



# UNIVERSIDAD DE MURCIA

## FACULTAD DE VETERINARIA

Evaluación del Efecto del Glicerol,  
como Subproducto Derivado de la  
Producción del Biodiésel, sobre la  
Calidad de la Canal y de la Carne en  
Diferentes Especies

D<sup>a</sup>. Macarena Egea Clemenz

**2015**





UNIVERSIDAD DE  
MURCIA

M<sup>a</sup> DOLORES GARRIDO FERNÁNDEZ Catedrática de Tecnología de los Alimentos de la Universidad de Murcia en el Dpto. de Tecnología de los Alimentos, Nutrición y Bromatología, AUTORIZA:

La presentación de la tesis doctoral titulada “Evaluación del efecto del glicerol, como subproducto derivado de la producción del biodiésel, sobre la calidad de la canal y de la carne en diferentes especies” realizada por Dña. Macarena Egea Clemenz, bajo mi inmediata dirección y supervisión, y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

En Murcia a 7 de Enero de 2015

**Facultad de Veterinaria**  
**Departamento de Tecnología de los Alimentos**  
**Nutrición y Bromatología**

Campus Universitario de Espinardo. 30100 Murcia  
T. 868 88 87 67 – F. 868 88 71 67 – [www.um.es](http://www.um.es)





M<sup>a</sup> BELÉN LINARES PADIERNA Profesora Contratada Doctor de la  
Universidad de Murcia en el Dpto. de Tecnología de los Alimentos, Nutrición y  
Bromatología, AUTORIZA:

La presentación de la tesis doctoral titulada “Evaluación del efecto del glicerol,  
como subproducto derivado de la producción del biodiésel, sobre la calidad de la  
canal y de la carne en diferentes especies” realizada por Dña. Macarena Egea  
Clemenz, bajo mi inmediata dirección y supervisión, y que presenta para la  
obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

En Murcia a 7 de Enero de 2015



*Esta Tesis ha sido el resultado de varios años de trabajo y esfuerzo, no sólo mío, sino de más personas a las que quiero dedicar unas palabras de agradecimiento:*

*Quiero dar gracias en primer lugar a mi directora de Tesis María Dolores, por haberme dado la oportunidad de iniciarme en el mundo de la investigación. Dar gracias por su apoyo, dedicación y formación, dados siempre con el mayor cariño posible.*

*A mi directora y compañera María Belén Linares, por sus tiempo, paciencia y dedicación. Por aquellas aventuras compartidas tanto en el matadero como en el despachito.*

*A Belén López, por su apoyo, ánimo y cariño. A los profesores José Laencina, Eduardo, Alejandra, Daniel y Miguel.*

*A Fuensanta y Josefa, por esas horas que me habéis dedicado y vuestra inagotable buena disponibilidad. A los miembros del departamento de Nutrición Animal, Silvia, Juan, Carmen, Lucía, Juan Luis, Magda...*

*A mis compañeros del despachito, con quienes los días se han hecho mucho más llevaderos: Rocío, Víctor y Míriam. Hemos sobrevivido juntos a muchas aventuras. Gracias por estar ahí en esas jornadas interminables, y porque esta Tesis es fruto de su apoyo. También a aquellos que fueron parte del despachito: Mariella, Silvia, Pedro y Khalid.*

*También quiero dar gracias a mis compañeros del “zulo” y vinos. Rafa, Adri, Paola, Jordi, Esther, Inés, Lorena, Alex, Mario, Sandra, Yoli y alguno que seguro se me escapa, gracias.*

*Aquellas personas que han formado parte de mi día a día: Antonio y Carmen, que alguna vez me han salvado, Carmen Cáceres, Cari, profesores y alumnos del departamento.*

*Dar gracias a mi familia, sin la cual no hubiera comenzado el camino que me ha dejado aquí.*

*Finalmente, quiero dar gracias a mis amigos, mi familia elegida, a aquellos que han sido contención en momentos de desgano y aliento en este camino.*

*Macarena*





“La única verdad absoluta es que no hay verdades absolutas”

Paul Feyerabend



---

<b>I. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
I.1. EL SECTOR CÁRNICO .....	3
I.1.1 Sector porcino .....	4
I.1.2. Sector vacuno.....	8
I.2. CALIDAD DE LA CANAL Y DE LA CARNE DE CERDO Y VACUNO. FACTORES Y PARÁMETROS QUE LA DETERMINAN. ....	11
I.2.1. Peso de la canal.....	11
I.2.2. Rendimiento.....	13
I.2.3. Espesor del tocino dorsal (ETD).....	14
I.2.4. Concepto de calidad de carne .....	17
I.2.5. pH .....	18
I.2.6. Capacidad de retención de agua.....	23
I.2.8. Color .....	25
I.2.9. Grasa intramuscular y subcutáneo .....	29
I.2.10. Perfil de ácidos grasos .....	34
I.2.11. Características sensoriales .....	39
I.3. El glicerol.....	43
I.3.1. Características y obtención .....	43
1.3.2.1. Metabolismo del glicerol en monogástricos .....	45
1.3.2.2. Metabolismo del glicerol en rumiantes .....	47
1.3.2.3. Efecto del glicerol en la calidad la carne de cerdo .....	48
1.3.2.4. Efecto del glicerol en calidad de la canal y la carne de vacuno .....	49
<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>51</b>
<b>II. METODOLOGÍA .....</b>	<b>55</b>
II.1. ANIMALES, SISTEMA DE PRODUCCIÓN Y MANEJO .....	57
Ensayo I.....	57
Ensayo II .....	58

