

2012

# TRABAJO FIN DE MASTER

*Efecto de la inclusión de distintas fuentes de grasa en la dieta y de la congelación sobre la calidad de la carne de cerdo.*

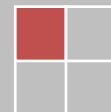
MÁSTER EN INICIACIÓN A LA INVESTIGACIÓN EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS



Ciencia y Tecnología de la Carne y el Pescado  
Dpto. Producción Animal y Ciencia de los Alimentos  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de Zaragoza



Javier Tenas Gonzalvo  
Tutores: Verónica Alonso, José Antonio Beltrán  
01/09/2012



## AGRADECIMIENTOS:

En primer lugar me gustaría agradecer a José Antonio Beltrán, tanto el haberme brindado la oportunidad de realizar este trabajo como por su supervisión a lo largo del mismo, porque sino nada habría sido posible.

También me gustaría dar las gracias a Verónica Alonso por haber sido mi mano derecha durante todo el trabajo y solucionarme las innumerables dudas que me han ido surgiendo.

Por último y no menos importante, quiero agradecer a todos mis compañeros de laboratorio (Juan, Laura, Elena, Pedro y Daniel) la ayuda que me han prestado en todo momento con todo el volumen de trabajo que he tenido.

## INDICE

<b>Resumen .....</b>	<b>4</b>
<b>1. Introducción.....</b>	<b>5</b>
<b>2. Objetivos .....</b>	<b>14</b>
<b>3. Material y Métodos .....</b>	<b>15</b>
3.1. Medición de pH por punción y homogenización .....	18
3.2. Medida instrumental del color (L*, a*, b*) .....	18
3.3. Capacidad de retención de agua (CRA) .....	19
3.4. Perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular por cromatografía de gases .....	22
3.5. Oxidación lipídica (TBARS).....	24
3.6. Oxidación proteica .....	25
<b>4. Resultados y Discusión .....</b>	<b>27</b>
<b>5. Conclusiones .....</b>	<b>43</b>
<b>6. Referencias bibliográficas .....</b>	<b>44</b>

## Efecto de la inclusión de distintas fuentes de grasa en la dieta y de la congelación sobre la calidad de la carne de cerdo.

### Resumen:

En este trabajo se estudió el efecto de la inclusión de distintas fuentes de grasa en la dieta (grasa animal, aceite de soja y jabón cálcico de aceite de palma), junto con el efecto de la congelación sobre distintos parámetros de calidad y el perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular (GIM) en el M. *Longissimus dorsi* de cerdo. Para ello se utilizaron diferentes técnicas con el fin de cuantificar los parámetros de calidad y el porcentaje y el perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular. Los resultados obtenidos indican que los parámetros de calidad se ven poco afectados por la adición de distintas fuentes de grasa a la dieta de los animales, sin embargo, el tiempo de congelación sí que actúa sobre ellos negativamente produciendo pérdidas de color (descenso de L\*, a\* y b\*) y aumentando las pérdidas de agua. Aunque la estabilidad oxidativa se mantiene constante a lo largo del tiempo de congelación, no superando 0,2 mg malonaldehido/Kg. Por el contrario, el perfil de ácidos grasos si se ve ampliamente modificado por la adición de distintas fuentes de grasa a la dieta, siendo las dietas con aceite de soja las que mayores modificaciones causan a la carne. Además, el perfil de ácidos grasos también es modificado durante la congelación por oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados, que induce a un cambio en el resto de porcentajes y dan como resultado un producto peor desde el punto de vista saludable, según los índices estudiados.

## 1. INTRODUCCIÓN:

En la bibliografía podemos encontrar distintos puntos de vista a la hora de hablar de la calidad de la carne. Para un productor, el ideal de calidad probablemente sea que la canal tenga un alto rendimiento, una buena conformación, abundantes masas musculares, que se encuentre poco engrasada y que esta grasa sea firme y blanca. Por otro lado, un carnicero valorará otros atributos de calidad como son un color estable, que no pierda líquido y que tenga una consistencia adecuada para el corte y manipulación. Sin embargo, un industrial que se dedique al procesado de productos cárnicos en general valorará positivamente aspectos como un pH adecuado, un elevado contenido en grasa intramuscular, una adecuada estabilidad oxidativa, la capacidad de formación de geles, etc. Finalmente, el consumidor demandará parámetros como el aspecto, color, jugosidad, dureza, tiempo de almacenamiento en nevera, etc. (López Bote, 2003). Una de las definiciones más extendidas de calidad de la carne fue propuesta por Hammond en 1995: "la calidad se puede definir como aquello que gusta al consumidor y por lo que está dispuesto a pagar más que el precio medio".

Para profundizar un poco más en el concepto de calidad de la carne es necesario diferenciar distintos factores que determinan la aceptabilidad del producto para el consumidor, y en consecuencia, la calidad. Por tanto, en el término global de calidad se deben incluir distintas cualidades que a su vez están interrelacionadas en algunos casos: calidad higiénica, calidad nutritiva, calidad organoléptica y calidad según la aptitud para la conservación o la transformación. (Girard, 1984)

Centrándonos en la calidad según la aptitud para la conservación y la transformación, alguno de los factores que podrían influir serían: la dieta de los animales y el tiempo de congelación.

### **1.1. Efecto de la dieta: Dietas con distintas fuentes de grasa**

Como introducción a este tema es importante definir antes ciertos conceptos:

Los ácidos grasos son anfipáticos, es decir, tienen un grupo carboxilo (hidrofílico) en el extremo polar y una cadena de hidrocarbonos en el extremo no polar (hidrofóbico). Los ácidos grasos formados por enlaces simples se denominan "saturados" (Campbell, 1995). Si hay dobles enlaces entre los carbonos de la cadena del ácido graso, los ácidos grasos son llamados insaturados. El ácido oleico (C<sub>18</sub>:1n-9) contiene un doble enlace y es denominado monoinsaturado. Un ácido graso con más de un doble enlace es llamado poliinsaturado y predominan en los aceites vegetales. Los ácidos grasos con

doce o más átomos de carbono son denominados como ácidos grasos de cadena larga y son típicos de las grasas de origen animal (Webb y O'Neill, 2008).

Los ácidos grasos se pueden expresar por sus nombres triviales, por ejemplo, ácido linoleico, mientras que el nombre basado en su estructura sería ácido cis-9, cis-12-octadecadienoico, y su abreviatura sería C18:2n-6. Según la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC), la terminología correcta de los ácidos grasos de cadena son el nombre del hidrocarburo original. El modo oficial de denominar los ácidos grasos consiste en el número de átomos de carbono seguido por dos puntos y el número de dobles enlaces; la localización de los mismos se designa por el número del átomo de carbono donde empieza, contando a partir del extremo carboxílico (-COOH). No obstante, las nomenclaturas abreviadas o "n" (también conocido como omega o  $\omega$ ) describen los ácidos grasos insaturados de las familias n-3, n-6, n-7 y n-9 y dan la posición del enlace etilénico contando desde el grupo metilo terminal (CH<sub>3</sub>-), como C18:2 n-6 para el ácido linoleico. Los dobles enlaces en los ácidos grasos insaturados son generalmente del tipo cis, es decir, el grupo carboxilo y el grupo metilo respecto al doble enlace si sitúan geométricamente en el mismo lado (Webb y O'Neill, 2008).

En la tabla 1 se muestra la nomenclatura de los ácidos grasos descritos en este proyecto.

**Tabla 1:** Nomenclatura de los principales ácidos grasos encontrados en el cerdo (Bolton *et al.*, 2008)

Nombre trivial	Nombre IUPAC	n-x	$\Delta^x$
Ácido láurico	Ácido dodecanoico	C12:0	
Ácido mirístico	Ácido tetradecanoico	C14:0	
Ácido palmitílico	Ácido hexadecanoico	C16:0	
Ácido esteárico	Ácido octadecanoico	C18:0	
Ácido palmitoleico	Ácido cis-9-hexadecenoico	C16:1 n-7 cis- $\Delta^9$	
Ácido oleico	Ácido cis-9-octadecenoico	C18:1 n-9 cis- $\Delta^9$	
Ácido cis-vaccénico o asclépico	Ácido cis-11-octadecenoico	C18:1 n-7 cis- $\Delta^{11}$	
Ácido linoleico	Ácido cis-9,12-octadecadienoico	C18:2 n-6 all-cis- $\Delta^9, \Delta^{12}$	
Ácido y-linolénico	Ácido cis-6,9,12-octadecatrienoico	C18:3 n-6 all-cis- $\Delta^6, \Delta^9, \Delta^{12}$	
Ácido $\alpha$ -linolénico	Ácido cis-9,12,15-octadecatrienoico	C18:3 n-3 all-cis- $\Delta^9, \Delta^{12}, \Delta^{15}$	
Ácido gonodoico	Ácido cis-11-eicosenoico	C20:1 n-9 cis- $\Delta^{11}$	
Ácido eicosadienoico	Ácido cis-11,14-eicosadienoico	C20:2 n-6 all-cis- $\Delta^{11}, \Delta^{14}$	
Ácido eicosadienoico	Ácido cis-14,17-eicosadienoico	C20:2 n-3 all-cis- $\Delta^{14}, \Delta^{17}$	
Ácido dihomo-y-linolénico, DGLA	Ácido cis-8,11,14-eicosatrienoico	C20:3 n-6 all-cis- $\Delta^8, \Delta^{11}, \Delta^{14}$	
Ácido dihomo- $\alpha$ -linolénico	Ácido cis-11,14,17-eicosatrienoico	C20:3 n-3 all-cis- $\Delta^{11}, \Delta^{14}, \Delta^{17}$	
Ácido araquidónico	Ácido cis-5,8,11,14-eicosatetraenoico	C20:4 n-6 all-cis- $\Delta^5, \Delta^8, \Delta^{11}, \Delta^{14}$	
Ácido timnodónico, EPA	Ácido cis-5,8,11,14,17-eicosapentaenoico	C20:5 n-3 all-cis- $\Delta^5, \Delta^8, \Delta^{11}, \Delta^{14}, \Delta^{17}$	
Ácido clupanodónico, DPA	Ácido cis-7,10,13,16,19-docosapentaenoico	C22:5 n-3 all-cis- $\Delta^7, \Delta^{10}, \Delta^{13}, \Delta^{16}, \Delta^{19}$	
Ácido cervónico, DHA	Ácido cis-4,7,10,13,16,19-docosahexaenoico	C22:6 n-3 all-cis- $\Delta^4, \Delta^7, \Delta^{10}, \Delta^{13}, \Delta^{16}, \Delta^{19}$	

La utilización de grasas en la industria de la producción de piensos se ha visto incrementada paralelamente con las mejoras en el potencial productivo de las diferentes especies. Como fuente energética y de ácidos grasos esenciales, las grasas son muy superiores al resto de las materias primas que se encuentran en el mercado, y en condiciones normales de precios, su inclusión oscila entre el 50 y el 75 % de la grasa total presente en las dietas de los monogástricos. Además, la utilización de grasas tiene una serie de ventajas físicas y nutricionales que las hacen prácticamente insustituibles en la industria de piensos compuestos (Dolz, 1996).

La grasa se caracteriza por una producción de calor baja y tiene la ventaja práctica de reducir el incremento de calor que produce la dieta en los cerdos en crecimiento o acabado durante los períodos de estrés térmico ambiental. Otra de las ventajas de la adición de grasa es que mejora la digestión de carbohidratos y proteínas en el intestino delgado. La alimentación que contiene una alta concentración de grasa se mueve a través del tracto gastrointestinal más lentamente que la que tiene concentraciones más bajas, lo que permite más tiempo para la digestión y absorción de otros nutrientes. Por el contrario, la cantidad de grasa añadida a las dietas está limitada por los problemas físicos de mezclado y manejo y por la menor rentabilidad de añadir grasa en las formulaciones de menor costo (Pettigrew y Moser, 1991).

Los ácidos grasos pueden ser absorbidos en el intestino e incorporados sin cambios en el tejido adiposo de los cerdos. Los ácidos grasos poliinsaturados linoleico y  $\alpha$ -linolénico no pueden ser sintetizados *in situ*, por lo que las concentraciones tisulares pueden responder rápidamente a los cambios en la dieta. Por el contrario, los ácidos grasos saturados y monoinsaturados son sintetizados *de novo*, por lo tanto, sus concentraciones son menos influenciadas por ésta (Wood, 1984). Durante muchos años ha habido un fuerte interés en la modificación de la composición de grasa animal a través de la alimentación para cumplir con las recomendaciones dietéticas para los seres humanos, es decir, una relación óptima entre ácidos grasos saturados (AGS), ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) y ácidos grasos poliinsaturados (AGPI). Por todo ello, una de las estrategias investigadas últimamente ha sido el cambio de la fuente de grasa adicionada al pienso, pasando de grasas animales (más monoinsaturadas) hacia grasas vegetales (más poliinsaturadas) (Rosenvold y Andersen, 2003). Existen muchas investigaciones que han comparado la adición de grasa animal a la dieta con la adición de diversas fuentes de grasa vegetal, como los aceites de soja (Apple *et al.*, 2009; Bee *et al.*, 2002; Monahan *et al.*, 1992; Wiseman y Agunbiade, 1998), de palma (Wiseman *et al.*, 2000), de colza (Corino *et al.*, 2002; Miller *et al.*, 1990; Wiseman y Agunbiade, 1998), de girasol (Miller *et al.*, 1990; Mitchaothai *et al.*, 2007; Realini *et al.*, 2010), de maíz (Corino *et al.*, 2002) y de linaza (Realini *et al.*, 2010; Wiseman *et al.*, 2000).

Las dietas enriquecidas con aceites vegetales que contienen un elevado porcentaje de AGPI podrían dar lugar a productos más saludables para los consumidores (Mitchaothai *et al.*, 2007). Sin embargo, la calidad de la carne puede resultar alterada ya que estas grasas contienen un alto contenido de AGPI que podrían aumentar la susceptibilidad a la oxidación y, por lo tanto, reducir la vida útil del producto (Sheard *et al.*, 2000). Además, los procesos oxidativos pueden afectar negativamente a los atributos de calidad de la carne para el consumo humano, ya que pueden contribuir a la rancidez y al sabor "recalentado" (Gray *et al.*, 1996). Estos ácidos grasos también pueden producir una carne y productos cárnicos que pueden ser caracterizados como "suaves" y, por lo tanto, de menor calidad (Rosenvold y Andersen, 2003).

