture Profile Analysis</i></b>				
<b>Springiness</b>	0.40	0.42	0.009	0.0677
<b>Cohesiveness</b>	0.44	0.46	0.006	0.0550
<b>Chewiness (kg)</b>	1.46	1.94	0.100	0.0009
<b>Hardness (kg)</b>	8.06	9.79	0.350	0.0007

Table 3. Least squares means and standard errors of textural properties by Warner-Bratzler test and Texture Profile Analysis of *longissimus* rabbit muscle at 24 h and 7 days *post-mortem*.

<i>Warner-Bratzler</i>	<b>Time</b>		<b>S.E.</b>	<b>P value</b>
	<b>24h (n = 40)</b>	<b>7 days (n = 40)</b>		
<b>Shear Force (kg/cm<sup>2</sup>)</b>	3.78	3.52	0.160	0.2537
<b>Shear firmness (kg/s·cm<sup>2</sup>)</b>	1.40	1.24	0.070	0.1020
<b>Area (kg·s/cm<sup>2</sup>)</b>	6.18	5.56	0.270	0.1106
<i>Texture Profile Analysis</i>				
<b>Springiness</b>	0.42	0.40	0.009	0.0646
<b>Cohesiveness</b>	0.47	0.43	0.006	<0.0001
<b>Chewiness (kg)</b>	1.83	1.57	0.100	0.0764
<b>Hardness (kg)</b>	8.93	8.92	0.350	0.9903

# **DISCUSIÓN GENERAL**

## DISCUSIÓN GENERAL

La selección genética ha sido motivo de estudio y se ha desarrollado en diferentes especies de acuerdo, mayoritariamente, a objetivos de producción. Por las características de producción propias de cada especie, algunas investigaciones deben tardar varios años para obtener resultados. No obstante, debido a la rápida reproducción del conejo, ha sido posible en este estudio, comparar conejos de la generación 21 con un grupo control (generación 7) gracias a las técnicas actuales de congelación de embriones (Vicente *et al.* 1999).

En los objetivos del proyecto en el que se enmarca el presente trabajo de tesis, se planteó observar las variaciones en las características de producción (UPV) de los conejos seleccionados por velocidad de crecimiento y además, analizar posibles diferencias en las características bioquímicas y de calidad de la canal y de la carne, así como en la composición en ácidos grasos de la grasa de la carne y la perirrenal, como efecto de la selección genética. También se analizó el efecto de la selección en la degradación miofibrilar entre 24 horas y 7 días *post-mortem* y su relación con la textura del músculo *longissimus*. Además, se determinó la actividad proteolítica del músculo a 24 h *post-mortem* en los dos grupos de animales. Para el desarrollo de la discusión general se han agrupado los resultados de las diferentes variables de acuerdo a los objetivos planteados.

### **1. Las características bioquímicas en el músculo *longissimus thoracis*.**

El porcentaje de MHC-I, relacionado con el de fibras tipo I, lentas oxidativas (Termin, 1989) y las actividades enzimáticas características de los metabolismos oxidativo (ICDH) y glicolítico (aldolasa) encontradas en el músculo LT de los conejos de los grupos C y S, mostraron un aumento del metabolismo glicolítico (nivel de aldolasa más alto y % de MHC-I inferior), después de la selección por velocidad de crecimiento, apoyando la sugerencia de varios autores (Dalle Zotte, 2000; Ouhayoun, 1991, Ouhayoun & Dalle Zotte, 1993; Piles *et al.*, 2000; Pla *et al.*, 1998) en relación al efecto de la

selección genética sobre la calidad de la carne y de acuerdo con las diferencias encontradas en la CRA de los grupos C y S.

Conocer la composición del tipo de fibras de la carne, proporciona información sobre sus características de calidad, ya que los músculos rojos (oxidativos), poseen mayor CRA, mejores características de sabor y textura, así como mejores características sensoriales (Valin *et al.*, 1982).

De acuerdo a Lambertini *et al.* (1996 y 1996a), la composición en fibras en los diferentes músculos de conejo es muy variable. Esta variación ocurre incluso dentro de un mismo músculo (Vigneron, 1976). También la densidad capilar, que depende del tipo de fibras, tiene cierta influencia sobre las características de calidad de la carne como la estabilidad del color, la terneza, la capacidad de retención de agua, la oxidación de lípidos (Gondret *et al.*, 1998; Gondret & Bonneau, 1998; Alasnier *et al.*, 1996) y como consecuencia sobre la calidad alimenticia de la carne (Dalle Zotte & Ouayoun, 1995 y 1998; Dalle Zotte *et al.*, 1996).