---

Ensayo III .....	62
Experiencia IV .....	62
II.2. MEDIDAS <i>IN VIVO</i> .....	63
II.2.1. Parámetros productivos.....	63
II.2.2. Espesor del tocino y el lomo.....	63
II.2.3. Determinación de parámetros sanguíneos .....	66
II.3. CALIDAD DE LA CANAL .....	66
II.3.1. Rendimiento de la canal.....	66
II.3.2. Longitud de la canal.....	67
II.3.3. Espesor del tocino dorsal .....	67
II.4. CALIDAD DE LA CARNE .....	68
II.4.1. Parámetros físico químicos .....	68
pH .....	68
Composición proximal .....	69
<i>Humedad</i> .....	69
<i>Proteína</i> .....	70
<i>Grasa intramuscular</i> .....	70
<i>Cenizas</i> .....	71
Capacidad de retención de agua (CRA) .....	72
Pérdidas por goteo .....	73
Pérdidas por cocción.....	74
Color CIELab .....	74
Color subjetivo y veteados .....	75
Textura instrumental.....	76
Perfil de ácidos grasos .....	78
II.5. ANÁLISIS SENSORIAL .....	79
II.5.1. Análisis descriptivo.....	79
Entrenamiento del panel .....	79
Preparación de las muestras.....	80

---

Sesiones de cata.....	82
II.5.2. Prueba triangular .....	82
II.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	82
<b>III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>85</b>
III.1. Ensayo I.....	87
III.1.1. Medidas con ultrasonidos: Espesor del tocino dorsal y del lomo .....	89
III.1.2. Calidad de la carne .....	90
III.1.3. Textura y color .....	92
III.1.4. Perfil de ácidos grasos.....	94
III.1.5. Análisis sensorial .....	95
III.2. Ensayo II .....	99
III.2.1. Medidas de ultrasonidos.....	101
III.2.2. Calidad de la canal .....	101
III.2.3. Calidad de la carne .....	103
III.2.4. CRA, PG y PC .....	104
III.2.5. Color y veteado .....	105
III.2.6. Perfil de ácidos grasos.....	107
III.2.6.1. Perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular.....	107
III.2.6.2. Perfil de ácidos grasos de la grasa subcutánea.....	109
III.2.7. Análisis sensorial .....	111
III.3. Ensayo III.....	115
III.3.1 Parámetros de producción .....	117
III.3.2. Canal y composición proximal.....	119
III.3.3. Perfil de ácidos grasos.....	121
III.3.4. Análisis sensorial de la carne .....	124
III. 4. Ensayo IV.....	127
III.4.1. Parámetros sanguíneos y contenido de glucógeno en hígado ....	129
III.4.2. Calidad de la canal y composición proximal .....	133
III.4.3. Calidad de la carne .....	134

---

III.4. Análisis sensorial.....	137
<b>IV. CONCLUSIONES.....</b>	<b>141</b>
<b>V. DISCUSIÓN GENERAL .....</b>	<b>147</b>
<b>VI. RESUMEN.....</b>	<b>155</b>
<b>VII. SUMMARY .....</b>	<b>161</b>
<b>VIII. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>167</b>

<b>Índice de Tablas</b>	<b>Página</b>
<b>Tabla 1</b> .....	18
Parámetros, procesos y factores que intervienen en los diferentes aspectos que constituyen la calidad de la carne	
<b>Tabla 2</b> .....	40
Parámetros utilizados en el análisis sensorial	
<b>Tabla 3</b> .....	
Ingredientes y composición de los piensos experimentales utilizados para el cebo de cerdos Large White x Landrace, con tres niveles diferentes de glicerina cruda (0, 2,5 y 5%)	59
<b>Tabla 4</b> .....	60
Ingredientes y composición de los piensos experimentales utilizados para el cebo de cerdos Ibéricos x Duroc, con tres niveles diferentes de glicerina cruda (0, 5 y 10%).	
<b>Tabla 5</b> .....	61
Ingredientes y composición de los piensos experimentales utilizados para el cebo de terneros, con tres niveles diferentes de glicerina cruda (0, 2 y 4%).	
<b>Tabla 6</b> .....	77
Perfil de Textura (Bourne, 1978).	
<b>Tabla 7</b> .....	81
Definición de los parámetros utilizados en el análisis sensorial descriptivo.	
<b>Tabla 8</b> .....	90
Espesor del tocino dorsal (media en mm) medido con regla milimetrada (ETD <sub>1</sub> , ETD <sub>2</sub> and ETD <sub>3</sub> ) y ultrasonido (ETD y EL) en cerdos alimentados con 0, 2,5 o 5% de glicerina cruda	
<b>Tabla 9</b> .....	91
Composición química y capacidad de retención de agua del músculo <i>Longissimus dorsi</i> de cerdos Large White x Landrace alimentados con 0, 2,5 o 5% de glicerina cruda	
<b>Tabla 10</b> .....	93
Análisis de perfil de textura (TPA), coordenadas de color y veteado del músculo <i>Longissimus dorsi</i> de cerdos Large White x Landrace alimentados con 0, 2,5 o 5% de glicerina cruda.	
<b>Tabla 11</b> .....	95
Composición de ácidos grasos (g 100 g <sup>-1</sup> ) de la grasa intramuscular del músculo <i>Longissimus dorsi</i> de cerdos Large White x Landrace alimentados con 0, 2,5 o 5% de glicerina cruda	