## **1.2. Efecto y cambios durante la congelación:**

### **Situación actual y legislación:**

Desde tiempos inmemoriales el hombre lleva conservando la carne a temperaturas bajas para alargar su vida útil, en cuevas o con hielo. Aunque el proceso de congelación no fue utilizado comercialmente por primera vez hasta 1842, y no fue hasta finales del siglo XIX cuando la conservación de alimentos congelados se llevó a una mayor escala, con la aparición de la refrigeración mecánica.

En la actualidad, el Reglamento de la UE nº 853/2004 (D.O.U.E., 2004) indica que "la carne que vaya a congelarse deberá serlo de inmediato", aunque añade que "no obstante, en caso necesario, se dejará transcurrir un tiempo de estabilización antes de proceder a la congelación". Si nos referimos a temperaturas la normativa indica que "las carnes congeladas deberán alcanzar una temperatura interna igual o inferior a -12°C y no podrán almacenarse a continuación a una temperatura superior a ésta".

Estas temperaturas se establecen en base a criterios microbiológicos. Por ello, es importante el concepto de zona subcero, que comprende el rango de temperaturas entre -1 y -12°C. Por su contenido en sales minerales y sus uniones con las proteínas, el agua de la carne comienza a congelarse de -1,5 a -1,8°C, continuando el proceso a medida que desciende la temperatura. Pero, aunque aparentemente el producto se solidifique, queda siempre una parte de agua líquida. Esta fase acuosa residual disminuirá al bajar la temperatura porque se va congelando el agua y la fase líquida restante se concentra en solutos, disminuyendo así su  $a_w$  y, por tanto, habrá una mayor inhibición microbiana.

Alrededor de -7 a -8°C, puede crecer en la fracción líquida la flora psicrotrofa-psicrófila más resistente a las descensos de  $a_w$  y entre -8 y -12°C prevalecen los mohos y las levaduras. No se ha detectado crecimiento de ningún microorganismo o éste es muy poco significativo por debajo de los -12°C. Consiguentemente, la temperatura a la que se almacena la carne congelada debería estar entre -12 y -20°C (Moreno García, 2006).

### Modificaciones durante la congelación:

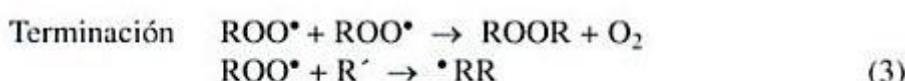
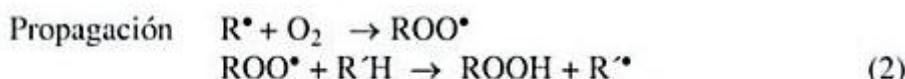
Aunque desde el punto de vista sanitario estamos frente a un alimento seguro si congelamos y mantenemos en congelación correctamente. Predecir los aspectos de calidad de la carne congelada a lo largo del tiempo, tiene una gran importancia desde el punto de vista tecnológico, nutricional y sensorial (Hallénstvedt *et al.*, 2012). Para ello nos centraremos en los posibles parámetros que puedan verse más afectados y comprometan en mayor medida la calidad final de un producto congelado como son: la oxidación lipídica y proteica, y las pérdidas de agua (exudado) por la formación de cristales de hielo, cambios de pH y color.

### **Alteración de lípidos (oxidación lipídica):**

En las condiciones aconsejadas de temperatura de almacenamiento de la carne (-18°C), las reacciones químicas y bioquímicas tienen lugar muy lentamente, aunque no se paralizan por completo. Entre ellas, tienen mayor interés la lipólisis y la oxidación de las grasas, que dan lugar al enranciamiento. Este enranciamiento puede deberse tanto a la acción hidrolítica de las lipasas como por autooxidación. Las lipasas microbianas son más importantes cuanto mayor es la carga microbiana antes de la congelación, aunque también existen algunas lipasas tisulares cuyo papel es menos significativo. Las lipasas que permanecen activas a bajas temperaturas y  $a_w$ , hidrolizan fosfolípidos y triglicéridos, siendo los ácidos grados libres resultantes objeto de la oxidación, ya que son más oxidables que los esterificados, lo que origina una serie de compuestos responsables de los olores y sabores típicos del enranciamiento.

La oxidación lipídica es una reacción en cadena promovida por los radicales libres que originan un producto que también es un radical y que, a su vez, reacciona y origina otro radical. Es un proceso de autooxidación que se inicia generalmente con la cesión de un átomo de hidrógeno por una molécula originándose un radical hidroxilo (Fig.1 (1)). Esta reacción puede estar catalizada por hidroperóxidos o iones metálicos. Posteriormente ocurren reacciones de propagación (Fig.1 (2)) en las que un radical lipídico se convierte en diferentes radicales lipídicos reactivos. En estas reacciones generalmente se cede un átomo de hidrógeno de una molécula lipídica o se incorpora una molécula de oxígeno a un radical alquilo. La entalpía de estas reacciones es relativamente baja en comparación con las reacciones de iniciación, de ahí que las reacciones de propagación ocurran más rápidamente que las de iniciación. En una presión atmosférica normal de oxígeno las reacciones de los radicales alquilo con el oxígeno son muy rápidas, y los radicales peroxilo se encuentran en mayor concentración que los radicales alquilo. La substracción de un átomo de hidrógeno tiene lugar preferentemente en átomos de carbono donde la energía de disociación del enlace sea baja, de modo que tiene lugar más rápidamente en el grupo metilo entre dos grupos alquenos de los ácidos grados poliinsaturados. Este radical formado reacciona rápidamente con el oxígeno dando lugar a hidroperóxidos muy oxidantes.

Finalmente las reacciones de oxidación terminan combinándose varios radicales libres para dar moléculas con electrones apareados y bajas energías de reacción (Fig.1 (3)) (Hernández Díaz-Ambrona, 2004). La oxidación lipídica es uno de los factores limitantes de la vida útil de la carne congelada, porque esta reacción no se detiene a bajas temperaturas y modifica las características sensoriales del producto, provocando rechazo por los consumidores.



**Figura 1.** Etapas de la oxidación lipídica

#### Formación de cristales de hielo:

Otro factor determinante en la calidad de los productos congelados es la formación de los cristales de hielo. Cuando la carne se congela, es el agua la que se congela, formando cristales de hielo. La cristalización del agua induce modificaciones en las características físico-químicas que dan lugar a cambios en la fuerza iónica, pH, viscosidad, desnaturalización proteica, etc. Además, en algún caso, pueden llegar a originar daños mecánicos en las estructuras celulares del músculo provocando la descompartimentalización de enzimas y sustratos (Carballo y Jiménez, 2003). La cantidad de hielo presente en la carne es constante a una temperatura dada, pero el tamaño de los cristales depende de la clase de congelación (Ranken, 2003). Así tenemos:

- *Congelación rápida:* Se forman muchos núcleos de cristalización simultáneamente, dentro y fuera de las células.
- *Congelación lenta:* Primero, los cristales se forman en el agua fuera de las células. Éstos luego crecen puesto que el agua líquida es atraída por ósmosis y el resultado son cristales grandes principalmente fuera de las células.
- *Temperaturas fluctuantes en el material congelado:* Cuando la temperatura se eleva se funde parte del hielo, pudiendo desaparecer los cristales más pequeños. Cuando la temperatura vuelve a disminuir, los cristales restantes captan el agua y se convierte en hielo dando lugar a cristales más grandes.

Otros autores opinan que no solo la velocidad de congelación es importante en el tamaño y distribución de los cristales en el músculo, sino también el estado fisiológico del músculo en el momento de dicha congelación (Pre-rigor/post-rigor) (Figura 2) (Carballo y Jiménez, 2003).

	Congelación lenta	Congelación rápida	Congelación ultra-rápida
Post-rigor	 Agua intracelular	 Cristales mas pequeños, mas numerosos y extracelulares	 Cristales muy pequeños intra y extracelulares
Pre-rigor	 Grandes cristales extracelulares	 Pequeños cristales principalmente intracelulares	 Cristales muy pequeños principalmente intracelulares

**Figura 2.** Influencia de la velocidad de congelación y el estado fisiológico del músculo sobre la localización y tamaño de los cristales de hielo (Rosset, 1979)

### Pérdidas de agua:

Todos estos cambios en la estructura celular, la alteración de proteínas y la ruptura de estructuras debidas a la congelación provocan una disminución de la capacidad de retención de agua de la carne. Es por ello por lo que durante la descongelación una parte del agua procedente de la fusión de los cristales de hielo formados durante la congelación no puede ser reabsorbida por la carne, dando lugar a pérdidas de peso en forma de exudado, que pueden ser de hasta un 2 % superior a las pérdidas producidas en la carne fresca. El exudado, aparte de agua, contiene sustancias hidrosolubles (proteínas, aminoácidos, vitaminas y minerales). El grado de exudación varía con la velocidad de descongelación; si la velocidad de congelación fue tal que la cristalización dio lugar a la formación de un escaso número de cristales, de gran tamaño y localizados a nivel extracelular, conviene realizar una descongelación más bien lenta que haga posible la recolocación del agua deslocalizada y así aumentar la capacidad

de retención del agua del músculo. Si por el contrario se produjeron numerosos cristales, de pequeño tamaño, situados intra y extracelularmente, es posible acelerar la fusión del hielo. En general, existe una relación directa entre la velocidad de descongelación y la cantidad de exudado producido. (Carballo y Jimenez, 2003).

### **Oxidación proteica:**

En relación a la oxidación proteica, ésta sigue los mismos pasos que la oxidación lipídica, teniendo etapa de iniciación, propagación y terminación (Schaich, 1980). Este proceso afecta especialmente a aquellos aminoácidos con cadenas laterales reactivas (Xiong, 2000). Como consecuencia de la oxidación, se generan grupos carbonilos libres, polimerización de proteínas o puede haber una escisión de péptidos (Decker *et al.*, 1993; Xiong, 2000). Estos procesos se vinculan con una pérdida de la funcionalidad de las proteínas del músculo, mayores pérdidas de agua (menor capacidad de retención de agua "CRA") y con la formación de geles y emulsiones menos estables (Xiong, 2000). Además estas modificaciones pueden afectar negativamente a la calidad sensorial de la carne fresca y productos cárnicos en términos de textura, ternura y color (Rowe *et al.*, 2004).

### **Cambios en el color:**

Por otro lado, el color es uno de los atributos más valorados por el consumidor tanto en carne fresca como en la carne congelada. La intensidad de color de la carne fresca refleja la cantidad de mioglobina presente, su estado químico y la luminosidad o estado físico de la carne, dependiendo a su vez del pH final, de la velocidad de descenso de pH y la estructura de las proteínas (Lawrie, 1974).

El estado de oxidación del pigmento determina el tinte o tono. La oxidación de la mioglobina produce metamioglobina, que da lugar a coloraciones pardas propias de carne en un estado defectuoso de conservación. La forma reducida ofrece dos posibilidades: desoximioglobina (color rojo púrpura) u oximioglobina, que es la forma oxigenada y presenta una coloración rojo clara. Esta última es la más atractiva desde el punto de vista de la apariencia aunque es poco estable porque necesita cierta cantidad de oxígeno y esto con el tiempo hace que se oxide, pasando así a metamioglobina. Dado que la oxidación de la mioglobina es un proceso químico y la reducción de metamioglobina es un proceso enzimático, al prolongarse el tiempo de conservación de la carne después del sacrificio la actividad enzimática es cada vez más reducida y por tanto la tendencia al acumulo de metamioglobina es superior, por lo que la carne tiene tendencia a oscurecerse y tener coloraciones indeseables con el paso del tiempo (Carmona y Soares, 2003). Este efecto de oscurecimiento citado anteriormente, está potenciado por los fenómenos de deshidratación en la superficie de los productos congelados, que concentra los pigmentos, originando la formación de coloraciones más oscuras (Carballo y Jiménez, 2003).

### Variación de pH:

Otro factor de interés que puede verse modificado durante el almacenamiento en congelación es el pH, el cual, a su vez, afectará a otros parámetros dependientes. Hay una cierta discrepancia entre las opiniones de distintos autores sobre el comportamiento de este parámetro en la congelación. Por una parte algunos autores hablan de un incremento de pH durante la congelación debido a la degradación de proteínas de la carne por enzimas endógenas y microorganismos, que hacen que se libere amoniaco, aminas y sulfuros orgánicos que provocan el incremento del pH (Devine *et al.*, 1995). En controversia a esto, otros autores observaron una disminución de pH durante la conservación en congelación, explicado por las pérdidas de agua que se producen durante el almacenamiento que provocan un aumento en la concentración de solutos y a su vez de hidrogeniones, lo que daría una disminución de pH (Leygonie *et al.*, 2011).

Durante la conservación de la carne congelada tiene lugar también otros procesos con efectos importantes en su calidad. Entre ellos, fenómenos de sublimación, que dan lugar a las llamadas quemaduras por congelación (desecación superficial), de recristalización (responsables de cambios de textura y aumento del líquido exudado en la descongelación), y de desnaturalización de las proteínas (pérdida de sus propiedades funcionales, lo que conlleva una mayor dureza y mayor exudado en la descongelación). (Hernández Díaz-Ambrona, 2004)

En resumen, la importancia de la cuantificación de estos parámetros para las empresas radica en la estimación de un tiempo máximo orientativo de mantenimiento en congelación de sus productos, sin que desde el punto de vista de calidad dejen de ser aceptables. En ciertas ocasiones esto puede ser interesante, como por ejemplo una baja cotización del producto en un determinado periodo de tiempo y por lo tanto el interés de mantenerlo almacenado en congelación hasta que su precio o demanda vuelva a aumentar.

## 2. OBJETIVOS:

Por todo ello, el objetivo final de este estudio fue evaluar el efecto de diferentes fuentes de grasa adicionada al pienso en distintos porcentajes de inclusión (grasa animal, aceite de soja y jabón cálcico de aceite de palma) comparadas con una dieta control (sin grasa adicionada) junto con el efecto de la congelación sobre los parámetros físico-químicos y el perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular de carne de cerdo.

### 3. MATERIAL Y MÉTODOS

Para este estudio se han utilizado muestras de *M. Logissimus dorsi* de cerdo provenientes de otro estudio anterior, envasadas a vacío y congeladas a -20°C.

Sobre estos mismos animales ya se realizó un estudio a día cero (Alonso.V *et al.*, 2012), midiendo también diversos parámetros de calidad, a los cuales nos remitiremos para hacer las comparaciones a lo largo del tiempo. Estudios que explicaban la posibilidad de producir carne de cerdo más sana por el cambio de la composición de ácidos grasos de la grasa intramuscular, la cual satisfaría las expectativas de los consumidores de un producto saludable.