Aunque de acuerdo a nuestros resultados el músculo *longissimus* de conejo es predominantemente glicolítico, se ha observado que en músculos oxidativos de cerdo, el contenido de aminoácidos libres y dipéptidos tiene cierta relación con las características de calidad de la carne de los músculos oxidativos (Cornet & Bousset, 1999) ya que contienen mayor proporción de ácido aspártico, glutamina, taurina, carnosina y  $\beta$ -alanina que la carne proveniente de músculos glicolíticos. El ácido aspártico, glutamina y taurina, son de sabor agradable, mientras la carnosina proporciona sabor amargo. Lo anterior puede explicar hasta cierto punto, las variaciones en el sabor entre los músculos glicolíticos y oxidativos de una misma especie. El porcentaje de fibras tipo I que se ha encontrado en este estudio, ha sido más elevado que el publicado por otros autores, debido probablemente a la zona de muestreo (Vigneron *et al.*, 1976), sin embargo este valor ha sido inferior al encontrado en ternera (Gil *et al.*, 2001; Renand *et al.*, 1997) y similar al encontrado en cerdo (Gil *et al.*

2003), lo que explicaría en parte que la carne de conejo sea una carne de color claro.

## 2. Calidad de la Carne

Un punto importante, es que no existió diferencia del pH entre los grupos C y S. Los valores de pH considerados como normales para carne de conejo oscilan entre 5.71 y 6.0 de acuerdo a Ouhayoun *et al.* 1990 (pH<sub>22h</sub>). Battaglini *et al.* (1994), Blasco y Piles (1990), Ouhayoun (1978), Pla *et al.* (1998) y Ristic y Zimmermann (1992), encontraron valores de pH entre 5.66 y 5.77 en el mismo músculo. En este sentido, debe destacarse la importancia que tiene el manejo del animal antes del sacrificio, ya que es un factor fundamental para las características finales de calidad de la carne que se obtenga (Santolaria, 1993). El pH (acidificación) también depende del potencial tamponador (amortiguador) del músculo, que está influido por el nivel de nitrógeno no proteico en el tejido muscular, que al igual que el pH afecta a la estructura de las proteínas y la capacidad de retención de agua, también afecta otras propiedades, en particular el color y la ternura (Hulot & Ouhayoun, 1999). En nuestro caso los conejos fueron transportados siguiendo un manejo estándar, de la granja al lugar del sacrificio, dentro del mismo Departamento de Ciencia Animal de la UPV (aproximadamente 200 m), por lo que este factor podría considerarse que no afectó de manera importante al pH<sub>i</sub>. Por otra parte, en el conejo no se han observado problemas cualitativos graves, resultantes de anomalías en la biología muscular o de la tecnología del sacrificio, tales como: carnes ácidas, de acidificación rápida (PSE) o de pH alto (DFD) (Hulot & Ouhayoun, 1999; Ouhayoun, 1991).

La CRA del músculo LD, expresada como Pérdida de “Agua Liberada por Presión” (PRW), se vio afectada por la selección genética, ya que en el grupo control se observó mayor CRA, concordando con las características más glicolíticas del músculo de los animales seleccionados por velocidad de crecimiento. También en músculo LD de conejo, Battaglini *et al.* (1994) y Pla



*et al.* (1998) observaron valores semejantes de PRW (ó CRA) (entre 34.95 y 35.40%), los primeros en diferentes razas y los segundos a diferentes pesos de canal. Al estar relacionadas todas las propiedades de calidad de carne, la variación en la CRA, podría haber afectado a las demás (color y textura).

El color de la carne es otra variable de calidad considerada de importancia por ser el primer atributo que percibe el consumidor. La selección genética no afectó las variables de color  $L^*$  y  $a^*$  que no presentaron diferencias en los grupos control y selección, sin embargo, el valor de  $b^*$  del grupo selección fue diferente significativamente al del grupo control, lo cual podría observarse como ligeramente más clara. Los valores de luminosidad que se encuentran por lo general en la carne de conejo, podrían clasificarla como una carne blanca, sin presentar el problema de ser exudativa.

### **3. Las propiedades de textura y la maduración de la carne**

Los valores de Fuerza Máxima del presente estudio están de acuerdo con los observados por estos autores (Combes *et al.*, 2003), debido probablemente a que las condiciones de cocción de las muestras son similares a las de nuestro estudio. En relación a los resultados de las variables de textura evaluadas por el ensayo TPA, no se encontraron referencias en la bibliografía en carne de conejo, por lo que estos resultados podrían ser muy novedosos. Se confirmó que la carne del grupo selección fue más dura que la del grupo control ( $p < 0.001$ ). Este test simula el proceso de masticación y por tanto resulta útil al ser un método instrumental objetivo para valorar características de textura de una muestra.

Los resultados de las variables de TPA, Masticabilidad, Gomosidad y Dureza se relacionan con la mayor Firmeza al Corte (Shear Firmness) del grupo selección medida con el test de WB. En estas variables la carne de los conejos del grupo selección presentó valores mayores que el grupo control, a diferencia de los resultados del análisis sensorial de las mismas muestras descritos por

Hernández *et al.* (2003), en donde los catadores no percibieron diferencias en las características sensoriales de los dos grupos de conejos para la terneza.