---

<b>Tabla 12</b> .....	102
Efecto de la alimentación con glicerina cruda sobre los valores del área del músculo <i>Longissimus thoracis</i> y grosor y área del tocino dorsal de cerdos cruce Ibérico x Duroc.	
<b>Tabla 13</b> .....	103
Calidad de la canal y de la carne de hembras enteras y machos castrados Ibérica x Duroc alimentados con glicerina cruda (0, 5 y 10%)	
<b>Tabla 14</b> .....	106
Calidad de la canal y de la carne de hembras enteras y machos castrados Ibérica x Duroc alimentados con glicerina cruda (0, 5 y 10%)	
<b>Tabla 15</b> .....	108
Perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular de hembras enteras y machos castrados Ibérica x Duroc alimentados con glicerina cruda (0, 5 y 10%)	
<b>Tabla 16</b> .....	111
Perfil de ácidos grasos de la grasa subcutánea de hembras enteras y machos castrados Ibérica x Duroc alimentados con glicerina cruda (0, 5 y 10%)	
<b>Tabla 17</b> .....	118
Efecto de la inclusión de glicerina en toros sobre el consumo de pienso, parámetros de crecimiento y medidas de ultrasonidos.	
<b>Tabla 18</b> .....	120
Parámetros de calidad de la canal y calidad de la carne de toros Limousin alimentados con glicerina cruda (0, 2 y 4%).	
<b>Tabla 19</b> .....	123
Perfil de ácidos grasos (mg/100 g carne) de la grasa intramuscular de la carne de toros Limousin alimentados con glicerina cruda (0, 2 y 4%).	
<b>Tabla 20</b> .....	124
Parámetros sensoriales del test QDA de la carne de toros Limousin alimentados con glicerina cruda (0, 2 y 4%).	
<b>Tabla 21</b> .....	132
Parámetros de plasma de toros sometidos a tratamientos con glicerol previo al sacrificio.	
<b>Tabla 22</b> .....	134
Peso vivo, parámetros de la canal y composición proximal de la carne de toros sometidos a los diferentes tratamientos.	
<b>Tabla 23</b> .....	136
Parámetros de calidad de la carne de toros sometidos a los diferentes tratamientos.	
<b>Tabla 24</b> .....	138
Test triangular de la carne de toros sometidos a los diferentes tratamientos con glicerol.	



<b>Tabla 25</b> .....	139
Análisis sensorial (QDA, escala no estructurada 10 cm) de la carne de toros sometidos a los diferentes tratamientos con glicerol <sup>1</sup>	

<b><i>Índice de Figuras</i></b>	<b><i>Página</i></b>
<b>Figura 1</b> .....	5
<i>Principales productores de carne de cerdo en el año 2012 (MAGRAMA, 2013)</i>	
<b>Figura 2</b> .....	6
<i>Sacrificio de ganado porcino en la Unión Europea en el año 2012 (miles de animales sacrificados, MAGRAMA, 2013)</i>	
<b>Figura 3</b> .....	9
<i>Principales países importadores de carne de vacuno en el año 2012 (MAGRAMA, 2013)</i>	
<b>Figura 4</b> .....	10
<i>Principales países exportadores de carne de vacuno en el año 2012</i>	
<b>Figura 5</b> .....	26
<i>Diferentes estados de la mioglobina (Galián, 2007)</i>	
<b>Figura 6</b> .....	27
<i>Representación de esfera de coordenadas CIELab</i>	
<b>Figura 7</b> .....	44
<i>Estructura molecular del glicerol</i>	
<b>Figura 8</b> .....	46
<i>Metabolismo del glicerol en monogástricos (Kerr et al., 2007b)</i>	
<b>Figura 9</b> .....	64
<i>Medidas realizadas en la ecografía</i>	
<b>Figura 10</b> .....	65
<i>Medidas de ultrasonido realizadas en la ecografía de la Experiencia II (Daza et al., 2006)</i>	
<b>Figura 11</b> .....	66
<i>Localización de las ecografías realizadas en la Experiencia III</i>	
<b>Figura 12</b> .....	67
<i>Medidas tomadas en la canal: ETD1, ETD2, ETD3 y LC.</i>	
<b>Figura 13</b> .....	69
<i>Medida con pHmetro portátil</i>	
<b>Figura 14</b> .....	73
<i>Método utilizado para la determinación de capacidad de retención de agua por presión.</i>	
<b>Figura 15</b> .....	75
<i>Espacio de color CIELAB</i>	

---

<b>Figura 16</b> .....	76
<i>Escala de veteado y color según sistema NPPC (1991)</i>	
<b>Figura 17</b> .....	77
<i>Análisis del Perfil de Textura (TPA; Bourne, 1978)</i>	
<b>Figura 18</b> .....	96
<i>Análisis sensorial (Aroma a carne, otros olores, flavor a carne, persistencia, color a carne) y perfil de textura (jugosidad, terneza, masticabilidad y fibrosidad) en el músculo Longissimus dorsi de cerdos Large White x Landrace alimentados con 0% (C, control), 2,5% (G2,5) o 5% (G5) de glicerina cruda.</i>	
<b>Figura 19</b> .....	113
<i>Análisis sensorial (Aroma a carne, flavor a carne, color a carne, intensidad de color) y perfil de textura (jugosidad, terneza y masticabilidad) en el músculo Longissimus dorsi de cerdos Ibéricos x Duroc alimentados con 0% (C, control), 5% (G5) o 10% (G10) de glicerina cruda.</i>	
<b>Figura 20</b> .....	134
<i>Niveles de glucógeno en el momento del sacrificio de ganado vacuno de los diferente tratamientos: Control: Sin glicerol; GA: glicerol adiminidtrado en agua de bebida en una proporción 2 g kg<sup>-1</sup> peso vivo; GS: glicerol administrado oralmente por sonda nasogástrica en una proporción 2 g.kg<sup>-1</sup> peso vivo.</i>	