El primer experimento se realizó con 43 cerdos machos enteros resultantes del cruce de Pietrain como línea padre y Landrace x Large White como línea madre. En el comienzo del experimento todos los cerdos fueron alimentados con la misma dieta estándar (dieta control) y la mantuvieron durante 44 días. Después, los cerdos se asignaron al alzar a uno de los siete grupos de dietas con grasas, cada uno formando ya una unidad experimental. Todas las dietas eran isoproteicas (17% proteína bruta) y los cerdos fueron alimentados *ad libitum* durante 64 días. Todas las dietas contenían las mismas proporciones de materias primas (granos de cebada, granos de trigo y harina de soja 44%), excepto la proporción de granos de maíz que era diferente según el porcentaje de grasa añadida (Tabla 2)( Dietas calculadas de forma teórica según las tablas FEDNA (2003)). Las siete dietas difieren en su fuente de grasa: 1) dieta control (sin grasa añadida); 2) grasa animal (mezcla de sebo y manteca que tenía un grado de acidez 3/5) al 1% (GA1); 3) grasa animal al 3% (GA3); 4) aceite de soja al 1% (AS1); 5) aceite de soja al 3% (AS3); 6) jabón cálcico de aceite de palma 1% (JCaAP1) (MAGNAPAC®, NOREL S.A., Madrid, España): saponificación de los aceites de palma con calcio; 7) jabón cálcico de aceite de palma 3% (JCaAP3). Todos los grupos se introdujeron en el periodo de crecimiento y se sacrificaron el mismo día. Todos ellos se sacrificaron en un matadero comercial con aturdimiento por CO<sub>2</sub> y con aproximadamente 83,8 ± 6,3 Kg de canal.

Por lo tanto, se obtuvieron los siguientes lotes de estudio:

- Lote CONTROL: Alimentado sólo con pienso control.
- Lote GRASA ANIMAL al 1%
- Lote GRASA ANIMAL al 3%
- Lote ACEITE DE SOJA al 1%
- Lote ACEITE DE SOJA al 3%
- Lote JABÓN CÁLCICO DE ACEITE DE PALMA al 1% (MAGNAPAC®)
- Lote JABÓN CÁLCICO DE ACEITE DE PALMA al 3% (MAGNAPAC®)

**Tabla 2.** Composición y contenido de nutrientes de la dieta control y las suplementadas en grasas.

	Control	GA 1%	GA 3%	AS 1%	AS 3%	JCaAP 1%	JCaAP 3%
<b>Materias primas (%)</b>							
Cebada Cervecería	36,00	36,00	36,00	36,00	36,00	36,00	36,00
Maíz Nacional	26,00	25,00	23,00	25,00	23,00	25,00	23,00
Trigo	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00
Harina de Soja 44% (CP)	20,60	20,60	20,60	20,60	20,60	20,60	20,60
Grasa Animal	--	1,00	3,00	--	--	--	--
Aceite de Soja	--	--	--	1,00	3,00	--	--
Jabón Cálcico de Aceite de Palma	--	--	--	--	--	1,00	3,00
Cloruro Sódico	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Carbonato Cálcico	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90
Fosfato Bicálcico	0,66	0,66	0,66	0,66	0,66	0,66	0,66
Lisina	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14
Mezcla de vitaminas y minerales	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
<b>Análisis Nutricional (%)</b>							
Materia Seca	88,74	88,86	89,11	88,86	89,11	88,81	88,96
Proteína Bruta	17,22	17,14	16,99	17,14	16,99	17,14	16,99
Grasa Bruta	2,23	3,18	5,09	3,18	5,09	3,03	4,64
Fibra Bruta	3,92	3,90	3,86	3,90	3,86	3,90	3,86
Cenizas	4,86	4,84	4,81	4,84	4,81	4,99	5,26
Lisina total	1,10	1,10	1,09	1,10	1,09	1,10	1,09
Energía Metabolizable (MJ/kg)	13,12	13,32	13,71	13,32	13,78	13,22	13,43

Control: sin suplemento de grasa; GA1: suplementado con 1% de grasa animal; GA3: suplementado con 3% de grasa animal; AS1: suplementado con 1% de aceite de soja; AS3: suplementado con 3% de aceite de soja; JCaAP1: suplementado con 1% de jabón cálcico de aceite de palma; JCaAP3: suplementado con 3% de jabón cálcico de aceite de palma.

Los productos utilizados en este experimento fueron los siguientes:

**MAGNAPAC®:** Es el producto resultante de la saponificación de los ácidos grasos libres del aceite de palma con el óxido de calcio. Su relación de ácidos grasos saturados e insaturados (50:50) le confieren una alta digestibilidad y permiten su uso en la fase de acabado de monogástricos. Su presentación sólida facilita su manejo y sus características termoplásticas permiten la inclusión de mayor porcentaje de grasa en la dieta sin perjudicar la calidad del pellet (Norel Animal Nutrition).

**ACEITE DE SOJA:** El aceite de soja es la grasa de origen vegetal de mayor disponibilidad en el mercado español. Procede de la industria del haba de soja tras la extracción y previo al refinado del aceite para consumo humano. El aceite de soja utilizado en la industria de piensos es muy rico en colina, fosfolípidos, antioxidantes y vitamina E, lo que favorece la digestibilidad y la conservación del aceite durante el almacenaje (FEDNA, 2003).

**GRASA ANIMAL:** Son grasas mezclas de origen animal, sebos y mantecas.

El músculo *Longissimus thoracis et lumborum* (LTL) se retiro de cada canal una vez pasadas 48 horas tras el sacrificio. Pasadas 24 horas a  $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$ , se partió el músculo LTL por la mitad y la porción más caudal se dividió en filetes de aproximadamente 2 cm para medir la oxidación lipídica, composición de ácidos grasos, pérdidas por goteo y otras medidas de color. El resto de muestras se envasaron al vacío y se congelaron en un arcón frigorífico a  $-20^{\circ}\text{C}$  durante dos años; y éstas son las muestras con las que hemos trabajado en el presente estudio.

En todas las pruebas realizadas partimos de filetes congelados envasados al vacío con un grosor de aproximadamente 2 cm, que descongelamos sumergiéndolos en agua fría y haciendo cambios de agua; para poder realizar varias pruebas que ahora detallaremos. Salvo en las determinaciones de pérdidas de agua que se explicarán en cada punto.

Las pruebas realizadas fueron las siguientes:

- Medición de pH por punción y homogenización
- Medida instrumental del color ( $L^*a^*b^*$ )
- Determinación de pérdidas de agua por descongelación
- Determinación de pérdidas de agua por goteo (Drip Loss)
- Determinación pérdidas de agua por compresión
- Determinación de pérdidas de agua por cocción
- Perfil de ácidos grasos en grasa intramuscular por cromatografía de gases
- Determinación del porcentaje de grasa intramuscular (GIM)
- Oxidación lipídica (TBARS)
- Oxidación proteica

A continuación se muestra un resumen de los principales análisis físico-químicos realizados en este trabajo de investigación:

### 3.1 Medición del pH

La medición del pH se realizó por dos métodos diferentes. Primero se midieron los valores de pH mediante un pH-metro con un electrodo de punción (Crison PH 25 (Crison instruments, Barcelona, España). Las medidas fueron realizadas por triplicado en los filetes que tenían un grosor de aproximadamente de 2 cm. Evitando realizar la punción en zonas con excesiva cantidad de grasa, petequias, zonas con quemaduras por frío o desecadas, y limpiando el pH-metro entre muestras.

El segundo método de medición utilizado fue una técnica de homogenización, para la que se usó un pH-metro (Crison phMeter Basic 20 (Crison instruments, Barcelona, España)) con un electrodo de homogeneización. Se picó una porción de filete en una picadora doméstica, eliminando previamente las zonas con excesiva grasa. Posteriormente, se pesaron 3 gramos en tubos de ensayo de plástico, se adicionó 30 ml de agua destilada y se homogeneizó mediante un Ultra-Turrax (Janke & Kunkel, Staufen, Alemania) (lavando el vástago entre muestras), procediéndose después a la medición del valor de pH. Las lecturas se realizaron por triplicado al igual que el método anterior.



*Medición de pH por punción*

### 3.2 Medida instrumental del color

El color fue medido en la superficie del filete mediante un espectrofotómetro de reflectancia (Minolta CM-2002; Osaka, Japón) una vez que estaba totalmente descongelado y expuesto al aire durante dos horas. Los parámetros medidos fueron:  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  (luminosidad, índice de rojo e índice amarillo, respectivamente); según CIE (Comisión Internacional d'Eclairage) (CIE, 1976). Se realizaron 10 mediciones en cada

filete y el valor final fue la media de todas ellas. Las mediciones se realizaron en las partes del filete más homogéneas, evitando las machas de sangre o porciones más grasas. Limpiando la lente del equipo entre muestras con algodón y etanol.



*Espectrofotómetro de reflectancia*

### **3.3 Capacidad de retención de agua (CRA)**

Dentro de este apartado se incluyen todos los métodos relacionados con la medida de la capacidad de retención de agua en la carne utilizados en este estudio. Para estas determinaciones se partió de la mitad craneal de lomos congelados y envasados al vacío, que se descongelaron en agua fría.

Tras hacer la primera determinación de pérdidas por descongelación de la pieza entera. Se fileteó el lomo en porciones de 2 cm de grosor aproximadamente. Utilizando los filetes de la zona más caudal para la prueba de pérdidas por goteo y los filetes de la zona más craneal para las pruebas de compresión y cocción.

#### **3.3.1 Pérdidas de agua por descongelación**

Se descongelaron los medios lomos envasados a vacío en agua fría y se realizó la medición del peso una vez eliminado el exudado, anotándose el peso. Los resultados se expresaron como porcentaje de pérdidas de agua, entre los valores anotados antes de la congelación (2 años atrás) y los valores finales.

### 3.3.2 Pérdidas por goteo (Drip Loss)

La técnica utilizada para medir las pérdidas por goteo está basada en el método de Honikel (1998). Los materiales necesarios en esta técnica fueron una balanza de precisión ( $\pm 0,05$ ) y recipientes planos de plástico de cierre hermético (tipo *tupperware*) de unas dimensiones próximas a  $24 \times 17 \times 7$  cm. En el fondo de estos recipientes se colocó unas rejillas de plástico que impidió que la carne estuviese en contacto con el exudado, y una cámara frigorífica que mantuviese una temperatura constante ( $3 \pm 1^\circ\text{C}$ ).

El procedimiento fue: cortar filetes de 2 cm de grosor del músculo *Longissimus dorsi* (medias piezas) recién descongelado, pesarlos y apuntar el valor. Posteriormente se colocó cada uno de los filetes en el envase sobre la rejilla de plástico y se cerró para evitar evaporaciones. A continuación, se mantuvo en refrigeración, realizando mediciones del peso a las 24 y 48 horas. Para ello, se sacaba el filete y se secaba suavemente sobre papel de filtro por la cara que había estado en contacto con la rejilla antes de realizar la medición. Se realizaron 2 réplicas por muestra, colocadas en la misma bandeja. Los resultados se expresaron como el porcentaje de pérdidas de agua entre el peso inicial y final del filete descongelado.



Bandejas utilizadas para las pérdidas por goteo

### 3.3.3 Determinación pérdidas de agua por compresión

La técnica utilizada es una modificación del método descrito por Grau y Hamm (1957). Utilizamos placas de metacrilato atornilladas de 12,5×7 cm, una báscula analítica y papel de filtro cortado en unas dimensiones aproximadas de 6,5×8,5 cm.

Partimos de un filete de un grosor de 2 cm. Cortamos trozos de carne íntegros de  $0,3 \pm 0,02$  gramos, y los colocamos sobre el papel de filtro pesado anteriormente. Anotando tanto el peso del papel como de la muestra por separado. Se colocó la muestra entre las dos placas de metacrilato ejerciendo una presión controlada y similar en todas, ajustando los tornillos adecuadamente. Transcurridos 5 minutos, se retiró con cuidado el papel mojado de la carne, para pesarlo de nuevo. Se realizarán 3 réplicas por cada muestra. Los resultados se expresaron como porcentaje de pérdidas de agua, entre la diferencia de peso del papel seco y mojado, haciendo referencia al peso inicial de la muestra.



Placas de metacrilato

### 3.3.4 Determinación de pérdidas de agua por cocción

La técnica utilizada es una modificación del método descrito por Lee *et al.* (1978).

Se partió de un filete de un grosor de 2 cm. Se cortaron trozos de carne íntegros de  $2 \pm 0,05$  gramos, y se introdujeron en tubos de ensayo dejando un espacio al fondo del tubo para acumular las pérdidas de agua sin que contactaran con la muestra. Se introdujeron en un baño de agua a 100°C durante 20 minutos. Transcurrido ese tiempo, se enfriaron los tubos en agua fría. A continuación, se sacaron los trozos de los

tubos, se secaron cuidadosamente sobre papel de filtro y se pesaron. Los resultados se expresaron como porcentaje de pérdidas de agua, entre la diferencia de peso en fresco y el peso cocinado.

### **3.4. Determinación del perfil de ácidos grasos y del contenido de grasa intramuscular**

#### **3.4.1. Cromatografía de gases para la determinación del perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular**

La cromatografía de gases para la determinación del perfil de ácidos grasos se basó en el método descrito por Bligh & Dyer (1959). Esta metodología se dividió en 3 fases diferentes: 1) Extracción de grasa, 2) Metilación y 3) Cromatografía de gases.

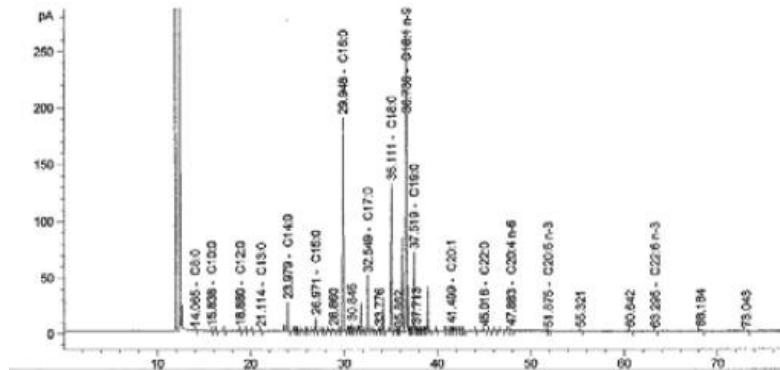
Para la extracción de la grasa del músculo se necesitaron 10 gramos picados de éste (sin grasa subcutánea, petequias, zonas con quemaduras por frío o desecadas) junto con 20 ml de cloroformo, 20 ml de metanol, 10 ml de cloruro potásico al 0,88 % y 4 ml de agua. Todo ello homogeneizado con un Ultra-Turrax (manteniendo la temperatura baja introduciendo los tubos en vasos de precipitados con hielo) y centrifugado a 4000 r.p.m. durante 10 minutos. Después de obtener la separación de fases mediante la centrifugación se pipeteó la fase inferior y se depositó en un vial de 30 ml previamente identificado junto con unas gotas de BHT de concentración 1 g de BHT/10 ml metanol. A continuación, se evaporó el cloroformo en atmósfera de nitrógeno sobre un baño de arena a 55°C.