Para la mayoría de los consumidores la textura y el sabor son dos de los principales atributos de calidad (Grunert *et al.* 2004). Los análisis de las propiedades de textura mediante las dos técnicas (WB y TPA), confirmaron los resultados obtenidos en los dos ensayos, en cuanto al cambio en las características del grupo selección. La Fuerza Máxima (Shear Force) y Fuerza de Ruptura (Initial Yield Force), evaluadas por el test de Warner-Bratzler coincidieron en todas las muestras. De acuerdo a Møller (1980), en carne de vacuno la Fuerza Máxima, se relaciona con la resistencia al corte del tejido conectivo y la Fuerza de Ruptura corresponde a la resistencia al corte del sistema miofibrilar. Combes *et al.* (2003), observaron que el colágeno del LD de conejo es muy soluble, comparado con el de otras especies, por lo que en nuestros resultados es posible que el tejido conectivo ejerciera poca influencia sobre las características de textura del músculo *longissimus*, a las condiciones de cocción del presente estudio y teniendo en cuenta la edad de los animales.

La selección genética por velocidad de crecimiento, podría producir diferencias en las propiedades de terneza, flavor y jugosidad debido al menor contenido de lípidos intracelulares, ya este proceso activa el metabolismo glicolítico muscular, además de que los conejos llegan al peso al sacrificio a edad menos madura (Ouhayoun & Dalle Zotte, 1993; Pla *et al.*, 1998; Ouhayoun, 1989). Se ha visto que el contenido de grasa de la carne, tiene el efecto de estimular la salivación, haciendo que la carne se perciba más jugosa, por eso la de los animales jóvenes se considera menos jugosa por su menor contenido de grasa (Campo, 1999). La terneza depende de la cantidad y calidad del tejido conectivo y especialmente, en la carne de animales jóvenes, de la estructura de su sistema miofibrilar, la cual vendrá determinada por las condiciones de instauración del *rigor mortis* y la maduración. La terneza también esta relacionada con el pH por la influencia directa de la CRA (Hulot y Ohuayoun, 1999).

El potencial proteolítico del músculo *longissimus*, de ambos grupos (C y S) evaluado mediante la determinación de la actividad enzimática de las calpaínas, catepsinas y sus inhibidores (calpastatina y cistatinas respectivamente), no presentó diferencias debidas a la selección genética. Sin embargo, en pollos seleccionados por alto peso, Schreurs *et al.* (1995) encontraron menor actividad de las catepsinas B y H. Los valores de actividad de las catepsinas B+L. También se ha observado que en distintos genotipos en cerdos, los genotipos de mejor conformación, presentan más baja actividad de las catepsinas B+L (Armero *et al.*, 1999).

Respecto a los procesos de mecanismos de la maduración son aún controvertidos, ya que algunos autores atribuyen el proceso de maduración a la degradación de la línea o disco Z propuesta por Hattori & Takahashi (1979) y Robson (1995), la cual no es completamente aceptada por Costa *et al.* (1998); Koohmaraie (1994), Taylor *et al.* (1995) y Vignon (1989), quienes proponen como principal cambio responsable de la mejora en la textura a la alteración transversal de los sarcómeros al nivel de la línea N<sub>2</sub>.

Mestre Prates *et al.* (2001 y 2002), sugieren que en carne de conejo, las cisteinproteinasas (posiblemente calpaínas) juegan un papel importante en el cambio de estructura del sarcómero (alteración transversal), además de la fragmentación miofibrilar y ambos podrían provocar cambios estructurales favorables al proceso de tenderizado y ser buenos índices de maduración. Una de las observaciones importantes después de la maduración de la carne, es que las principales proteínas contráctiles (actina, miosina y  $\alpha$ -actinina) no sufren cambios (Bandman y Zdanis, 1988; Demeyer, 1995; Hwan y Bandman, 1989).

El posible efecto positivo del contenido de grasa sobre la terneza de la carne, puede tener dos explicaciones: La localización de los lípidos neutros en las células grasas, dentro del perimisio, el cual tendría el efecto físico de separar los grupos de fibras, abriendo la estructura miofibrilar e iniciando el proceso de tenderizado. Los lípidos también pueden atrapar humedad en el músculo, mejorando la jugosidad (Wood *et al.*, 2003).

Dransfield *et al.* (1980-81), a partir de los valores de Fuerza Máxima después del proceso de tenderizado, obtuvieron el siguiente orden de carne más a menos tierna, para las cinco especies estudiadas: cordero, ternera, cerdo, conejo y vaca. Lo anterior fue confirmado por Koochmaraie (1996), quien sugiere que la proteólisis miofibrilar (y de las proteínas asociadas), es la responsable del proceso de tenderización de la carne y es diferente para cada especie.