---

<b>ATP</b>	<i>Trifosfato de adenosina</i>
<b>CRA</b>	<i>Capacidad de retención de agua</i>
<b>DFD</b>	<i>Dark firmness and dry</i>
<b>EGC</b>	<i>Efecto de la glicerina cruda</i>
<b>EL</b>	<i>Espesor del lomo</i>
<b>ETD</b>	<i>Espesor del tocino dorsal</i>
<b>ES</b>	<i>Efecto del sexo</i>
<b>g</b>	<i>gramos</i>
<b>GMD</b>	<i>Ganancia media diaria</i>
<b>IC</b>	<i>Índice de conversión</i>
<b>IMD</b>	<i>Ingesta media diaria</i>
<b>mM</b>	<i>Mili-mol</i>
<b>MS</b>	<i>Materia seca</i>
<b>MUFA</b>	<i>Ácidos grasos monoinsaturados</i>
<b>LC</b>	<i>Longitud de la canal</i>
<b>PG</b>	<i>Pérdidas por goteo</i>
<b>PC</b>	<i>Pérdidas por cocción</i>
<b>PCF</b>	<i>Peso de la canal frío</i>
<b>PUFA</b>	<i>Ácidos grasos poliinsaturados</i>
<b>°C</b>	<i>grados Celsius</i>
<b>RC</b>	<i>Rendimiento a la canal</i>
<b>SFA</b>	<i>Ácidos grasos saturados</i>
<b>SEM</b>	<i>Error estándar de la media</i>
<b>TPA</b>	<i>Análisis de perfil de textura</i>
<b>TUFA</b>	<i>Ácidos insaturados totales</i>
<b>UE</b>	<i>Unión Europea</i>
<b>vs</b>	<i>versus</i>
<b>WB</b>	<i>Warner-Bratzler</i>

.





## *Capítulo I*

---

### **Introducción y objetivos**





## **I.1. EL SECTOR CÁRNICO**

La carne es una fuente concentrada de nutrientes, que ha sido considerada esencial para un crecimiento y desarrollo óptimo del ser humano, teniendo un papel muy importante en la evolución de la especie, especialmente en el desarrollo del cerebro y la conformación del intelecto. Este producto es una gran fuente de proteínas de alta digestibilidad y de algunos micronutrientes como son el hierro, selenio, zinc y vitamina B12 (Pereira y Vicente, 2013). Estas características, entre otras, hacen que la carne sea un producto de gran importancia en la economía tanto española como mundial. La industria cárnica es el quinto sector industrial de España y el primero dentro de la industria agroalimentaria. Durante el año 2013, el gasto alimentario total se ha incrementado en un 0,6%, rompiéndose la tendencia al descenso de los dos años anteriores. El 2012 generó unas ventas netas superiores a 19.000 millones de euros, es decir, supuso el 21,6% de la industria alimentaria (MAGRAMA, 2014a, b). Según datos del Instituto Nacional de Estadística (INE, 2010) las empresas cárnicas representan el 14,4% del total del sector de alimentación y bebidas, dando empleo al 18,1% de los trabajadores del sector. No sólo la producción tiene gran impacto, sino también el consumo nacional de este producto, pues las carnes frescas, congeladas y elaborados son los productos más importantes de la cesta de la compra de los españoles (MAGRAMA, 2014a, c), teniendo un consumo per cápita de 51,3 kg en agosto 2014 (7,9 millones de kg, 22,1 % del gasto total en alimentación en el hogar). La carne de pollo, seguida de cerdo y de ternera son las especies más consumidas en España, en el año 2014 hubo un volumen de consumo de 14,1, 10,6 y 6,0 kg/ L per cápita respectivamente (MAGRAMA, 2014c).

Según la FAO, el consumo medio de carne a nivel mundial es de 42 kg/año en 2009 y la tendencia es a incrementar durante las próximas décadas, debido al aumento del consumo de proteínas en los países en vías de desarrollo. En concreto, el informe World Livestock 2011: Livestock in food security (FAO, 2011) estima un aumento del consumo de carne de casi el 73% de 2010 a 2050. Además indica que, en los países desarrollados, las exigencias del consumidor de carne son muy elevadas y se demandan productos de buena calidad organoléptica,

con los suficientes controles de seguridad alimentaria y trazabilidad, pero también que aporten mayor valor añadido y minimicen el impacto ambiental de la actividad ganadera.

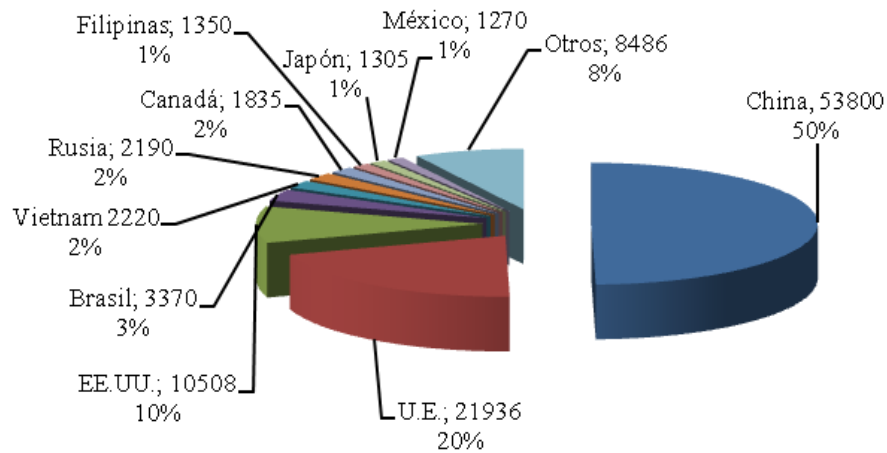
En la actualidad los principales factores determinantes de la compra de productos cárnicos para el consumidor español, según los expertos consultados, son el precio y el aspecto externo (color, textura, etc.), seguidos de la marca y del diseño del envase, el origen local y la trazabilidad del producto (Chamorro et al., 2012).

Dentro del sector cárnico, una de las áreas en la que se espera que la demanda tenga una evolución positiva en los próximos años es la carne certificada (con Denominaciones de Origen Protegida, Indicaciones Geográficas Protegidas y otras marcas de calidad (Chamorro et al., 2012)). Este resultado es, si cabe, más relevante considerando la reducción progresiva de su volumen de compra durante el último quinquenio, pasando de un consumo per cápita de carne certificada de 6,37 kg en 2007 a sólo 5,21 kg en 2011. Según opiniones del sector, la crisis económica ha afectado en mayor medida a este tipo de carne por sus precios de venta más elevados. Con todo esto, teniendo en cuenta que dentro de la Producción Animal los gastos en alimentación rondan un 70% del total, el hecho de rebajar el coste de la producción es de gran interés, pudiendo ser una buena estrategia para aumentar la competitividad de los productos cárnicos en el mercado.