Las muestras obtenidas, para poder ser introducidas en el cromatógrafo primero debieron ser metiladas. Para ello, en un vial de 5 ml se introdujo 0,03 g de grasa, 2 ml de hexano y 2 ml de solución saturada de hidróxido potásico en metanol. El vial se agitó, consiguiéndose una separación de fases, y se extrajo la fase superior depositándose en un vial de 2 ml previamente identificado con el código de la muestra.

Estos viales que contienen los ésteres metílicos de la grasa se introdujeron en un cromatógrafo de gases HP-6890 II (Hewlett-Packard, Waldbronn, Alemania), con una columna capilar SP-2380 (100 m x 0.25 mm x 0.20 µm), usando nitrógeno como gas portador. Se obtuvo un chromatograma de cada muestra analizada y se calcularon los porcentajes de los principales ácidos grasos.



Cromatografía de gases para la determinación del perfil de ácidos grasos.



Ejemplo de cromatograma

### 3.4.2. Determinación del porcentaje de grasa intramuscular (GIM)

Se realizó la extracción de la grasa mediante cloroformo-metanol según la metodología de Bligh y Dyer (1959). Para ello, se pipeteó un mililitro de cloroformo (con la grasa ya disuelta en él) en una cápsula de aluminio y se dejó evaporar en una estufa a 100°C. Posteriormente, se pesó la cápsula con la grasa en el interior y por diferencia de pesadas se halló la cantidad de grasa (resultados expresados en gramos de grasa/100 g de carne).



Balanza analítica utilizada para la determinación de la GIM

### 3.5 Medida de la oxidación lipídica

La medida de la oxidación lipídica se llevó a cabo por la determinación de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), de acuerdo con el método descrito por Pfalzgraf *et al.* (1995). Se homogeneizaron 10 g de músculo *Longissimus dorsi* con 20 ml de ácido tricloracético (TCA 10%) en tubos de plástico en un Ultra-Turrax unos 90 segundos a 20.000 r.p.m aproximadamente. Los tubos se centrifugaron durante 30 min a 4000 r.p.m a 10°C en una centrífuga refrigerada (Jouan CR 411, USA).

Después de la filtración, se tomaron 2 ml del homogeneizado en un tubo mezclado con 2 ml de una solución 20 mM de ácido tiobarbitúrico (TBA) recién preparada. Por cada muestra se prepararon dos tubos. Los tubos se homogeneizaron con un rotatablos durante 30 segundos y luego se incubaron a una temperatura de 97°C durante 20 minutos en un baño de agua termostático (Grant W14, Cambridge, UK). Previamente a la lectura de las absorbancias a 532 nm de las muestras en el espectrofotómetro (Unicam 5625 UV/VIS, Cambridge, UK), los tubos se enfriaron en agua hasta alcanzar la temperatura ambiente y el aparato se calibró mediante un blanco (2 ml de TBA + 2 ml de agua destilada).

Los resultados fueron calculados mediante una curva patrón usando 1,1,3,3 tetrametoxipropano (TMP). Se usó esta sustancia ya que el malonaldehído puede obtenerse por hidrólisis ácida del TMP en una reacción equimolecular. Las medidas fueron expresadas como sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS) en mg de malonaldehido/ kg de muestra.

### 3.6 Medida de la oxidación proteica

La medición de la oxidación proteica se basó en el método descrito por Oliver *et al.* (1987). Se partió de filetes descongelados, a los que se eliminó las zonas con excesiva grasa, petequias, zonas con quemaduras por frío o desecadas y se trituraron en una picadora doméstica.

Se pesó 1 g de la muestra picada con exactitud en tubos Falcon y se adicionaron con una pipeta 10 ml de 10 mM fosfato potásico ( $K_2HPO_4$ ) + 0.6 M NaCl. Posteriormente, se homogenizó en un Ultra-Turrax durante 30 segundos a 12000 r.p.m. Se prepararon 3 réplicas por cada muestra en tubos eppendorf de 2 ml, cada una de las réplicas constó de 2 eppendorf para determinar tanto carbonilos como proteína. Se adicionaron en todos ellos 0,1 ml de la muestra y 1 ml de TCA al 10% para precipitar las proteínas, y se centrifugaron durante 5 minutos a 5000 r.p.m. y a una temperatura de 4°C. Posteriormente se desechó con cuidado el sobrenadante.

A continuación, se adicionaron a los eppendorf donde se mediría la proteína 1 ml de 2 N HCl, y en los eppendorf donde se medirían los carbonilos 1 ml de 2 N HCl + DNPH. Se agitaron en un rotatubos y se dejaron en oscuridad durante 1 hora, agitándolos a periodos de 15 minutos. Tras la hora de reposo, se añadió 1 ml de TCA 10% a todos los eppendorf, se agitaron en un vortex y se centrifugaron 5 minutos a 5000 r.p.m. a 4°C.

Posteriormente, se eliminó el sobrenadante con cuidado utilizando pipetas Pasteur de vidrio y se añadió 1 ml de etanol:acetato de etilo (1:1 v/v), se agitó en un vortex y se centrifugó 5 minutos a 10000 r.p.m. a 4°C. Este paso fue repetido 3 veces hasta que se comprobó que el precipitado quedaba totalmente limpio. En el último lavado fue eliminado el sobrenadante y posteriormente evaporado hasta sequedad con nitrógeno. Para finalizar se añadió 1,5 ml de 6 M guanidina HCl 20 mM Fosfato potásico, y se agitó en vortex. Posteriormente se centrifugó durante 2 minutos a 5000 r.p.m. a 4°C.

La lectura se realizó en un espectrofotómetro a 280 nm en el caso de las proteínas, y a 370 nm para los carbonilos. La concentración de proteína se calculó interpolando en una recta patrón utilizando BSA (albumina sérica bovina) (2 mg/ml) en 6 M guanidina HCl, 20 mM fosfato sódico pH 6.5, como estándar y midiendo la absorbancia a 280 nm. La cantidad de carbonilos se expresó como nmoles de carbonilo por miligramo de proteína utilizando un coeficiente de adsorción de  $21.0 \text{ nM}^{-1} 1 \text{ cm}^{-1}$  a 370 nm.

### 3.7 Análisis estadístico

En este trabajo de investigación todos los datos han sido analizados estadísticamente mediante el modelo lineal general (GLM) del paquete estadístico SPSS, versión 19.0. El modelo utilizado incluyó los factores analizados como efectos principales y las interacciones entre ellos. Se aplicó el test de Duncan para comparar la media de los valores entre los tratamientos analizados y las diferencias se consideraron significativas si  $P \leq 0,05$ .

También se realizó un análisis de componentes principales (PCA) y un cálculo de los coeficientes de variación de Pearson para una mejor interpretación de los datos. El PCA fue realizado mediante el software estadístico XLSTAT (XLSTAT, 2004) y las correlaciones de Pearson con el software estadístico SPSS.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

Primero vamos a estudiar cómo afecta la modificación de la dieta de los cerdos mediante la inclusión en el pienso de diferentes fuentes de grasa y el tiempo de congelación sobre los parámetros de calidad. Y, posteriormente, veremos cómo afectan ambos factores sobre el perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular.

### 4.1. PARÁMETROS DE CALIDAD:

Para evaluar la calidad se pueden utilizar varios parámetros individuales como son el pH, el color o el contenido de grasa intramuscular (Šimek *et al.*, 2004). Concretamente, en este trabajo de investigación se han utilizado algunos parámetros relacionados con la calidad de la carne de cerdo, como son el pH, el color, la capacidad de retención de agua (CRA), la cantidad de grasa intramuscular (GIM), la oxidación lipídica y la oxidación proteica.

#### 4.1.1. Efecto de la dieta:

En este apartado se estudiará el efecto de la inclusión de distintas fuentes de grasa en el pienso de los cerdos y su efecto sobre los diferentes parámetros de calidad de la carne. Los datos con los que hemos trabajado son tanto los obtenidos a día cero como los obtenidos tras dos años de congelación, puesto que teníamos datos de luminosidad, índice de rojo, índice de amarillo, pH por punción, pérdidas de agua 24-48 h y oxidación lipídica (TBARS) de ambos puntos (*Tabla 3*). Sin embargo en algunos de los análisis solo contamos con datos tras congelación como son en la oxidación proteica, pH por homogenización, pérdidas de agua por descongelación, pérdidas de agua por cocción y pérdidas de agua por compresión (*Tabla 4*) y, por lo tanto, fueron analizados aparte.

El color es uno de los atributos más importantes para la calidad de la carne según el consumidor (Risvik, 1994). Por ello, hemos medido instrumentalmente los siguientes parámetros de color: L\*, a\*, b\* (luminosidad, índice de rojo e índice amarillo, respectivamente; CIE 1976) (*Tabla 3*). En el valor L\* encontramos diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre las distintas dietas, siendo la carne de los animales alimentados con AS1 la que tenía valores más bajos y la de los animales alimentados con GA1 los valores más altos. También hay diferencias significativas entre las dietas teniendo en cuenta el índice de rojo (a\*) ( $p \leq 0,01$ ) obteniendo los valores más bajos en la dieta con AS3, y los más altos en la dieta con AS1. Sin embargo, otros autores no han encontrado diferencias significativas en los valores de luminosidad e índice de rojo utilizando dietas similares (Teye *et al.*, 2006). Para el índice de amarillo (b\*) no se han

encontraron diferencias significativas al incluir en los piensos distintas fuentes de grasa, lo cual coincide con los resultados encontrados por otros autores (Corino *et al.*, 2002; Mitchaothai *et al.*, 2007),

Por otro lado, la medición del pH ha sido realizada tanto por punción (*Tabla 3*) como por homogenización (*Tabla 4*), sin encontrar por ninguno de los dos métodos diferencias significativas entre los animales de las distintas dietas estudiadas. En cuanto a la capacidad de retención de agua hemos utilizado varios métodos: Pérdidas de agua por goteo a las 24 y 48 horas (drip loss) (*Tabla 3*), pérdidas por descongelación, pérdidas por cocción y pérdidas por compresión (*Tabla 4*). Empezando por las pérdidas por goteo, se observan diferencias significativas ( $p \leq 0,01$ ) entre las dietas, siendo la carne de los animales alimentados con GA1, AS1 y JCaAP3 las que mayores pérdidas han presentado. En relación a las pérdidas por descongelación, cocción y compresión no se han encontrado diferencias significativas entre las distintas dietas (*Tabla 4*). Varios autores (Corino *et al.*, 2002; Mitchaothai *et al.*, 2007; Teye, Sheard, *et al.*, 2006) han observado el limitado efecto de inclusión de distintas fuentes de grasas sobre todos estos parámetros de calidad de la carne.

El estudio de la oxidación proteica es otro factor importante para determinar la calidad de la carne, ya que el grado de oxidación influye en diversos atributos como la capacidad de retención de agua, capacidad de emulsificación y otras propiedades funcionales de las proteínas (Xiong, 2001). En nuestro caso, no hemos encontrado diferencias significativas entre las distintas dietas en sus niveles de oxidación proteica, aunque se puede destacar que los animales alimentados con JCaAP presentaron los mayores valores con respecto al resto (*Tabla 4*).

**Tabla 3.** Efecto de la adición de distintas fuentes de grasa a la dieta y el tiempo de congelación sobre los parámetros de calidad de la carne de cerdo fresca (media y error estándar de la diferencia (SED)).

	Efecto de la dieta							Efecto de la congelación			SED	
	Control	GA1	GA3	AS1	AS3	AP1	AP3	Sign.	0	2 AÑOS	Sign.	
N	16	20	20	18	8	12	8		51	51		
Índice de Luminosidad	45,19ab	46,81b	46,38ab	43,49a	46,30ab	45,14ab	43,84ab	*	45,98b	44,85a	t (0,063)	0,02
Índice de Rojo	4,18ab	4,66abc	5,49bcd	6,21d	3,78a	5,91cd	5,53bcd	**	6,45b	3,89a	***	0,47
Índice de Amarillo	10,05	10,58	11,51	11,12	10,44	10,51	11,11	ns	12,55b	9,05a	***	0,22
pH por punción	5,64	5,53	5,56	5,58	5,63	5,63	5,62	ns	5,52a	5,66b	***	0,22
Pérdidas de agua 24 h (%)	2,64a	3,92b	3,5ab	3,94b	3,32ab	2,69a	3,94b	**	1,78a	5,12b	***	0,16
Pérdidas de agua 48 h (%)	3,38a	4,96b	4,5ab	4,95b	4,33ab	3,54a	4,94b	**	2,53a	6,27b	***	0,19

**Tabla 4.** Efecto de la dieta sobre los parámetros de calidad de la carne de cerdo fresca tras 2 años de congelación. (media y error estándar de la diferencia (SED)).

	Efecto de la dieta							SED	
	Control	GA1	GA3	AS1	AS3	AP1	AP3		
N	8	10	10	9	4	6	4		
Oxidación proteica	1,08	1,02	1,08	1,03	0,95	1,38	1,32	ns	0,07
pH homogenización	5,64	5,45	5,53	5,48	5,59	5,58	5,61	ns	0,04
Pérdidas por descongelación	3,15	4,49	4,02	3,98	3,86	3,61	2,79	ns	0,27
Pérdidas por cocción	34,63	34,41	34,48	33,32	34,19	34,99	32,86	ns	0,40
Pérdidas por compresión	44,08	41,49	41,61	41,79	40,79	40,81	41,84	ns	0,59

Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas entre las medias de los valores; ns =  $p>0,1$ ; t =  $p\leq0,1$ ; \* =  $p\leq0,05$ ; \*\* =  $p\leq0,01$ ; \*\*\* =  $p\leq0,001$ . GA1: grasa animal al 1%; GA3: grasa animal al 3%; AS1: aceite de soja al 1%, AS3: aceite de soja al 3%; JCaAP1: Jabón cálcico de aceite de palma al 1%; JCaAP3: Jabón cálcico aceite de palma al 3%; y SED: Error estándar de la diferencia.