Para el análisis de la degradación miofibrilar, la mayoría de autores han empleado el método de electroforesis de las proteínas miofibrilares en geles de poliacrilamida (PAGE) en condiciones desnaturizantes (SDS) (Blanchard & Mantle, 1996; Negishi *et al.*, 1995; Ouali, 1992; Taylor *et al.*, 1995), logrando identificar algunos compuestos de peso molecular entre 28 y 30 KDa, que aparentemente son péptidos o fracciones de proteína que corresponderían a la degradación de la Troponina T (Ho *et al.*, 1994). Ouali *et al.* (1983) encontraron fragmentos de 27 y 30 KDa en carne de vacuno, mientras que en carne de conejo solo observó el fragmento de 27 KDa, el cual podría coincidir con los resultados del presente estudio (fragmento en la zona de 30 KDa). Los fragmentos de peso molecular entre 28 y 32 KDa, han sido observados también en vacuno (Olson, 1977) y otras especies como pollo (Hay, 1973) y cerdo (Penny, 1976).

#### **4. Composición de ácidos grasos en la carne**

La calidad nutricional de la grasa ha sido evaluada en términos de las relaciones de ácido grasos, PUFA:SFA y  $(n-6):(n-3)$ . En una dieta equilibrada, la relación recomendada de PUFA:SFA es 0.45 o mayor (Department of Health and Social Security UK, 1994), y para la razón  $n-6:n-3$  se recomienda un máximo de 4.0. La selección por velocidad de crecimiento modificó algunos de éstos índices, pero estas modificaciones no fueron importantes.

El enriquecimiento de las dietas animales con PUFA ( $n-3$ ), no causa ningún incremento en el nivel de oxidación (Dal Bosco *et al.*, 2004), por lo que este sistema puede emplearse para mejorar la calidad de las grasas de animales

monogástricos y poder obtener así, carne con mayor contenido de este tipo de ácidos grasos. La carne es también una fuente de ácido araquidónico (C20:4 *n*-6), tanto en los componentes de la carne magra como en la grasa visible (Li *et al.*, 1998). El conejo tiene la capacidad de sintetizar éste ácido, mediante la elongación y desaturación del ácido  $\alpha$ -linolénico, debido a la actividad de su microflora intestinal (Castellini *et al.*, 2002; Dal Bosco *et al.*, 2004). La presencia de altas cantidades de ácido linolénico (C18:2 *n*-6) en las dietas actuales, resulta en un incremento del mismo ácido y del araquidónico en el plasma. La carne de conejo contiene mayor cantidad de PUFA que la de pollo (Griffiths *et al.*, 1989) y ésta contiene mayor cantidad de PUFA que las carnes rojas (Rhee, 1992).

La información que pueden proporcionar los índices de ácidos grasos, debe tomarse con cuidado, ya que son datos que reflejan, en cierta forma, el equilibrio en el alimento respecto a su composición en ácidos grasos, pero una dieta está integrada además por otros alimentos de origen vegetal o animal y seguramente algunos, también contendrán ácidos grasos en su composición. Por otro lado, en el caso de la carne, los valores de éstos índices, dependerán a su vez de la forma de cocinarla (García Regueiro, 2004). Por lo que un índice de ácidos grasos debería calcularse, además de cada alimento, para cada tipo de dieta.

Referente al consumo de ácidos grasos en la dieta, diferentes organismos (British Nutrition Foundation, 1993, 1996 y el Department of Health and Social Security UK, 1994), sugieren incrementar el consumo de PUFA *n*-3 y disminuir la relación *n*-6:*n*-3 a un valor menor o igual a 6:1 (Dal Bosco, 2004). Esta información ha estimulado el interés de diferentes grupos de investigación por aumentar la composición de los ácidos grasos *n*-3 en los productos animales (carne, huevo y leche), mediante el enriquecimiento de la dieta con aceites de pescado que contengan grandes cantidades de ácidos grasos de cadena larga *n*-3 (Ishida *et al.* 1996). El ácido linolénico es el precursor de los ácidos EPA y DHA. Sin embargo, en este estudio se han encontrado cantidades

importantes en la carne de conejo de C18:3 *n*-3 ( $\alpha$ -linolénico, aproximadamente 80 mg/100g de carne), por lo que si se reducen los niveles de C18:2 *n*-6 (linoleico) en esta carne su composición en ácidos grasos podría ser más adecuada para una dieta saludable. Así, se conseguiría reducir la relación *n*-6:*n*-3.

La carne ha sido una parte importante de la dieta humana durante al menos 2 millones de años, sin embargo, el consumo de carnes rojas se ha asociado epidemiológicamente con el incremento de enfermedades coronarias, debido a la composición de su grasa. Contrariamente, también existe información que demuestra que una dieta sana debe incluir carne roja y magra para producir cambios positivos (como la reducción de colesterol) en los lípidos de la sangre (Higgs & Mulvihill, 2002). Los niveles de colesterol en sangre se incrementan por la inclusión de grasa de vacuno y no de magro de vacuno. El consumo de cantidades iguales de vacuno, pollo y pescado, añadidos de poca grasa y dietas bajas en grasas saturadas, pueden reducir similarmente los niveles del HDL-colesterol y el LDL-colesterol en hombres y mujeres hipercolesterolémicos y normocolesterolémicos (Higgs & Mulvihill, 2002). Por tanto, la carne de conejo, que por sus características bioquímicas no puede considerarse una carne roja, puede tener un protagonismo importante en dietas alternativas y/o para consumidores a los que no les gusten de las carnes rojas y para colectivos que tengan en cuenta los valores nutritivos de la carne y de la dieta en general. El presente trabajo es el primero desarrollado en esta área de investigación, en que se comparan las características bioquímicas, de calidad de carne, textura y composición en ácidos grasos, de dos grupos de monogástricos (conejos), uno de ellos seleccionado por velocidad de crecimiento, con diferencia de 14 generaciones.