### **I.1.1. Sector porcino**

El desarrollo durante la segunda mitad del siglo XX de los modernos sistemas de producción intensivos basados en razas porcinas altamente seleccionadas (**cerdo blanco**), paralelamente al desarrollo de la industria de los piensos compuestos formulados, propició un importante incremento en la producción de carne de porcino. Esta tendencia creciente en la producción de carne de cerdo ha llegado hasta nuestros días, y ha supuesto que en los últimos años, según datos de la organización de las Naciones Unidas para la Alimentación

y la Agricultura (FAO), la carne de cerdo lidere la producción y consumo a nivel mundial (Clemente, 2012).



**Figura 1.** Principales productores de carne de cerdo en el año 2012 (MAGRAMA, 2013)

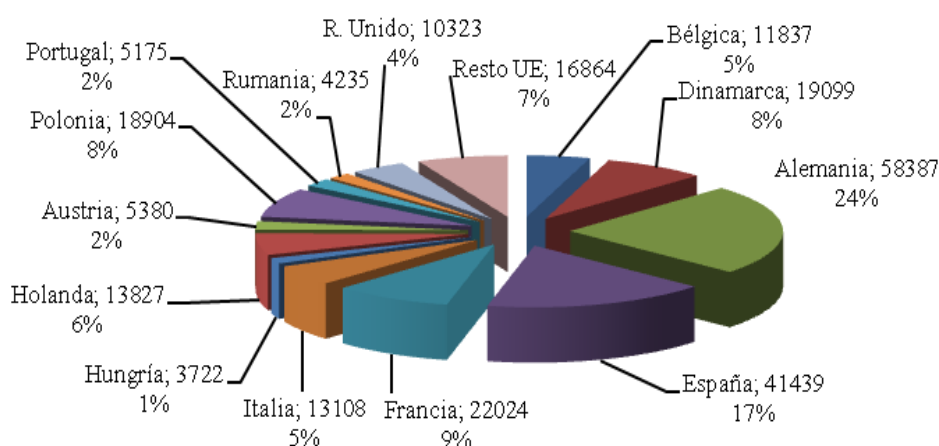
La producción mundial de carne de porcino en 2011, cifrada en 103,8 millones de toneladas (MAGRAMA, 2013), ha tenido un incremento más o menos constante en los últimos años. El incremento anual de la producción porcina es debido principalmente, al aumento de la producción de carne de cerdo de China y a las importantes tasas de crecimiento de la producción en otros grandes países productores de carne (Clemente, 2012). A nivel mundial, el principal productor de ganado porcino es China, teniendo una producción de 51 millones de toneladas en el año 2012 (MAGRAMA, 2013b), seguida por la UE (22 millones de toneladas) y Estados Unidos (10 millones de toneladas), siendo la UE el principal exportador a nivel mundial. Los principales importadores son Japón (1,2 millones de toneladas), Rusia (900 mil toneladas) y China (775 mil toneladas) (MAGRAMA, 2013b).

Las exportaciones intracomunitarias de España sufrieron un gran crecimiento desde el año 1986 al 2007, pasando de 2 millones de toneladas hasta 844 respectivamente. A partir del 2008 hasta 2012 se ha visto un estancamiento, con valores que rondan 1.000 millones de toneladas. Dentro de los principales compradores de carne de cerdo español dentro de la Unión Europea se encuentran Francia, Portugal e Italia. Sin embargo el comercio extracomunitario no ha parado

de crecer desde 1986 hasta el 2012, alcanzando 350 millones de toneladas en este último año. Los principales compradores y responsables son Rusia, Hong-Kong y China, aumentando estos dos últimos años considerablemente el volumen demandado de 2010 a 2012 de 82 a 114; 38 a 41 y de 10 a 70 millones de toneladas respectivamente (MAGRAMA, 2013b).

El consumo de cerdo presenta diferencias entre los países desarrollados (29 kg de carne por habitante y año) y los países en vías de desarrollo (11 kg de carne por habitante y año), lo que significa que más de un tercio del volumen per cápita consumido a nivel mundial corresponde a carne de cerdo, a pesar de las restricciones culturales y religiosas que su consumo tiene en muchos países (Clemente, 2012).

El total de cerdos sacrificado en España, ha ido aumentando ligeramente con los años, pasando de 35 millones en 2006 a 41 millones en el año 2011. Dentro de la Unión Europea, es el segundo país con mayor número de animales sacrificados, siendo superado sólo por Alemania, con 58 millones de cabezas. Así el 15 % de la carne producida en la UE corresponde a España (MAGRAMA, 2013b).



**Figura 2.** Sacrificio de ganado porcino en la Unión Europea en el año 2012 (miles de animales sacrificados; MAGRAMA, 2013)

El sector porcino español, fuertemente vertebrado e industrializado, genera un volumen de negocio cifrado en 5.079,6 millones de euros, lo que supone el

34,4 % de la Producción Final Ganadera y el 12,2 % de la Producción Final Agraria. Estos datos son un acercamiento al sector porcino español en cifras generales, sin embargo, a nadie se le escapa que, en España, éste se sustenta en dos modelos productivos netamente diferentes: la producción porcina intensiva y la producción porcina extensiva, habiendo igualmente sistemas intermedios. Tradicionalmente, la producción porcina intensiva estaba directamente vinculada al subsector del porcino blanco, altamente industrializado y tecnificado, en tanto que la producción extensiva correspondía mayoritariamente a la producción de Cerdo Ibérico, en el marco de un subsector (del Ibérico) más tradicionalista y sensiblemente menos tecnificado. Hoy día, esta correspondencia entre los modelos productivos (intensivo y extensivo) y los subsectores porcinos (blanco e ibérico) no es tan clara (Clemente, 2012).