#### 4.1.2. Efecto del tiempo de congelación:

El color tiene un papel importante en la apariencia y aceptabilidad de la carne de cerdo congelada. Generalmente, los cambios de color que se producen en el almacenamiento en congelación son debidos a oxidaciones de lípidos y/o procesos de degradación de pigmentos, en mayor parte de la mioglobina (Dias *et al.*, 1994). Los cambios que presentan los valores de L\*, a\* y b\* en nuestro caso se presentan en la *Tabla 3*, en la que podemos observar una tendencia ( $p<0,1$ ) a la disminución del valor de luminosidad bajando de un valor de 45,98 a 44,85. Estos resultados reflejan un oscurecimiento del producto con el paso del tiempo y coinciden a su vez con otros estudios (Jeremiash, 1982; Young-Chun *et al.*, 2002) en los que explican este descenso de la luminosidad basándose en la pérdida de agua y deshidrataciones superficiales, lo que hace que el filete refleje menos la luz (al igual que pasaría con las carnes DFD "dry, firm, dark" por su elevada CRA), y por la concentración de pigmentos derivado de estas pérdidas de agua. En el índice de rojo (a\*) encontramos diferencias significativas ( $p\leq0,001$ ) entre las muestras a día cero y las muestras tras 2 años de congelación, mostrando una disminución del valor con respecto al tiempo, al igual que ya citaban otros autores anteriormente (Xiufang Xia *et al.*, 2009). En los valores del índice de amarillo (b\*) de nuevo encontramos una disminución significativa ( $p\leq0,001$ ) del valor con respecto al tiempo, bajando desde 12,55 hasta 9,05.

Los valores de pH por punción mostrados en la *Tabla 3* son significativamente diferentes ( $p\leq0,001$ ) entre el día cero y a los dos años de congelación, aumentando su valor desde 5,52 hasta 5,66. Algunos autores coinciden con este incremento del valor de pH durante la congelación debido probablemente a la degradación de las proteínas de la carne por enzimas endógenas y microorganismos, que hacen que se libere amoniaco, aminas y sulfuros orgánicos que provocan el incremento del pH (Devine *et al.*, 1995).

Las pérdidas de agua que se pueden producir en la carne congelada tienen diversos orígenes: alteración de las proteínas y estructura celular o sublimación de los cristales de hielo. Todo ello concluye en una menor capacidad de retención de agua (CRA) y, por tanto, unas mayores pérdidas de agua/peso (Carballo y Jiménez, 2003). Para comparar las diferencias entre la capacidad de retención de agua de la carne sin congelar (día cero) y la carne congelada (dos años de congelación) hemos utilizado la técnica de pérdidas por goteo o *drip loss* medidas a las 24 y 48 horas (*Tabla 3*). Se han encontrado diferencias significativas ( $p \leq 0,001$ ) entre el día cero y la carne congelada tanto en las pérdidas a 24 como a las 48 horas. Pasando las pérdidas de 24 horas de un 1,78% a un 5,12%, y las de 48 horas de una 2,53% a un 6,27%.

La oxidación lipídica puede influir en las propiedades sensoriales y de conservación de la carne (Webb y O'Neill, 2008). Los valores de oxidación fueron medidos por el índice de oxidación lipídica (TBARS) y expresados en mg de

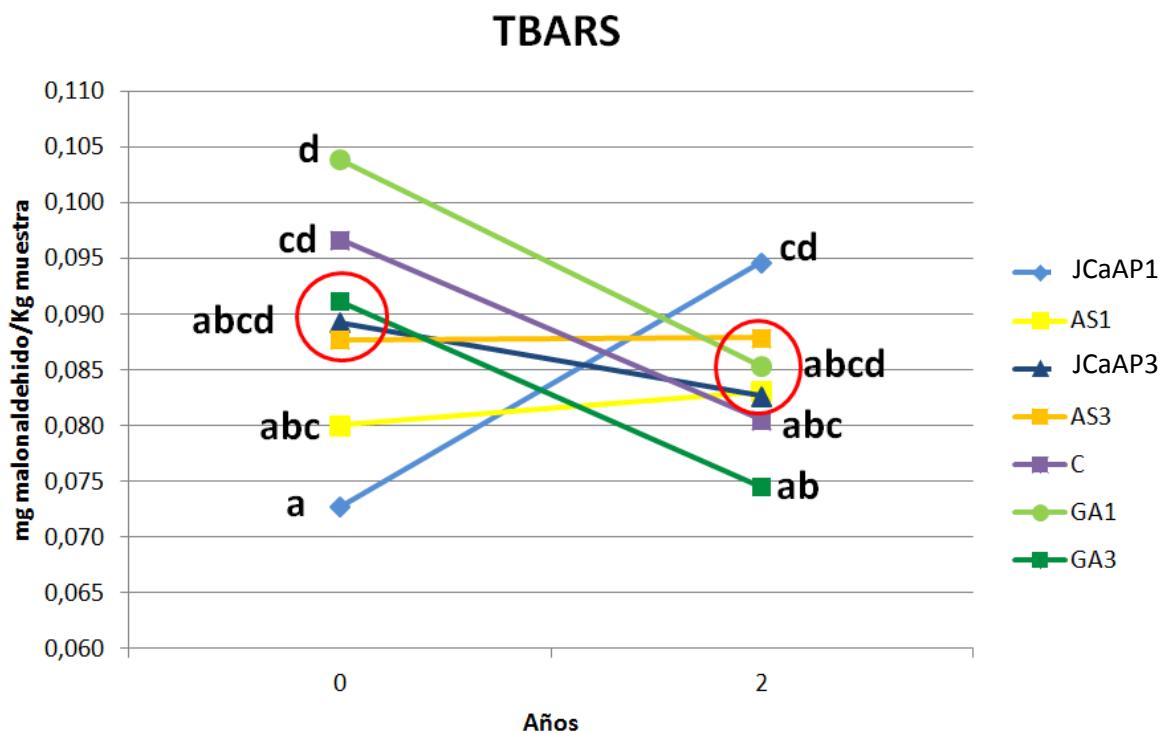
malonaldehido por kg de carne. Cuando analizamos los resultados obtenidos tanto antes como después de congelar nos encontramos con una interacción que se muestra representada en la *Figura 3*.

En ella podemos ver como a día cero encontramos diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre los animales alimentados con jabón cálcico de aceite de palma al 1% y los animales alimentados con la dieta control y la de grasa animal al 1%, obteniendo estos dos últimos los niveles más altos de oxidación. El bajo valor de oxidación obtenido en la dieta con JCaAP1 puede ser debido a que la composición de esta grasa es la más rica en ácidos grasos saturados, en comparación con el resto de grasas estudiadas (FEDNA), y por lo tanto su susceptibilidad a la oxidación será menor. Por el contrario, habría que reseñar que el aceite de soja cuenta con un mayor contenido en ácidos grasos poliinsaturados, lo que haría esperable una mayor oxidación en la carne procedente de animales suplementados con este aceite. En este caso no se ha encontrado un nivel de oxidación mayor en estas grasas, posiblemente debido a la composición de estas, rica en colina, fosfolípidos, antioxidantes y vitamina E, que reducen los niveles de oxidación.

Si observamos los datos obtenidos tras dos años de congelación podemos ver que no hay diferencias significativas entre los animales alimentados con las distintas dietas. Se ha producido una homogenización en los valores de oxidación con el paso del tiempo dando lugar a unos niveles de oxidación similares. Esto puede ser debido a que se produce una pérdida de los metabolitos cuantificables por esta técnica.

La única diferencia significativa ( $p \leq 0,05$ ) en los valores de oxidación, en una dieta con el paso del tiempo en congelación es la que se produce en la dieta con jabón cálcico de aceite de palma al 1%, en la que se percibe un ligero aumento.

Valores de oxidación por debajo de 0,2 mg de malonaldehído/kg es un indicativo de que no existen problemas de rancidez.



**Figura 3.** Gráfico que muestra la interacción existente entre el efecto dieta y el tiempo de congelación sobre los valores de oxidación lipídica (TBARS) en la carne de cerdo.

Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas entre las medias de los valores; ns =  $p>0,1$ ; t =  $p\leq0,1$ ; \* =  $p\leq0,05$ ; \*\* =  $p\leq0,01$ ; \*\*\* =  $p\leq0,001$ . GA1: grasa animal al 1%; GA3: grasa animal al 3%; AS1: aceite de soja al 1%; AS3: aceite de soja al 3%; JCaAP1: Jabón cálcico de aceite de palma al 1%; JCaAP3: Jabón cálcico aceite de palma al 3%; y SED: Error estándar de la diferencia.

#### 4.2. PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS:

##### 4.2.1. Efecto de la dieta:

La composición en ácidos grasos de la carne de cerdo está determinada por factores genéticos como por ejemplo la raza, el sexo y el genotipo, y por factores ambientales de los cuales la dieta es el más importante (Averette *et al.*, 2002; De Smet *et al.*, 2004; Raes *et al.*, 2004). En este trabajo de investigación se ha estudiado el efecto que tiene la inclusión de distintas fuentes de grasa en la dieta sobre el contenido y el perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular.

El interés del perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular está justificado por la imposibilidad de separar este tipo de grasa de la carne y el impacto que ésta tiene sobre la salud humana (De Smet *et al.*, 2004), y por tanto, es importante conocer tanto su cantidad como su perfil de ácidos grasos. Tanto la grasa como los ácidos grasos del tejido adiposo y muscular contribuyen de una manera importante en varios aspectos de la calidad de la carne, y son fundamentales en su valor nutricional (Wood *et al.*, 2008). Además, el contenido de grasa intramuscular tiene una gran importancia puesto

que ha sido relacionado de manera positiva con otros atributos como son la jugosidad, ternura y sabor (Wood, 1993).

Al analizar los resultados expresados en la *Tabla 5* podemos observar que el contenido de grasa intramuscular fue significativamente mayor ( $p \leq 0,05$ ) en los cerdos alimentados con GA3 que en los cerdos alimentados con AS1, mientras que entre las dietas control, GA1, AS3, JCaAP1 y JCaAP3 no encontramos diferencias significativas. La gran mayoría de investigaciones previas no han logrado detectar diferencias a nivel de la grasa intramuscular entre dietas con aceite de soja y dietas con aceite de palma (Olivares *et al.*, 2009; Teye, Sheard, *et al.*, 2006), o con dietas con grasa animal (Morel *et al.*, 2006; Morgan *et al.*, 1992). En nuestro estudio, la dieta con GA3 tenía una elevado porcentaje de grasa en el pienso, y por lo tanto, la cantidad de energía disponible para la deposición de grasa sería mayor, dando como resultado un mayor contenido de grasa intramuscular, de acuerdo con los estudios realizados por otros autores (Bee *et al.*, 2002).

Si comparamos de forma individual los distintos ácidos grasos encontramos diferencias significativas entre las distintas dietas (*Tabla 5*). Dentro de los ácidos grasos saturados, tanto el ácido palmítico (C16:0) como el esteárico (C18:0) presentaron diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) siendo la dieta con AS3 la que presentó los menores porcentajes. En relación al sumatorio de AGS, de nuevo la dieta con AS3 tuvo el menor porcentaje, mientras que las dietas control, GA1 y GA3 fue el mayor. Otros autores (Apple *et al.*, 2009) también han encontrado diferencias significativas entre la dieta control y los animales alimentados con la dieta de aceite de soja al 3%. Sin embargo, varios estudios no han podido detectar diferencias significativas en el porcentaje total de AGS entre las dietas con aceite de soja y grasa animal (Apple *et al.*, 2009; Morel *et al.*, 2006; Morgan *et al.*, 1992) o con dietas con aceite de palma (Olivares *et al.*, 2009).

Las dieta con aceite de soja al 1 % es la que obtuvo una menor proporción de ácido palmitoleico (C16:1 n-9) ( $p \leq 0,001$ ) comparado con las dietas suplementadas en grasa animal. Esta dieta también obtuvo el porcentaje más bajo en el sumatorio de los ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) ( $p \leq 0,01$ ) y en C18:1 ( $p \leq 0,05$ ), con diferencias significativas respecto a las dietas control, grasa animal 1 y 3% y JCaAP1. Por otro lado, la carne de cerdo de los animales alimentados con AS1 y AS3 presentaron los porcentajes más altos en el sumatorio de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) ( $p \leq 0,001$ ). Más específicamente, los cerdos alimentados con AS1 y AS3 presentaron los niveles más altos en el sumatorio de los ácidos grasos poliinsaturados n-6 ( $p \leq 0,001$ ) incluyendo entre ellos el ácido linoleico (C18:2) ( $p \leq 0,001$ ). El sumatorio de los AGPI n-3 también fue significativamente mayor en las dietas con AS1 y AS3 ( $p \leq 0,001$ ), incluyendo el ácido α-linolénico (C18:3) ( $p \leq 0,001$ ). Se ha demostrado en repetidas ocasiones que las dietas para cerdos enriquecidas en aceite de soja reducen el porcentaje del ácido oleico y el sumatorio total de ácidos grasos monoinsaturados y

aumentan la proporción de ácidos grasos poliinsaturados en comparación con dietas enriquecidas con grasa animal (Apple, Maxwell, Galloway, Hutchison, *et al.*, 2009; Bee *et al.*, 2002; Monahan *et al.*, 1992) o aceite de palma (Olivares. *et al.*, 2009) o con dietas control (Apple, Maxwell, Galloway, Hutchison, *et al.*, 2009).

Como acabamos de observar los cerdos alimentados con aceite de soja mostraron los menores porcentajes de AGMI y los mayores de AGPI. Es ampliamente conocido que las dietas ricas en AGPI de la familia *n*-6 pueden inhibir la actividad de la enzima  $\Delta^9$ -estearoil-CoA desaturasa (SCD) (Kouba & Mourot, 1998), la cual cataliza la síntesis de AGMI (principalmente C16:1*n*-9 y C18:1*n*-9) a partir de AGS (C16:0 y C18:0) (Enoch *et al.*, 1976). Esta inhibición asociada al incremento de C18:2 *n*-6 en las dietas con aceite de soja podría explicar la menor concentración de AGMI en la carne de los cerdos alimentados con aceite de soja.