**BIBLIOGRAFÍA**

- Alasnier, C., Rémignon, H. & Gandemer, G. 1996. Lipid characteristics associated with oxidative and glycolytic fibres in rabbit muscles. *Meat Science*, **43**, 213 - 224.
- Armero, E., Barbosa, J. A., Toldrá, F., Baselga, M. and Plá, M. 1999. Effects of the terminal sire type and sex on pork muscle cathepsins (B, B+L and H), cysteine proteinase inhibitors and lipolytic enzyme activities. *Meat Science*, **51**, 185-189.
- Bandman, E. and Zdanis, D. 1988. An immunological method to assess protein degradation in post mortem muscle. *Meat Science*, **22**, 1-19.
- Battaglini, M.B., Castellini, C., Lattaiolo, P. 1994. Rabbit carcass and meat quality: Effect of strain, rabbitry and age. *Italian Journal Food Science*, **2**, 157-166.
- Blanchard, P.J. and Mantle, D. 1996. Comparison of proteolytic enzyme levels in chicken, pig, lamb and rabbit at point of slaughter: Role in meat tenderisation *post-mortem*. *Meat Science*, **71**, 83-91.
- Blasco, A. y Piles, M. 1990. Muscular pH of the rabbit. *Ann. Zootech.*, **39**, 133-136.
- British Nutrition Foundation. 1993. Unsaturated fatty acids: Nutritional and physiological significance. En: Report of the British and Nutrition Foundation's Task Force. Ed. The British and Nutrition Foundation.
- British Nutrition Foundation. 1996. *Diet and heart disease: A round table of facts*, Ed. M. Ashwell, 2 ed., BNF, London.
- Campo, M.M. 1999. *Influencia de la Raza, sobre la textura y las características sensoriales de la carne bovina a lo largo de la maduración*. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. España.

- Castellini, Dal Bosco, & Mugnai, 2002. Effect of caecotrophy on the fatty acid profile of rabbit meat. *Progress in nutrition*, **4**, 125-130.
- Combes, S., Lepetit, J.; Darche, B. & Lebas, F. 2003. Effect of cooking temperature and cooking time on Warner-Bratzler tenderness measurement and collagen content in rabbit meat. *Meat Science*, **66**, 91-96.
- Cornet, M. & Bousset, J. 1999. Free aminoacids and dipeptides in porcine muscles: differences between “red” and “white” muscles. *Meat Science*, **51**, 215-219.
- Costa, F.J., Prates, J.A., Serra, P.M., Ribeiro, A.M. & Correia, A.A. 1998. Changes in *post-mortem* rabbit skeletal muscles revealed by phase contrast and transmission electron microscopy. En: *Electron microscopy*. Eds. Benavides, H.A. & Yacamón, M.J. Institut of Physics Publishing, Bristol. **4**, 829-830.
- Dal Bosco, A., Castellini, C., Bienchi, L. and Mugnai, C. 2004. Effect of dietary  $\alpha$ -linolenic acid and vitamin E on the fatty acid composition, storage stability and sensory traits of rabbit meat. *Meat Science*, **66**, 407-413.
- Dalle Zote, A. & Ouhayoun, J. 1995. Post-weaning evolution of muscle energy metabolism and related physico-chemical traits in rabbit. *Meat Science*. **50**, 471-478.
- Dalle Zote, A. & Ouhayoun, J. 1998. Effect of genetic origin, diet and weaning weight on carcass composition, muscle physicochemical and histochemical traits in the rabbit. *Meat Science*, **50**, 471-478.
- Dalle Zote, A., Ouhayoun, J., Parigi Bini, R. & Xiccato, G. 1996. Effect of age, diet and sex on muscle energy metabolism and related physicochemical traits in the rabbit. *Meat Science*, **43**, 15-24.
- Dalle Zote, A. 2000. Propriétés spécifiques de la viande de lapin. En: *Proceedings of the Jornadas Internacionais de Cunicultura*, UTAD – Vila Real, Portugal, pp. 101-110.