En el caso concreto del **cerdo Ibérico**, en el año 2012 hubo un consumo de 44 toneladas de carne y productos Ibéricos, produciéndose un gasto por parte del consumidor de 743 millones de euros (ASICI, 2013). Aunque el mercado del Ibérico a comparación del cerdo blanco es menor, proporcionalmente las ganancias que genera son mayores, es decir, mientras el volumen de producto de Ibérico equivale al 8,2% del blanco, económicamente representa el 35,7% del mismo (López, 2012). Los datos del MAGRAMA muestran que se ha reducido el número de sacrificios. Durante 2012 fueron 2,32 millones los animales de este tipo que pasaron por los mataderos españoles. Esta cifra es un 11% inferior a la registrada durante 2011 y del total de animales ibéricos sacrificados apenas el 6,1% eran puros. Destaca además que suponían casi el 50% de los ibéricos puros sacrificados en 2010, dando idea de cómo específicamente estos ganaderos han reducido sus cabañas (Cruz, 2013). Si bien el cerdo Ibérico se conoce por su cría tradicional de montanera, la cual le otorga un valor comercial añadido, la mayoría son criados bajo un sistema intensivo (Tejerina et al., 2012). De estos animales sacrificados, por comunidades autónomas, es Castilla y León, la que mayor número de animales sacrifica, abarcando el 64% de la última campaña (1,47 millones de animales), seguida por Extremadura con el 12% del total y por Andalucía con el 11% (Cruz, 2013).

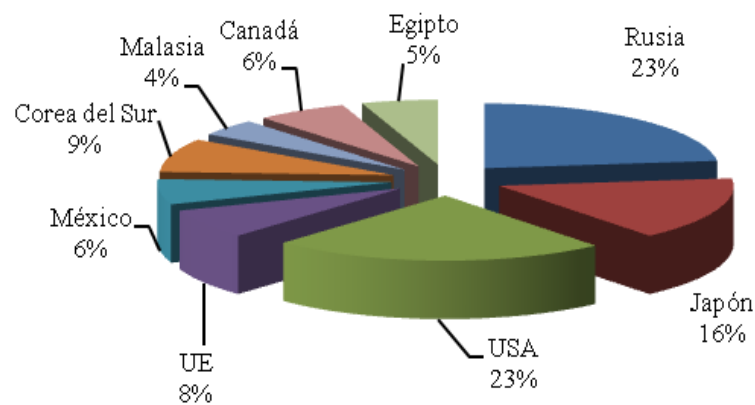
En cuanto a la comercialización de productos certificados, se ha producido una reducción menor. La bajada de precios motivada por la necesidad de vender productos para poder afrontar nuevas campañas de sacrificio ha motivado la venta, a precios más reducidos, de buena parte de las piezas categorizadas como procedentes de ibéricos puros. En el caso de las carnes frescas, al ser una salida más rápida para la materia prima y ante la caída de demanda que ha mantenido las bodegas llenas de piezas, podemos ver cómo la certificación y venta de producto ha crecido fuertemente entre 2011 y 2012. Está protagonizada fundamentalmente por la carne de cerdo ibérico procedente del cruce con Duroc, que supone casi el 80% del total y destaca el hecho de la fuerte producción de regiones como Murcia donde no se suele dar este tipo de producciones ganaderas. Esta bajada en la producción, que en su día fue respuesta a la caída de la demanda por la crisis, ha hecho que la escasez de producto eleve nuevamente los precios. Es posible que, ante buenas perspectivas de mercado, los ganaderos se animen a incrementar la cabaña nuevamente y se empiece la recuperación del sector del porcino ibérico (Cruz, 2013).

### **I.1.2. Sector vacuno**

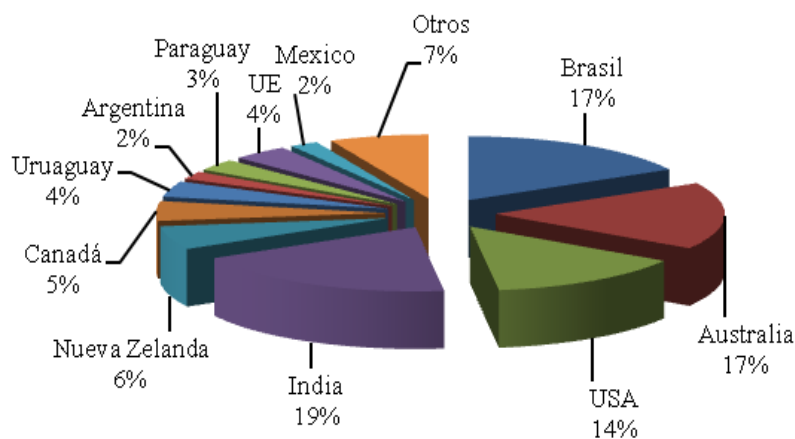
La producción mundial de 2013 de carne vacuna se estima en 57.5 millones de toneladas (USDA, 2013). Según el informe internacional del Instituto de Promoción de la Carne Vacuna Argentina (2014) se estima que la producción global de carne bovina crecerá levemente en 2014, tal como se ha observado que ocurrió de 2012 al 2013, siendo las principales responsables India y Sudamérica, aunque este aumento probablemente no será suficiente para cubrir la creciente demanda de carne del mercado de China. En la Unión Europea, se espera que la producción se mantenga en equilibrio y que los precios de la carne bovina se mantengan firmes en los niveles actuales.

A nivel mundial los mayores importadores aparecen en la **Figura 3**, siendo los principales Estados Unidos, Rusia y Japón. Aunque son potenciales compradores, no siempre es fácil el comercio con estos países, debido a las normas y restricciones que poseen a la hora del comercio de los productos alimenticios.