Los ratios relacionados con la salud humana se encuentran en la *Tabla 5*. Las recomendaciones nutricionales para una dieta saludable establecen que la proporción de AGPI/AGS debería ser menor que 0,4 y la ingesta de AGPI *n*-3 se debería aumentar en relación a los AGPI *n*-6 (Departamento de Sanidad, 1994). Las dietas con aceite de soja tenían los ratios más altos ( $p \leq 0,001$ ) del índice AGPI/AGS (0,047 para AS1 y 0,048 para AS3), por lo que se considera que es la carne producida con mejor valor nutritivo para el ser humano. Este resultado estuvo de acuerdo con Apple, Maxwell, Galloway, Hutchison, *et al.* (2009) y Morel *et al.* (2006), quienes encontraron que la carne de cerdo procedente de las dietas de AS tenía mayores ratios AGPI/AGS en comparación con el resto de las dietas. Por otro lado, la relación *n*-6/*n*-3, fue significativamente mayor ( $p \leq 0,001$ ) en los animales con dietas suplementadas con JCaAP. Se ha recomendado un valor máximo de 4,0 en la ingesta para el índice *n*-6/*n*-3, ya que es un factor de riesgo en la cardiopatía coronaria (Departamento de Sanidad, 1994). El cerdo se caracteriza por tener unos niveles altos de C18:2 *n*-6, debido a una dieta a base de cereales, lo que hace que la relación de ácidos grasos poliinsaturados *n*-6/*n*-3 se incremente; siendo indeseable para la salud humana (Wood *et al.*, 2003).

**Tabla 5.** Efecto de la adición de distintas fuentes de grasa a la dieta y el tiempo congelación sobre el perfil de ácidos grasos de la GIM. (media y error estándar de la diferencia (SED)).

	Efecto de la dieta							Efecto de la congelación				
	Control	GA1	GA3	AS1	AS3	AP1	AP3	Sign.	0	2 AÑOS	Sign.	SED
<b>N</b>	<b>16</b>	<b>20</b>	<b>20</b>	<b>18</b>	<b>8</b>	<b>12</b>	<b>8</b>		<b>51</b>	<b>51</b>		
<b>Grasa intramuscular</b>	2,73ab	2,52ab	3,00b	2,24a	2,41ab	2,36ab	2,4ab	*	2,16a	2,96b	***	0,10
<b>C12:0</b>	0,07ab	0,07a	0,07b	0,06a	0,07a	0,07a	0,07a	***	0,07a	0,07b	***	0,00
<b>C14:0</b>	1,21bc	1,18abc	1,28b	1,09a	1,08a	1,15ab	1,12ab	***	1,1a	1,24b	***	0,02
<b>C16:0</b>	23,24b	23,18b	23,33b	22,64ab	22,44a	23,31b	22,97ab	*	22,65a	23,47b	***	0,12
<b>C16:1</b>	3,32abc	3,38bc	3,6c	2,96a	3,13ab	3,3abc	3,13ab	***	3,28	3,30	ns	0,06
<b>C18:0</b>	11,46c	10,62ab	10,65ab	11,01bc	10,3a	10,47ab	10,78ab	**	10,45a	11,14b	***	0,11
<b>C18:1 n-9</b>	41,47b	40,87b	41,03b	38,81a	39,87ab	40,86b	40,17ab	*	39,79a	41,21b	**	0,31
<b>C18:1 n-7</b>	4,4b	4,51b	4,48b	4,12a	4,1a	4,46b	4,02a	***	4,40	4,28	ns	0,05
<b>C18:2 n-6</b>	8,58a	9,45ab	9,5ab	12,3b	12,63b	9,8ab	11,00bc	***	10,79b	9,68a	*	0,28
<b>C18:3 n-6</b>	0,08ab	0,09b	0,07a	0,08ab	0,08ab	0,08ab	0,09b	*	0,09b	0,07a	***	0,00
<b>C20:1</b>	0,76b	0,75b	0,76b	0,67a	0,67a	0,78b	0,64a	***	0,72	0,74	ns	0,00
<b>C18:3 n-3</b>	0,33a	0,35ab	0,39b	0,47c	0,71d	0,36ab	0,38ab	***	0,43b	0,39a	**	0,01
<b>C20:2 n-6</b>	0,31a	0,32a	0,33a	0,39b	0,44c	0,34a	0,33a	***	0,35	0,35	ns	0,01
<b>C20:2 n-3</b>	0,09bc	0,11c	0,08b	0,1bc	0,06a	0,09bc	0,1bc	***	0,11b	0,08a	***	0,00
<b>C20:3 n-6</b>	0,3ab	0,3ab	0,26ab	0,32b	0,24a	0,32b	0,3ab	*	0,34b	0,25a	***	0,01
<b>C20:3 n-3</b>	0,06a	0,07a	0,07a	0,08b	0,11c	0,06a	0,06a	***	0,07	0,07	ns	0,00
<b>C20:4 n-6</b>	1,74a	2a	1,57a	2,24b	1,73a	2,01a	2,17b	*	2,23b	1,59a	***	0,09
<b>C20:5 n-3</b>	0,1ab	0,11ab	0,09a	0,13b	0,11ab	0,1ab	0,12ab	t (0,064)	0,13b	0,09a	***	0,00
<b>C22:5 n-3</b>	0,3a	0,32ab	0,28a	0,4b	0,32ab	0,31a	0,35ab	*	0,39b	0,27a	***	0,01
<b>C22:6 n-3</b>	0,12b	0,13b	0,12ab	0,15b	0,09a	0,13b	0,15b	**	0,15b	0,1a	***	0,01
<b>Σ AG Sat</b>	36,76b	35,88b	36,08b	35,53ab	34,59a	35,73ab	35,7ab	*	35,03a	36,69b	***	0,20
<b>Σ AG MII</b>	50,49b	50,1b	50,5b	47,01a	48,21ab	49,9b	48,46ab	**	48,72a	50,07b	*	0,38
<b>Σ AG PI</b>	12,05a	13,28ab	12,79ab	16,69c	16,56c	13,63ab	15,07bc	***	15,1b	12,97a	***	0,40
<b>Σ N-3</b>	1a	1,09a	1,03a	1,33b	1,41b	1,06a	1,15a	***	1,27b	0,99a	***	0,03
<b>Σ N-6</b>	11,04a	12,18ab	11,75ab	15,35c	15,14c	12,56ab	13,9bc	***	13,81b	11,96a	**	0,37
<b>Σ AG PI/Σ AG Sat</b>	0,33a	0,37ab	0,36ab	0,47c	0,48c	0,38ab	0,43bc	***	0,43b	0,36a	***	0,01
<b>Σ N-6/Σ N-3</b>	11,12ab	11,33bc	11,51bc	11,57c	10,76a	11,96d	12,11d	***	10,82a	12,11b	***	0,07

Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas entre las medias de los valores; ns = p>0,1; t = p≤0,1; \* = p≤0,05; \*\* = p≤0,01; \*\*\* = p≤0,001. GA1: grasa animal al 1%; GA3: grasa animal al 3%; AS1: aceite de soja al 1%, AS3: aceite de soja al 3%; JCaAP1: Jabón cálcico de aceite de palma al 1%; JCaAP3: Jabón cálcico aceite de palma al 3%; y SED: Error estándar de la diferencia

#### 4.2.2.Efecto de la congelación:

En este apartado estudiaremos cómo afecta la congelación sobre el perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular.

Los resultados se muestran en la *Tabla 5*, comparando los animales a día cero, con los mismos animales tras los 2 años de almacenamiento en congelación. El porcentaje de grasa intramuscular ha tenido un aumento significativo ( $p \leq 0,001$ ) tras la congelación, posiblemente debido a la concentración de la grasa al aumentar las pérdidas de agua que ocurren tras la descongelación. También observamos como todos los ácidos grasos saturados aumentan de manera significativa ( $p \leq 0,001$ ), en los que podemos resaltar el ácido palmítico (C16:0) y el esteárico (C18:0) como los más representativos. Lo que provoca que el sumatorio de ácidos grasos saturados como era de esperar, aumente de forma significativa ( $p \leq 0,001$ ). En los ácidos grasos monoinsaturados solo se encuentran diferencias significativas en el ácido oleico (C18:1 n-9) ( $p \leq 0,01$ ), lo que provoca que también encontramos diferencias significativas en el sumatorio total de AGMI ( $p \leq 0,05$ ), aumentando su valor en ambos casos. Por último, si hablamos del porcentaje de los ácidos grasos poliinsaturados nos encontramos con diferencias significativas entre las muestras a día cero y a los dos años de congelación, entre ellos los más representativos son: el acido linoleico (C18:2 n-6) ( $p \leq 0,05$ ), el ácido α-linolénico (C18:3 n-3) ( $p \leq 0,01$ ); y los ácidos grasos de cadena larga: araquidónico (C20:4 n-6), eicosapentaenoico (C20:5 n-3) y decosahexaenoico (C22:6 n-3) ( $p \leq 0,001$ ). Lo que consigue que en el sumatorio de ácidos grasos poliinsaturados totales haya un descenso significativo ( $p \leq 0,001$ ) a los dos años de congelación, esto puede ser debido a que los AGPI se oxidan dando lugar a otras moléculas residuales que no cuantificamos en la cromatografía, por tanto los niveles totales disminuyen. Todos estos cambios son debidos a que las pérdidas por oxidación de los AGPI provocan un desajuste en los porcentajes totales de los AGS y AGMI, originando un aumento relativo de éstos.

En el sumatorio de los AGPI n-3 se puede ver un descenso ( $p \leq 0,001$ ) al igual que en el sumatorio de los AGPI n-6, lo cual era de esperar al ver los descensos de todos ellos por separado. Sin embargo, la relación n-6/n-3 sufre un aumento ( $p \leq 0,001$ ) probablemente debido a que los n-3 son más fácilmente oxidables (López Bote *et al.*, 1997) y su descenso es mucho mayor que los n-6, haciendo así que el cociente de los valores se eleve porque aunque ambos disminuyen, siempre lo hará en mayor medida n-3. El valor final del índice n-6/n-3 es de 12,11, lo que se aleja todavía más del valor recomendado por el Departamento de Sanidad en 1994, que indica que la relación n-6/n-3 debe tener un valor próximo a 4.0, obteniendo pues un producto menos saludable nutricionalmente tras el proceso de congelación. En relación al otro ratio que hemos estudiado (AGPI/AGS), se observa un descenso significativo ( $p \leq 0,001$ ) de

0,43 hasta 0,36, disminuyendo por debajo de 0,4 y alejándose de los valores recomendados para la salud.

#### 4.3. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES (PCA) PARA LOS PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS Y EL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE LA GRASA INTRAMUSCULAR DE LA CARNE DE CERDO ANTES Y TRAS DOS AÑOS DE CONGELACIÓN

##### 4.3.1. Efecto de la inclusión de distintas fuentes de grasa en la dieta y del tiempo de congelación sobre la calidad de la carne de cerdo

En la figura 4 se representan los dos primeros ejes del análisis de componentes principales que explican el 80,04 % de la variabilidad total del estudio. El primero de los componentes principales (62,67 %) está caracterizado por los ácidos grasos poliinsaturados (C18:2 n-6, C20:4 n-6, C20:5 n-3, C22:5 n-3, C22:6 n-3), sus sumatorios (n-3, n-6 y AGPI) y uno de los índices con los que están relacionados, AGPI/AGS, junto con los parámetros de color a\* y b\*. En el lado opuesto encontramos los ácidos grasos saturados (C16:0 y C18:0) y monoinsaturados (C18:1 n-9), así como sus sumatorios (AGS y AGMI) y el porcentaje de grasa intramuscular. También encontramos el índice n-6/n-3 y varios parámetros de calidad como son: pH por punción, y las pérdidas por goteo a 24 y 48 horas. En resumen, el perfil de ácidos grasos, el porcentaje de grasa intramuscular y algunos parámetros de calidad (a\*, b\*, pH por punción y pérdidas por goteo a 24 y 48 horas) parecen que explican un gran porcentaje de las diferencias entre los animales del estudio que hemos realizado y reflejan la importancia de éstos en la calidad de la carne. El segundo de los ejes explica el 17,37 % y está caracterizado principalmente por la oxidación lipídica (TBARS), L\* y el C16:1 n-9

El porcentaje de GIM estuvo correlacionado positivamente con los principales ácidos grasos saturados C16:0 (0,70), C18:0 (0,31), al igual que con su sumatorio (0,59) ( $p = 0,001$ ). A su vez también se correlacionó positivamente con los ácidos grasos monoinsaturados, entre ellos el C16:1 n-9 (0,55), C18:1 n-9 (0,63) y con su sumatorio (0,62) ( $p = 0,001$ ). Por el contrario, el porcentaje de grasa intramuscular se correlacionó negativamente con los principales ácidos grasos poliinsaturados C18:2 n-6 (-0,66), C18:3 n-3 (-0,27), C20:4 n-6 (-0,83), C20:5 n-3 (-0,81), C22:5 n-3 (-0,82), C22:6 n-3 (-0,75), y con su sumatorio (-0,74); todos ellos con un nivel de significación de  $p \leq 0,005$ . Generalmente, los porcentajes de AGS y AGMI se incrementan conforme aumenta el contenido de GIM, mientras que el porcentaje de AGPI desciende (De Semet *et al.*, 2004). Esto se explica debido a que los lípidos de los músculos están compuestos principalmente por fosfolípidos, que forman parte de las membranas celulares, y por triglicéridos, que se encuentran en los adipocitos que están localizados a lo largo de las fibras musculares. El contenido de fosfolípidos es independiente de la cantidad de grasa y se mantiene bastante constante, en cambio, el contenido de