- Dalle Zote, A. 2002. Perception of rabbit meat quality and major factors influencing the rabbit carcass and meat quality. *Livestock Production Science* **75**, 11-32.
- 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. Science*, **79**, 398-412.
- Demeyer, D. 1995. Meat texture improvement: origins and mechanisms involved. En: *Expression of tissues proteinases and regulation of protein degradation as related to meat quality*. Ed. Ouali, A., Demeyer, D., Smulders, F. ECCEAMST [INRA, OECD, París].
- Department of Health and Social Security UK. 1994. Nutritional aspects of cardiovascular disease (Report on Health and Social subjects No. 46). Her Majesty's Stationery Office (HMEO), London.
- Dransfield, E., Jones, R.C.D., MacFie, H.J.H. 1980-81. Tenderising in *M. longissimus dorsi* of beef, veal, rabbit, lamb and pork. *Meat Science*, **5**, 139-147.
- Garcia Regueiro, J.A. 2004. Comunicación Personal.
- Gil, M., Serra, X., Gispert, M., Oliver, M. A., Sañudo, C., Panea, B., Olleta, J. L., Campo, M., Oliván, M., Osoro, K., García-Cachán, M. D., Cruz-Sagredo, R., Izquierdo, M., Espejo, M., Martín, M. & Piedrafita, J. 2001. The effect of breed-production systems on the myosin heavy chain I, the biochemical characteristics and the colour variables of *longissimus thoracis* from seven Spanish beef cattle breeds. *Meat Science*, **58**, 181-188.
- Gil, M., Oliver, M.A., Gispert, M., Diestre, A., Sosniki, A.A., Lacoste, A., Carrión, D. 2003. The relationship between pig genetics, myosin heavy chain I, biochemical traits and quality of *longissimus thoracis*. *Meat Science*, **65**, 1063-1070.

- Gondret, F., Juin, H., Mourot, J. & Bonneau, M. 1998. Effect of age at slaughter on chemical traits and sensory quality of *longissimus lumborum* muscle in the rabbit. *Meat Science*, **48**, 181-187.
- Gondret, F. & Bonneau, M. 1998. Mise en place des caractéristiques du muscle chez lapin et incidence sur la qualité de la viande. *INRA Prod. Anim.*, **11**, 335-347.
- Griffiths, T.W., Gandemer, G., Viau, M. Vedrenne, P. 1989. Polyunsaturated fatty acid (PUFA) content of rabbit meat: a potential source of PUFA for human nutrition. *Proc. Nutr. Soc.*, **48**, 5A.
- Grunert, K.G., Bredahl, L. Brunsø, K. 2004. Consumer perception of meat quality for product development in the meat sector – a review. *Meat Science*. **66**, 259- 272.
- Hatori, A. & Takahashi, K. 1979. Studies on *post-mortem* fragmentation of miofibrils. *J. Biochemistry*, **85**, 47-56.
- Hay, J.D. Currie, R.W. and Wolfe, F.H. 1973. Polyacrilamide disc gel electrophoresis of fresh and aged chicken muscle proteins in sodium dodecyl sulphate. *J. Food Science*, **38**, 987-990.
- Hernández, P., Guerrero, L., Ramírez, J., Ariño, B., Blasco, A. 2003. Efecto de la selección por velocidad de crecimiento sobre la calidad sensorial de la carne de conejo. *ITEA*, **24**, Tomo I, 256-258.
- Higgs, J.D. & Mulvihill, B. 2002. Enhancing the nutritional value of meat. En: *Nutrition Handbook of Food Processors*. Ed. Henry, C.J.K., Chapman, C., Woodhead Publishing Limited. Cambridge, England.
- Ho, C.Y., Stromer, M.H., 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.
- Hulot, F., Ouhayoun, J. 1999. Muscular pH and related traits in rabbits: A review. *World Rabbit Science*, **7**, 15-36.

- Hwan, S.F., Bandman, E. (1989) Studies of desmin and  $\alpha$ -actinin degradation in bovine semitendinosus muscle. *J. Food Science*, **54**, 1426-1430.
- Ishida, M., Konno, Y., Suzuki, K., Ogawa, Y. & Abe, H. 1996. The effects of fish oil-enriched with *n-3* polyunsaturated acids on lipids and tasty compounds of pork loin. *Nippon Sokuin Kagaku Kaishi*, **43**, 1219-1226.
- Koohmaraie, M. 1994. Muscle proteinases and meat ageing. *Meat Science*, **36**, 93-104.
- Koohmaraie, M. 1996. Biochemical factors regulating the toughening and tenderization process of meat, *Meat Science*, **43**, S, S193-S201.
- Lambertini, L., Barrilli, M., Lalatta, G. 1996. Considerazioni sulla composizione in fibre del muscolo scheletico di coniglio. *Rivista di Conigliocoltura*, **3**, 47-51.
- Lambertini, L., Lalatta, G., Petrosino, G., Zaghini, G., Vignola, G., Benassi, M.C. & Gatta, P.P. 1996a. Caractéristiques histoquimiques du muscle et pH de la viande du lapins hybrides sacrifiés à différents âges. *World Rabbit Science*, **4**, 4, 171-179.
- Li, D., Ng, A., Mann, N.J. and Sinclair, A.J. 1998. Contribution of meat fat to dietary arachidonic acid. *Lipids*, **33**, 437-440.
- Maltin, C.A., Sinclair, K.D., Warriss, P.D., Grant, C.M., Porter, A.D., Delday, M.I. & Warkup, C.C. 1998. The effects of age at slaughter, genotype and finishing system on the biochemical properties, muscle fibre type characteristics and eating quality of bull beef from suckled calves. *J. Animal Science*, **66**, 341-348.
- Mestre Prates, J.A., Ribeiro, A.M.R., Dias Correia, A.A. 2001. Role of cysteine endopeptidases (EC 3.4.22) in rabbit meat tenderisation and some related changes. *Meat Science*, **57**, 283-290.