En cuanto a exportaciones, encabezan la lista la India, Australia y Brasil según los datos correspondientes al año 2012 (MAGRAMA, 2013). La producción de carne bovina en la India crecerá significativamente, un 14% en 2013, superando las 4 millones de toneladas. Este crecimiento se debe en parte a las crecientes exportaciones debido a cambios en la legislación de este país en los últimos años. Hasta ahora en la India, debido a la religión, la producción de carne se ha visto siempre limitada, sin embargo los ganaderos ahora tienen incentivos para criar y vender terneros machos no castrados de razas bufalinas, que antes no eran explotados comercialmente, permitiendo de esta manera a la población invertir en plantas de faena y capacidad de frío. En Sudamérica, Brasil incrementará su producción hasta un 2% llegando a 9,4 millones de toneladas, respondiendo a la fuerte demanda tanto interna como externa. Australia mantendrá sus niveles de producción de carne bovina en torno de los 2,1 a 2,2 millones de toneladas, según recoge el informe internacional del Instituto de Promoción de la Carne Vacuna Argentina (2012).



**Figura 3.** Principales países importadores de carne de vacuno en el año 2012 (MAGRAMA, 2013)



**Figura 4.** Principales países exportadores de carne de vacuno en el año 2012 (MAGRAMA, 2013)

Dentro del consumo de carne de vacuno, la Unión europea consume un 14% de la producción de ganado vacuno, siendo superada sólo por Estados Unidos. Pese a este gran consumo, la producción de carne de ternera en la Unión Europea ha disminuido en los últimos años, pasando de 8,2 toneladas en el año 2004, a 7,5 en el año 2012 (MAGRAMA, 2013). Aunque en el caso concreto del período del 2012, en la comunidad Europea se sacrificaron un total de 2,3 millones cabezas, dato ligeramente superior al 2011 (+0,17%). Esta caída general de la producción de carne bovina se debe a una situación donde hay mayores costos de los insumos y menores subvenciones.

En España, la producción de carne de vacuno ha estado ligada tradicionalmente al medio rural. A lo largo de las últimas décadas ha experimentado un despegue en sus cifras, al igual que el resto de sectores ganaderos: se pasó de los poco más de 5 millones de cabezas de comienzos de los 90 a 5,84 millones de animales a comienzos de 2013 y, en cuanto a la producción cárnica, de 507.000 toneladas en 1991 a las 596.000 t de 2012 (Cruz, 2013). Es un sector de gran importancia, teniendo en cuenta que si la producción final ganadera en España se cifró en 2012 en unos 16.362 millones de euros, la de vacuno supuso 2.510 millones, el 15,3% del total y tan solo la producción de porcino se sitúa por delante. En el conjunto de la producción agraria española (43.151 millones de euros) supone el 5,8% (Cruz, 2013).



La exportación de carne de vacuno española intracomunitaria está teniendo un crecimiento que, aunque leve, es bastante constante. A excepción del año 2008, donde se produjo un descenso debido principalmente a la pérdida de rentabilidad de las explotaciones ganaderas como consecuencia de los elevados precios de los costes de producción, desde 2006 a 2012, los datos han crecido de 121 millones a 140 millones de toneladas (MAGRAMA, 2013). La producción de carne de vacuno española tiene un rasgo propio que la diferencia de las producciones el resto de países europeos, y es que se orienta a la obtención de canales de animales jóvenes, entre un año y dieciocho meses, con unas características organolépticas particulares derivadas de su alimentación (a base de cereales) y de su corta edad (Cruz, 2013).

Aún así, se ha producido una reducción del número de explotaciones en los últimos años, entre el año 2006 y el 2013 en España se han reducido, en conjunto, en un 29% pasando de 221.620 a 157.536. De esta cantidad, algo más de la mitad estaban centradas en la cría de ganado para producción cárnica (87.331) y casi 23.300 estaban dedicadas al cebo. En los últimos 8 años la cantidad producida en España se ha visto reducida en casi un 16,4% desde las 713.331 toneladas de 2005 a las 596.853 toneladas de 2012 con 2,3 millones de animales sacrificados el año pasado (Cruz, 2013). La evolución de los precios de los terneros está directamente relacionada con la evolución de los piensos. Esta dependencia está aún más acentuada en el caso de España, un país deficitario en cereales y materias primas que tradicionalmente se utilizan en los piensos de alimentación animal y se ve obligada a la importación de otros países.

## **I.2. CALIDAD DE LA CANAL Y DE LA CARNE DE CERDO Y VACUNO. FACTORES Y PARÁMETROS QUE LA DETERMINAN.**

### **I.2.1. Peso de la canal**

De forma genérica, se entiende por canal el cuerpo del animal tras el desangrado y la retirada de las partes no adecuadas para consumo humano, las vísceras y otras porciones (Prändl, 1994). Específicamente en el ganado **porcino**, la Unión Europea define la canal de cerdo (Reglamento CE 3127/94) como el

cuerpo de un cerdo sacrificado, sangrado y eviscerado, entero o dividido por la mitad, sin la lengua, las cerdas, las pezuñas y los órganos genitales, pero con la manteca, los riñones y el diafragma. La calidad de la canal dependerá del estado del animal y de una serie de criterios (porcentaje, distribución, calidad del músculo y de la grasa que presenta la canal) para clasificar las canales en distintas categorías.

El peso de la canal al sacrificio viene determinado por factores como pueden ser el genotipo, edad, sexo, condiciones de alojamiento y alimentación, que pueden afectar de forma directa o indirecta al peso de la canal (Ciriá y Garcés, 1995). Conocer a fondo estos factores nos permite la posibilidad de controlarlos y así obtener con las mismas edades de sacrificio unos pesos de canales similares y uniformes. Por ejemplo, las razas autóctonas necesitan más tiempo que las modernas para alcanzar los mismos pesos. Serra et al. (1998) comprobaron un crecimiento mucho más rápido para lograr 100 kg en la raza Landrace (187 días) que en Ibérico (227 días) explotados en intensivo. También es cierto, que las razas tradicionales de forma habitual y también en la mayoría de los estudios realizados sobre ellas, el sacrificio suele ser a pesos muy superiores a las razas comerciales, que sumado a su desarrollo lento, son sacrificadas a edades elevadas (Mayoral, 1994). Igualmente, el sexo (machos, enteros o, castrados, o hembras) va a influir en diversas variables (consumo voluntario, velocidad de crecimiento, relación entre deposición grasa y proteína e índice de transformación), afectando por tanto al peso final de la canal obtenida (Galián, 2007).