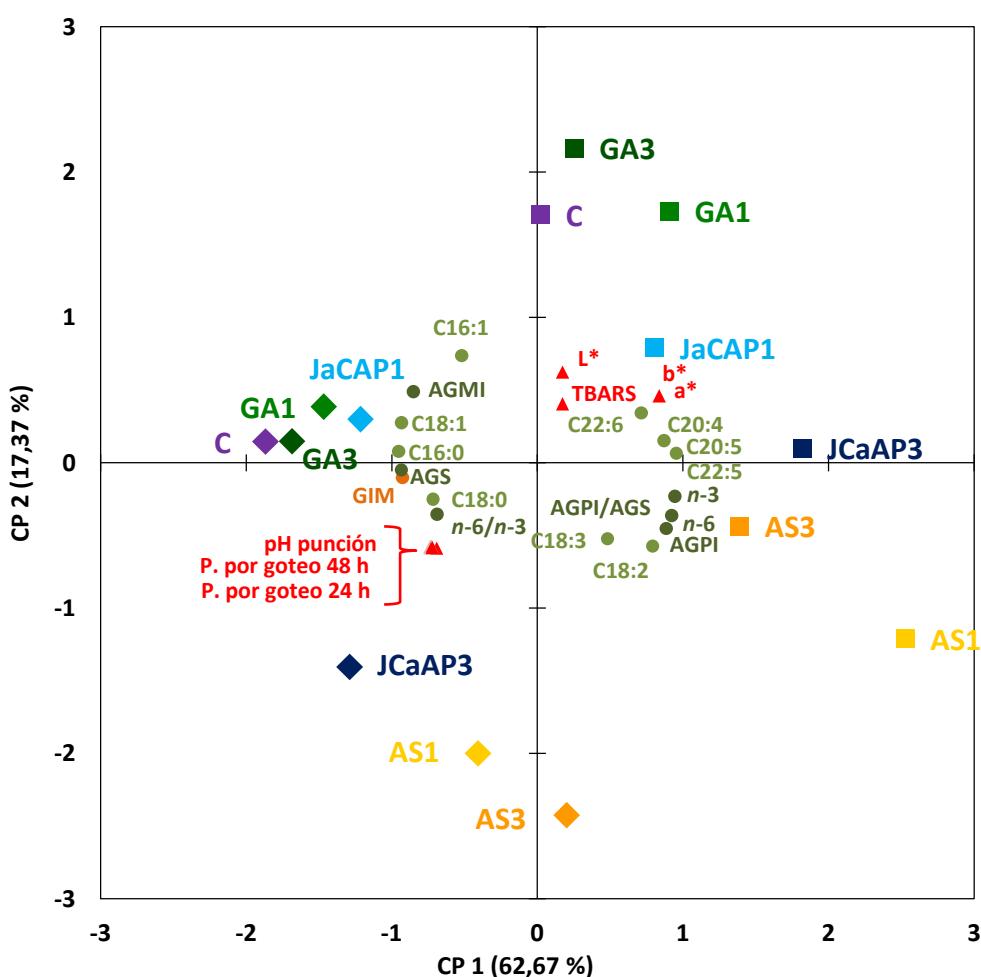
triglicéridos está fuertemente relacionado con la grasa total y es más variable (Fernández *et al.*, 1999). Los fosfolípidos son componentes de membrana ricos en AGPI y estrictamente controlados mientras que los triglicéridos tienen mayores cantidades de AGS y AGMI. Aunque el contenido de AGPI de los triglicéridos puede ser influenciado por la dieta, este efecto es diluido por la síntesis de ácidos grasos *de novo* (consistente en AGS y AGMI) conforme aumenta la deposición de grasa en el animal, y por tanto, causando un descenso de la relación AGPI/AGS.

También hay que señalar la correlación negativa que hay entre la GIM y el índice de rojo ( $a^*$ ) (-0,34) ( $p = 0,001$ ), probablemente debido a que el mayor veteado graso del filete provoca que la medición no sea del todo precisa al contar con una superficie muscular menor en comparación a un filete con menos grasa intramuscular. Por el contrario, encontramos una correlación positiva entre la GIM y la  $L^*$  (0,20) ( $p = 0,041$ ), al igual que otros autores (Carrapiso y García, 2005; Oliver *et al.*, 1993) describen que la carne con mayor contenido de GIM se asociaba a un valor  $L^*$  más elevado. Esto probablemente se deba a la mayor cantidad de grasa en el filete, que hace que éste tenga una mayor superficie con un color blanco-amarillento debido al veteado de grasa, y que es difícil de evitar cuando se mide el color en la superficie.

La oxidación lipídica se correlaciona negativamente con los ácidos grasos saturados C16:0 (-0,29) y C18:0 (-0,29), al igual que con su sumatorio (-0,34) ( $p \leq 0,003$ ). El índice de oxidación lipídica también se correlaciona negativamente con la relación  $n-6/n-3$  (-0,21) ( $p = 0,033$ ). Es bien conocido que la oxidación en la carne de cerdo depende de la composición de ácidos grasos de los lípidos y es iniciada en los fosfolípidos de las membranas celulares (microsomas y mitocondrias) (Gray y Pearson, 1987). Algunos trabajos indican que los ácidos grasos *n*-3 son particularmente susceptibles a la oxidación, e incluso pequeños incrementos en la concentración de estos ácidos en la fracción polar (fosfolípidos) de la grasa podrían ser de crítica importancia en el desarrollo de la oxidación (López-Bote *et al.*, 1997). Por lo tanto, si hay diferencias en el índice  $n-6/n-3$  de la dieta, éstas se reflejarían en la relación  $n-6/n-3$  de las membranas (López-Bote *et al.*, 1999). De acuerdo con todo esto, se esperaría una mayor oxidación lipídica cuando la relación  $n-6/n-3$  fuera inferior.

Por último, en la figura se muestra también la proyección gráfica de las observaciones de las siete dietas estudiadas (antes y después de congelar) en el plano definido por los dos primeros componentes principales. En el cuadrante superior derecho encontramos las dietas Control, GA1, GA3 y JCaAP1 antes de congelar, todas ellas relacionadas con las coordenadas de color ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) y la oxidación lipídica; mientras que estas mismas dietas pero tras la congelación, las encontramos en el cuadrante superior izquierdo y se relacionan principalmente con los AGS, AGMI y sus principales representantes y el porcentaje de GIM. En el cuadrante inferior izquierdo podemos ver las dietas con JCaAP3 y AS1 tras la congelación, que se relacionan con los parámetros de pérdidas

por goteo (24 y 48 horas) y con el pH por punción. La dieta con AS1 además tienen una cierta tendencia hacia los AGPI, sus principales representantes, los sumatorios *n*-6 y *n*-3, y los índices AGPI/AGS y *n*-6/*n*-3. Por último en el cuadrante inferior derecho encontramos AS3 tras la congelación, muy cerca del cuadrante inferior izquierdo y que tiene un comportamiento muy similar al explicado en ese cuadrante. También encontramos las dietas AS1 y AS3 y la dieta JCaAP3 (antes de congelar), que aunque se encuentre en el cuadrante superior izquierdo sigue el mismo comportamiento que estos últimos, relacionándose todas ellas con los AGPI y sus principales representantes, los sumatorios *n*-3 y *n*-6 y el índice AGPI/AGS.



**Figura 4:** Proyección de los parámetros: (▲) pH por punción, color ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), pérdidas por goteo (24 y 48 horas) e índice de oxidación lipídica (TBARS), (●) porcentaje de grasa intramuscular (%GIM (Bligh y Dyer, 1959)), (●) perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular (% ácidos grasos totales) (C16:0, C18:0, C16:1 *n*-9, C18:2 *n*-6, C18:3 *n*-3, C20:4 *n*-6, C20:5 *n*-3, C22:6 *n*-3, AGS, AGPI, *n*-6, *n*-3) e (●) índices

relacionados (AGPI/AGS, n-6/n-3) en el plano definido por los dos primeros componentes principales.

Proyección de las observaciones de los 14 tratamientos estudiados en el plano definido por los dos primeros componentes principales: Dieta control ((■)día 0, (◆) 2 años), Dieta con grasa animal al 1% ((■)día 0, (◆) 2 años), Dieta con grasa animal 3% ((■)día 0, (◆) 2 años), Dieta con aceite de soja al 1% ((■)día 0, (◆) 2 años), Dieta con aceite de soja al 3% ((■)día 0, (◆) 2 años), Dieta con jabón de aceite de palma al 1% ((■)día 0, (◆) 2 años), Dieta con jabón de aceite de palma al 3% ((■)día 0, (◆) 2 años).

#### 4.3.2. Efecto de la inclusión de distintas fuentes de grasa en la dieta sobre la calidad de la carne de cerdo después de la congelación

La figura 5 presenta el segundo análisis de componentes principales realizado, en la que los dos primeros ejes explican el 63,45 % de la variabilidad total del estudio. El primero de los componentes principales (47,07 %), está caracterizado en el lado derecho por la mayoría de ácidos grasos poliinsaturados, C18:2 n-6, C18:3 n-3, C20:5 n-3, C22:5 n-3; los sumatorios n-3, n-6, AGPI y el índice AGPI/AGS. En el lado opuesto del eje encontramos los sumatorios de AGMI y AGS, junto a sus principales representantes, C16:0, C18:0, C16:1 n-9, C18:1 n-9; además del porcentaje de GIM y las pérdidas por compresión. El segundo de los componentes principales explica el 16,38% y se caracteriza por el resto de parámetros de calidad (Oxidación proteica, L\*, a\*, pérdidas por cocción y las pérdidas por descongelación), además de los ácidos grasos C20:4 n-6 y C22:6 n-3, y el índice n-6/n-3. Los valores de TBARS, pH por punción y homogenización, b\* y las pérdidas por goteo (24 y 48 horas) se encuentran muy cerca del centro de ambos componentes principales y por ello fueron poco caracterizados por estos ejes. Sin embargo, estuvieron mejor representados por el componente principal 3 (datos no representados) que explicaba un 14,17% de la variabilidad del estudio.

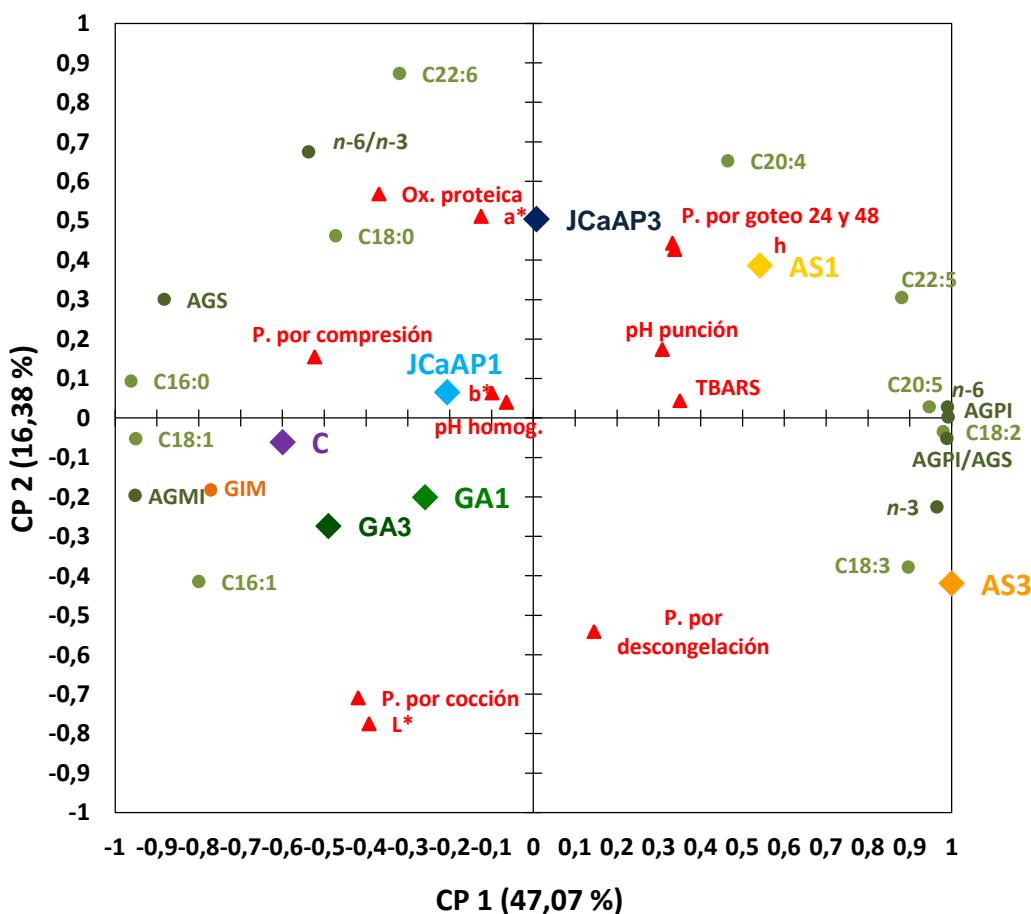
Ahora vamos a fijarnos más detenidamente en las variables nuevas que hemos introducido en este PCA.

El pH por homogenización se correlaciona positivamente con el pH de punción (0,80 ( $p = 0,001$ )), indicando así que ambas técnicas son similares. Además encontramos una correlación negativa entre el pH por homogenización y la L\* (-0,50 ( $p = 0,001$ )), y con las pérdidas por descongelación (-0,60 ( $p = 0,001$ )). Coincide con la afirmación de que un mayor valor de pH es asociado a una mayor CRA, lo que se traduce en una menor pérdida de agua durante el almacenamiento (Barbut *et al.*, 2008). ). Además, un pH final alto puede modificar las características de absorción de la mioglobina y la superficie de la carne se aprecia más oscura. También parece más oscura ya que no

dispersa tanto la luz como una carne con un pH más bajo, debido a que retiene mayor cantidad de agua (Lawrie, 2006).

Por último, la oxidación proteica se correlaciona positivamente con las pérdidas por descongelación (0,290) ( $p = 0,039$ ). Efecto ya estudiado por otros autores, por el cual la oxidación proteica disminuye la capacidad de retención de agua, una de las propiedades funcionales de las proteínas y por tanto, aumentan las pérdidas de agua tras la descongelación (Estévez *et al.*, 2011). La capacidad de retención de agua de la carne es una de las propiedades más importantes para la calidad de los productos crudos (Huff-Lonergan y Lonergan, 2005) y a su vez está muy relacionada con diversos parámetros importantes para la calidad final de la carne como son la jugosidad, terneza, firmeza y apariencia (Trout, 1988).

En esta figura se muestra también la proyección gráfica de las observaciones de las siete dietas estudiadas (después de congelar) en el plano definido por los dos primeros componentes principales. En el cuadrante superior izquierdo encontramos la dieta con JCaAP1, que sigue un comportamiento muy similar a las dietas encontradas en el cuadrante inferior izquierdo (C, GA1, GA3); relacionándose todos ellos como hemos visto en el anterior PCA con los AGS, AGMI, sus principales representantes y el porcentaje de GIM. En el cuadrante superior derecho se encuentra casi en el límite con el cuadrante superior izquierdo, la dieta con JCaAP3, que se encuentra relacionada con la oxidación proteica, como veímos en los resultados, aunque no había diferencias significativas, las dietas con jabón cálcico de aceite de palma eran los que presentaban niveles más altos. En este cuadrante también se encuentra la dieta con AS1 que tiene una relación similar a la dieta AS3 (que se encuentra en el cuadrante inferior derecho) con los AGPI, sumatorios *n*-3, *n*-6 y AGPI/AGS.



**Figura 5:** Proyección de los parámetros: (▲) pH por punción, pH por homogenización, color ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), pérdidas por goteo ( 24 y 48 horas), pérdidas de agua por descongelación, pérdidas de agua por cocción, pérdidas de agua por compresión, oxidación proteica e índice de oxidación lipídica (TBARS), (●) porcentaje de grasa intramuscular (%GIM (Bligh y Dyer, 1959)), (●) perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular (% ácidos grasos totales) (C16:0, C18:0, C16:1 n-9, C18:2 n-6, C18:3 n-3, C20:4 n-6, C20:5 n-3, C22:6, AGS, AGMI, n-6, n-3) e (●) índices relacionados (AGPI/AGS, n-6/n-3) en el plano definido por los dos primeros componentes principales.