- Mestre Prates, J.A., Garcia e Costa, F.J.S., Ribeiro, A.M.R., Dias Correia, A.A. 2002. Contribution of major structural changes in myofibrils to rabbit meat tenderisation during ageing. *Meat Science*, **61**, 103-113.
- Monin, 1988. Evolution post-mortem du tissu musculaire et conséquences sur les qualités de la viande de pork. *Viandes Prod. Carnés*, **9**, 302-315.
- Møller, A. 1980. Analysis of Warner-Bratzler shear force pattern with regard to myofibrillar and connective tissue components of tenderness. *Meat Science*, **5**, 247-260.
- Negishi, H. Yamamoto, E. and Kwata, T. (1996). The origin of the 30 Kda component appearing during post-mortem ageing of bovine muscle. *Meat Science*, **42**, 289-303.
- Oliver, M. A., Guerrero, L., Díaz, I., Gispert, M., Pla, M. & Blasco, A. 1997. The effect of fat-enriched diets on the perirenal fat quality and sensory characteristics of meat from rabbits. *Meat Science*, **47**, 95-103.
- Olson, D.G. Parrish, F.C. Jr., Dayton, D.W. and Goll, D.E. 1977. Effect of *post-mortem* storage and calcium activated factor on the myofibrillar proteins of bovine skeletal muscle. *J. Food Science*, **42**, 117-124.
- Ouali, A. 1992. Proteolytic and physicochemical mechanisms involved in meat texture development. *Biochimie*, **74**, 251-265.
- Ouhayoun, J. 1978. Etude comparative de races de lapins different par le poids adulte. Thèse (*Agronomie, mention Zootechnie*), Académie de Montpellier, France.
- Ouhayoun, J. 1989. La composition corporelle du lapin. Facteurs de variation. *INRA, Prod. Anim.* **2**, 3, 215-226.
- Ouhayoun, J. Daudin, J.D, Raynal, H. 1990. Technologie de l'abattage du lapin. II. Influence de la temperature de l'air de réfrigération sur les pertes d'eau et sur l'acidification musculaire. *Viandes Prod. Carnés*, **11**, 69-73.

- Ouhayoun, J. 1991. La viande du lapin. Caractéristiques et variabilité qualitative. *Cuni-Sciences*, **7**, 1- 15.
- Ouhayoun, J. & Dalle Zotte, A. 1993. Muscular energy metabolism and related traits in rabbit. A review. *World Rabbit Science*, **1**, 3, 97- 108.
- Penny, I.F. 1976. The effects of conditioning on the myofibrillar proteins of pork muscle. *J. Food Agriculture*, **27**, 1147-1155.
- Piles, M., Blasco, A., Pla, M. 2000. The effect of selection for growth rate on carcass composition and meat characteristics of rabbits. *Meat Science*, **54**, 347-355.
- Pla, M., Guerrero, L., Guardia, D., Oliver, M. A. & Blasco, A. 1998. Carcass characteristics and meat quality of rabbit line selected for different objectives: I. Between lines comparison. *Livestock Production Sciences*, **54**, 115-123.
- Renand, G., Touraille, C., Geay, Y., Berge, P., Lepetit, J. & Picard, B. 1997. Variabilité des qualities organoleptiques de la viande bovine en relation avec les caractéristiques musculaires. *Renc. Rech. Ruminants*, **4**, 311-314.
- Rhee, K.S. 1992. Fatty Acids in Meat and Meat Products. En: *Fatty acids in foods and their health implications*. Ed. Kuang Chow, C. Marcel Dekker, Inc. New York, USA. pp. 65-93.
- Ristic, M., Zimmermann, E. 1992. Schlachtkörperwert der jungkaninchen von masthybriden und reinzuchtieren. *Mitteilungsblatt der Bundesanstalt für fleischforschung*, **31**, 288-292.
- Robson, R.M. 1995. Myofibrillar and cytoskeletal structures and proteins in mature skeletal muscle cells. En: *Expression of tissue proteinases and regulation of protein degradation as related to meat quality*. Utrecht: ECCEAMST. pp. 267-288.