Proyección de las observaciones de los 14 tratamientos estudiados (valores divididos por 7 para la representación gráfica) en el plano definido por los dos primeros componentes principales: Dieta control (◆), Dieta con grasa animal al 1% (◆), Dieta con grasa animal 3% (◆), Dieta con aceite de soja al 1% (◆), Dieta con aceite de soja al 3% (◆), Dieta con jabón de aceite de palma al 1% (◆), Dieta con jabón de aceite de palma al 3% (◆).

## 5. CONCLUSIONES:

Tras el análisis de los resultados, hemos podido obtener las siguientes conclusiones:

Los parámetros de calidad se ven poco afectados por las distintas fuentes de grasa añadidas a las dietas, sin embargo, la congelación modifica significativamente estos parámetros, causando un aumento de pH y pérdidas de agua, pero una disminución en los índices de color ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ).

La oxidación lipídica se mantiene constante a lo largo del tiempo, no sobrepasando en ningún momento los 0,2 mg malonaldehido/Kg.

El perfil de ácidos grasos, por el contrario, se modifica ampliamente con la adición de distintas fuentes de grasa a la dieta. Las dietas con aceite de soja son las que mayores variaciones han producido, aumentando el porcentaje de AGPI y disminuyendo los AGS y AGMI en comparación con el resto de las dietas.

El perfil de ácidos grasos también sufre variaciones durante el almacenamiento en congelación por oxidación de los AGPI, lo que modifica el resto de porcentajes. Además de producirse una pérdida de valor nutricional, también empeora el perfil lipídico haciéndolo menos saludable para el consumo según los índices estudiados.

Las pérdidas de agua producidas pueden llegar a ser hasta de un 9% del peso inicial, lo que hace aumentar el porcentaje de GIM, y disminuir el peso de producto vendido; lo que podría conllevar pérdidas económicas.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alonso,V., Najes,L.M., Provincial,L., Guillén,E., Gil,M., Roncalés,P., Beltrán,J.A. (2012). Influence of dietary fat on pork eating quality. *Meat Science*, 92, 366-373.
- Apple, J. K. (2007). Effects of nutritional modifications on the water-holding capacity of fresh pork: A review. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 124, 43-58.
- Apple, J. K., Maxwell, C. V., Galloway, D. L., Hutchison, S., y Hamilton, C. R. (2009). Interactive effects of dietary fat source and slaughter weight in growing-finishing swine: I. Growth performance and *Longissimus* muscle fatty acid composition. *Journal of Animal Science*, 87, 1407-1422.
- Averette Gatlin, L., See, M. T., Hansen, J. A., Sutton, D., y Odle, J. (2002). The effects of dietary fat sources, levels, and feeding intervals on pork fatty acid composition. *Journal of Animal Science*, 80, 1606-1615.
- Barbut, S., Sosnicki, A. A., Lonergan, S. M., Knapp, T., Ciobanu, D. C., Gatcliffe, L. J., Huff-Lonergan, E., y Wilson, E. W. (2008). Progress in reducing the pale, soft and exudative (PSE) problem in pork and poultry meat. *Meat Science*, 79, 46-63.
- Bee, G., Gebert, S., y Messikommer, R. (2002). Effect of dietary energy supply and fat source on the fatty acid pattern of adipose and lean tissues and lipogenesis in the pig. *Journal of Animal Science*, 80, 1564-1574.
- Bendall, J. R., y Swatland, H. J. (1988). A review of the relationships of pH with physical aspects of pork quality. *Meat Science*, 24, 84-126.
- Bligh, E. G., y Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37, 911-914.
- Campbell, M. K. (1995). Biochemistry (2nd edition). Mount Holyoke College. Saunders College Publishing. Harcourt Brace College Publishers.
- Carrapiso, A. I., y García, C. (2005). Instrumental colour of Iberian ham subcutaneous fat and lean (*biceps femoris*): Influence of crossbreeding and rearing system. *Meat Science*, 71, 284-290
- CIE (1976). Comisión Internationale de l'Eclairage, 18th session, London, UK. September 1975. *Cie publication 36*.
- Corino, C., Magni, S., Pagliarini, E., Rossi, R., Pastorelli, G., y Chiesa, L. M. (2002). Effects of dietary fats on meat quality and sensory characteristics of heavy pig loins. *Meat Science*, 60, 1-8.

De Smet, S., Raes, K., y Demeyer., D (2004). Meat fatty acid composition as affected by fatness and genetic factors: a review. *Animal Research*, 53, 81-98.

Departamento de Salud del Reino Unido (Department of Health) (1994). Nutritional aspects of the cardiovascular disease. *Report of health and social subjects No. 46*. London: Her Majesty's Stationery Office.

Dolz, S. (1996). Utilización de grasas y subproductos lipídicos en monogástricos. En *XII Curso de especialización FEDNA* (pp. 23-38). Madrid, España.

Enoch, H. G., Catala, A., y Strittmatter, P. (1976). Mechanism of rat microsomal stearoyl CoA desaturase. *Journal of Biological Chemistry*, 251, 5095-5103.

Estévez, M, Ventanas,S., Heinonen,M., and Puolanne,E. (2011). Protein carbonyls in meat systems: A review. *Meat Science* 89 259–279

FEDNA. (2010). Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. En C. de Blas, G. G. Mateos, & P. García-Rebollar (Eds.), *Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos (3rd edición)*. Madrid, Spain: FEDNA. <http://fundacionfedna.org/ingredientes-parapiensos>.

Fennema, O. R. (1985). Water and ice. En O. R. Fennema (Ed.), *Food chemistry*. NewYork, USA: Marcel Dekker Inc.

Fernández, X., Monin, G., Talmant, A., Mourot, J., y Lebret, B. (1999). Influence of intramuscular fat content on the quality of pig meat - 1. Composition of the lipid fraction and sensory characteristics of *M. Longissimus lumborum*. *Meat Science*, 53, 59-65

Gandemer, G., (1999). Lipids and meat quality: Lipolysis, oxidation, Maillard reaction and flavour. *Sciences des Aliments*, 19, 439-458.

Gray, G. I., Gomaa, E. A., y Buckley, D. J. (1996). Oxidative quality and shelf life of meats. *Meat Science*, 43, S111.

Hallenstvedta. E , M. Øverland, A. Rehnberg, N.P. Kjos, M. Thomassen (2012). Sensory quality of short- and long-term frozen stored pork products. Influence of diets varying in polyunsaturated fatty acid (PUFA) content and iodine value. *Meat Science Volume 90, Issue 1, Pages 244–251*

Hamm, R. (1975). Water-holding capacity of meat. En: N. A. Cole, y R. A. Lawrie (Eds.), *Meat* (pp. 321-337). London, UK: Butterworths.

Hansen, E., Dorte Juncher, Poul Henckel, Anders Karlsson, Grete Bertelsen, Leif H. Skibsted.(2004). Oxidative stability of chilled pork chops following long term freeze storage. *Meat Science* 68 479–484.

Hernández Diaz, C., (2004). La transformación industrial de la producción agropecuaria. Mecanismos de oxidación lipídica. Pg 121-125

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

IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature. (1978). The nomenclature of lipids. *Journal of Lipid Research*, 19, 114-129.

Karlsson, A. (1992). The use of principal component analysis (PCA) for evaluating results from pig meat quality measurements. *Meat Science*, 31, 423-433

Kouba, M., &Mourot, J. (1998). Effect of a high linoleic acid diet on Δ9-desaturase activity, lipogenesis and lipid composition of pig subcutaneous adipose tissue. *Reproduction, Nutrition, Development*, 38, 31–37.

Kouba, M., Enser, M., Whittington, F. M., Nute, G. R., y Wood, J. D. (2003). Effect of a high linoleic acid diet on lipogenic enzyme activities, fatty acid composition, and meat quality in the growing pig. *Journal of Animal Science*, 81, 1967-1979.

Kouba, M., y Sellier, P. (2011). A review of the factors influencing the development of intermuscular adipose tissue in the growing pig. *Meat Science*, 88, 213-220.

Kropf, D. H. (1993). Colour stability: Factors affecting the colour of fresh meat. *Meat Focus International*, 1, 269-275.

Lawrie, R. A. (2006). Meat and human nutrition. En R. A. Lawrie & D. Ledward (Eds.), *Lawrie's meat science* (7th edition, pp. 342-357). Abington, Cambridge, UK: Woodhead Publishing Limited

Leygonie,C., Trevor J. Britz, Louwrens C. Hoffman. (2012). Impact of freezing and thawing on the quality of meat: Review. *Meat Science* 91 93–98.

López-Bote, C. J., Isabel, B., y Rey, A. I. (1999). Efecto de la nutrición y del manejo sobre la calidad de la grasa en el cerdo. En *XV Curso de especialización FEDNA* (pp. 223- 252). Madrid, España.

Miller, M. F., Schackelford, S. D., Hayden, K. D., y Reagan, J. O. (1990). Determination of the alteration in fatty acid profiles, sensory characteristics and carcass traits of swine fed elevated levels of monounsaturated fats in the diet. *Journal of Animal Science*, 68, 1624-1631.

Mitchaothai, J., Yuangklang, C., Wittayakun, S., Vasupen, K., Wongsutthavas, S., Srenanul, P., Hovenier, R., Everts, H., y Beynen, A. C. (2007). Effect of dietary fat type on meat quality and fatty acid composition of various tissues in growing– finishing swine. *Meat Science*, 76, 95-101.

Monahan, F. J., Buckley, D. J., Morrissey, P. A., Lynch, P. B., y Gray, J. I. (1992). Influence of dietary fat and  $\alpha$ -tocopherol supplementation on lipid oxidation in pork. *Meat Science*, 31, 229-241.

Moreno García, B., (2006). Higiene e inspección de carnes I. Congelación, conservación en congelación y descongelación de carnes. Pg 225-227.

Muela, E., C. Sañudo, M.M. Campo, I. Medel, J.A. Beltrán. (2010). Effect of freezing method and frozen storage duration on instrumental quality of lamb throughout display. *Meat Science* 84, 662-669.

Ngapo, T.M, I.H. Babare, J. Reynolds, R.F. Mawson. (1999). Freezing and thawing rate effects on drip loss from samples of pork. *Meat Science* 53, 149-158.

Oliver, C., Bong-whan Ahn, Moerman, E., Goldstein, S., Stadtman, E. (1987). Age-related Changes in Oxidized Proteins. *The journal of biological chemistry*. Vol. 262, No. 12, Issue of April 25, pp. 5488-5491

Oliver, M. A., Gispert, M., y Diestre, A. (1993). The effects of breed and halothane sensitivity on pig meat quality. *Meat Science*, 35, 105-118.

Pfalzgraf, A., Frigg, M., y Steinhart, H. (1995). Alpha Tocopherol contents and lipid oxidation in pork muscle and adipose tissue during storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 1339-1342.

Raes, K., De Smet, S., y Demeyer, D. (2004). Effect of dietary fatty acids on incorporation of long chain polyunsaturated fatty acids and conjugated linoleic acid in lamb, beef and pork meat: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 113, 199-221.

Risvik, E. (1994). Sensory properties and preferences. *Meat Science*, 36, 67-77.

Rosenvold, K., y Andersen, H. J. (2003). Factors of significance for pork quality—a review. *Meat Science*, 64, 219-237.

Šimek, J., Grolichová, M., Steinhauserová, I., y Steinhauser, L. (2004). Carcass and meat quality of selected final hybrids of pigs in the Czech Republic. *Meat Science*, 66, 383-386.

Sheard, P. R., Enser, M., Wood, J. D., Nute, G. R., Gill, B. P., y Richardson, R. I. (2000). Shelf life and quality of pork and pork products with raised n-3 PUFA. *Meat Science*, 55, 213-221.

SPSS (2011). *Statistical package for social sciences for Windows (version 19.0)*. Chicago IL: SPSS Inc.

Teye, G. A., Sheard, P. R., Whittington, F. M., Nute, G. R., Stewart, A., y Wood, J. D. (2006a). Influence of dietary oils and protein level on pork quality. 1. Effects on muscle fatty acid composition, carcass, meat and eating quality. *Meat Science*, 73, 157-165.

Teye, G. A., Wood, J. D., Whittington, F. M., Stewart, A., y Sheard, P. R. (2006b). Influence of dietary oils and protein level on pork quality. 2. Effects on properties of fat and processing characteristics of bacon and frankfurter-style sausages. *Meat Science*, 73, 166-177.

Trout, G. R. (1988). Techniques for measuring water-binding capacity in muscle foods - A review of methodology. *Meat Science*, 23, 235-252.

Webb, E. C., y O'Neill, H. A. (2008). The animal fat paradox and meat quality. *Meat Science*, 80, 28-36.

Wiseman, J., y Agunbiade, J. A. (1998). The influence of changes in dietary fat and oils on fatty acid profiles of carcass fat in finishing pigs. *Livestock Production Science*, 54, 217-227.

Wood, J. D. (1984). Fat deposition and the quality of fat tissue in meat animals. En J. Wiseman (Ed.), *Fats in animal nutrition* (pp. 407-435). London, UK: Butterworths.

Wood, J. D. (1993). Production and processing practices to meet consumer needs. En E. Batterham (Ed.), *Manipulating pig production IV* (pp. 135-147). Attwood, Australia: Australasian Pig Science Association.

Wood, J. D., Richardson, R. I., Nute, G. R., Fisher, A. V., Campo, M. M., Kasapidou, E., Sheard, P. R., y Enser, M. (2003). Effects of fatty acids on meat quality: A review. *Meat Science*, 66, 21-32.

Wood, J. D., Enser, M., Fisher, A. V., Nute, G. R., Sheard, P. R., Richardson, R. I., Hughes, S. I., y Whittington, F. M. (2008). Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Science*, 78, 343-358.

Xia,X., Baohua.K, Qian.L , Jing,L. (2009). Physicochemical change and protein oxidation in porcine longissimus dorsi as influenced by different freeze-thaw cycles. *Meat Science* 83, 239–245.

XLSTAT (2004). *XLStat trial (version Pro 7.5). Program of Microsoft Excel*. Paris, France: Addinsoft SARL



Ciencia y Tecnología de la Carne y el Pescado

Dpto. Producción Animal y Ciencia de los Alimentos

Facultad de Veterinaria

Universidad de Zaragoza