- Santolaria, P. 1993. *Influencia de los factores genéticos y ambientales sobre los parámetros sensoriales que detienen la calidad de la carne de añejo*. Tesis Doctoral, Universidad de Zaragoza. España.
- Schreurs, F. J. G., Van der Heide, D., Leenstra, F. R. and De Wit, W. 1995. Endogenous proteolytic enzymes in chicken muscles. Differences among strains with different growth rates and protein efficiencies. *Poultry Science*, **74**, 523-537.
- Termin, A., Staron, R.S., & Pete, D. 1989. Myosin heavy chain isoforms in histochemically defined fiber types of rat muscles. *Histochemistry*, **92**, 453.
- Taylor, R. G., Geesink, G. H., Thompson, V. F. & Koohmaraie, M. 1995. Is Z-disk degradation responsible for *post-mortem* tenderization? *J. Anim. Sci.*, **73**, 1351-1367.
- Valin, C., Touraille, C., Vigneron, P., Ashmore, C.R. 1982. Prediction of lamb meat quality traits based on muscle biopsy fibre typing. *Meat Science*, **6**, 257-263.
- Vicente, J.S., Viudes-de-Castro, M.P., García, M.L. (1999). *In vivo* survival rate of rabbit morulae after vitrification in a medium without serum protein. *Reproduction Nutrition Development* **39**, 657-662.
- Vigneron, P., Bacou, F. & Ashmore, R. 1976. Distribution heterogeneity of muscle fibre types in the rabbit *longissimus* muscle. *J. Animal Science*, **43**, 985-988.
- Vignon, X., Beaulaton, J. & Ouali, A. 1989. Ultrastructural localization of calcium in post-mortem bovine muscle: a cytochemical and X-ray microanalytical study. *Histochemical Journal*, **21**, 403-411.
- Wood, J.D., Richardson, R.I., Nute, G.R., Fisher, A.V., Campo, M.M., Kasapidou, E., Sheard, P.R., Enser, M. 2003. Effects of fatty acids on meat quality: A review. *Meat Science*, **66**, 21-32.

# **CONCLUSIONES**





## CONCLUSIONES

Se ha realizado un estudio de las características bioquímicas, de la calidad de la carne y del músculo *longissimus* y de la grasa perirrenal de dos grupos de conejos de una misma línea genética, una de ellas seleccionada por velocidad de crecimiento, y en las condiciones de este trabajo se han obtenido las siguientes conclusiones:

1. El músculo LT de los animales seleccionados por velocidad de crecimiento presentó porcentajes de miosina MHC-I más bajos y una actividad glicolítica (aldolasa) más alta que el de los animales control, indicando un aumento de las características glicolíticas del músculo como resultado de la selección.
2. Como consecuencia del aumento de metabolismo glicolítico del músculo en el grupo selección, la CRA del mismo disminuyó y los valores de algunas variables de textura reflejaron un aumento en la dureza, masticabilidad, y gomosidad (TPA), así como en firmeza al corte (WB), respecto al grupo control. Sin embargo, para poder evaluar el efecto de la selección por velocidad de crecimiento en la percepción de los cambios de textura de la carne por parte del consumidor, sería necesario un estudio de consumidores.
3. La selección por velocidad de crecimiento provocó un ligero aumento de la grasa intra e intermuscular de la carne de la pierna de los animales del grupo selección. Sin embargo, este aumento puede ser considerado como poco importante (2.97% vs. 3.21%) desde el punto de vista dietético.
4. La selección por velocidad de crecimiento cambió la composición de los ácidos grasos de la carne y de la grasa (de la pierna y perirrenal). Este cambio fue alto para algunos ácidos grasos (por ejemplo el palmitoleico), pero los cambios en los índices relacionados con la salud humana ( $n-6/n-3$

y PUFA:SFA) no fueron importantes. Algunos de los cambios en los índices fueron favorables y otros desfavorables, pero globalmente, la selección por velocidad de crecimiento no disminuyó la calidad en la composición de la carne ni de la grasa desde el punto de vista de la salud.

5. El mayor cambio en los índices relacionados con la salud fue la reducción en un 10% del índice PUFA:SFA, lo cual representa menos del 1% por generación.
6. El potencial proteolítico del músculo (actividades de las cisteinproteasas y sus inhibidores) fue independiente de la velocidad de crecimiento de los animales.
7. La selección genética no modificó el patrón de degradación de las miofibrillas (SDS-PAGE) del músculo LT entre 24 horas y 7 días *post-mortem*, en las condiciones de análisis aplicadas.
8. El patrón de degradación de las miofibrillas (SDS-PAGE) de las muestras maduradas 7 días presentó diferencias respecto al de las muestras obtenidas a 24 h, probablemente relacionadas con la degradación de la troponina T, la titina y la nebulina. En concordancia, en las muestras de lomo maduradas 7 días, la Cohesividad fue significativamente inferior a la de las muestras de 24h, y la Elasticidad y la Masticabilidad mostraron tendencia a disminuir en este período, sugiriendo una mejora de las características de textura con la maduración.

# **Anexo**