Para el productor, la calidad depende del beneficio, su objetivo será que en un corto periodo de tiempo, con un coste lo más bajo posible, producir una canal que se pueda vender a un precio elevado (Boccard y Dumont, 1970). Así, los factores que afectan al consumo de pienso, como puede ser la textura del mismo, el número de veces que se alimenta a los animales o el tiempo de ayuno pueden ser utilizados de cara a controlar el peso de la canal (Faucinato et al., 2006).

La canal **bovina** se define según el Reglamento (CEE) del Consejo nº 1208/81, como el cuerpo entero del animal sacrificado, sangrado, desollado, eviscerado, separada la cabeza a nivel de la articulación occípito-atlantoidea y sin

extremidades, que se cortarán a nivel de las articulaciones carpo-metacarpiana y tarso-metatarsiana. La canal podrá conservar o no los riñones y la grasa de riñonada y de la cavidad pelviana, carecerá de vísceras torácicas y abdominales, así como de órganos sexuales y sus músculos, de ubre y grasa mamaria. Se pueden comercializar canales enteras, medias canales (cerdo y ovino) o en cuartos (bovino). Al igual que en el cerdo, el peso de la canal se verá afectado por factores tales como raza (Albertí et al., 2008; Clarke et al, 2009), genética (Campions et al., 2009), sexo (King et al, 2006), peso de sacrificio (Albertí et al., 2005), transporte (Schwartzkopf-Genswein et al, 2012), modificadores metabólicos (Dikeman, 2007) y dieta (Walsh et al., 2008) entre otros.

### **I.2.2. Rendimiento**

El rendimiento de la canal se refiere al coeficiente entre el peso de la canal y el peso vivo al sacrificio del animal, siendo éste mayor o menor dependiendo de la inclusión o no de la cabeza dentro de la canal. Por este motivo, cuando se comparan los rendimientos de la canal de las distintas especies se encuentran muchas diferencias entre la canal porcina y el resto de las canales, ya que en porcino la piel y la cabeza entran a formar parte de la canal, además de presentar patas íntegras (Poto, 2003).

Sañudo et al., (1997), proponen una serie de factores que influyen en el peso y el rendimiento de la canal del cerdo, entre los que figuran factores intrínsecos (raza, individuo, sexo, edad), factores productivos (alimentación, sistema de explotación, aditivos y finalizadores) y factores pre-sacrificio y post-sacrificio (ayuno y transporte, temperatura y tiempo de refrigeración).

En cuanto al rendimiento de la canal en trabajos realizados en razas autóctonas españolas y extranjeras (Daza et al., 2006) y sobre razas o cruces comerciales (Peinado et al., 2009) o ambas (Serra et al., 1998; Renaudeau y Mourot, 2007), indican que las razas tradicionales tienen unos rendimientos superiores a los de las razas comerciales tal como el cerdo Ibérico (Serra et al., 1998) o el Chato Murciano (Peinado et al., 2004).

En el ganado **vacuno**, la raza es otro factor que ejerce una gran influencia sobre el peso y rendimiento de la canal. Las razas cárnicas, alcanzan rendimientos de hasta el 60 %, mientras que las razas lecheras no sobrepasan el 55 % (Geay, 1978). Según Martín et al., (1992), las razas de mayor musculatura tienen un rendimiento de canal más alto, incluso comparadas con una misma conformación estándar. Así, Trujillo et al., (2002) encuentra que la raza Beefmaster tiene un mayor rendimiento a la canal que la Charolais. En este trabajo se demuestra el efecto que ejerce también el sexo, siendo el rendimiento mayor en las hembras que en los machos.

La alimentación ejerce una gran influencia en el peso y rendimiento de la canal. Salgueiro et al. (2009) observaron una mejora del rendimiento de la canal al utilizar concentrado en la etapa de finalización del cebo. Esto se debe a que el factor más importante que afecta al rendimiento es el contenido intestinal, y éste depende, en gran medida, del tipo de dieta. Cuanta más alta sea la calidad de la dieta más bajo será el contenido digestivo y viceversa. Así también, cuando se aumenta la densidad energética de la ración aumenta el rendimiento de la canal, como se observa en un trabajo realizado por Nelson et al., (2004), donde se encuentra un mayor rendimiento de la canal al incorporar grasa en la dieta de terneros en su periodo final de cebo.

### **I.2.3. Espesor del tocino dorsal (ETD)**

Durante el crecimiento de los cerdos, la proteína y la energía ingerida se utilizan primeramente para cubrir las necesidades energéticas básicas, una vez que éstas han sido satisfechas, el resto de la proteína y la energía ingerida puede ser usada para el crecimiento de los tejidos, principalmente grasa y músculo. Los tejidos adiposos que se depositan en el animal se clasifican según el lugar donde se localicen y reciben el nombre de tejido graso subcutáneo, intermuscular y grasa interna (se verá más adelante). El tejido subcutáneo es cuantitativamente el más importante; éste se encuentra conformado por el tejido adiposo subcutáneo dorsal o tocino y el tejido adiposo subcutáneo abdominal o panceta (Santana, 2008).

En el **cerdo**, la medida del espesor de la grasa dorsal es reconocida como una medida importante de la calidad de la canal, ya que tiene una relación directa con el contenido de grasa corporal. El espesor de grasa subcutánea, tiene además relación con el rendimiento de carne magra, por este motivo su medición se incluye en todos los esquemas de clasificación (Pedauyé et al., 1994).

Las zonas utilizadas para la medición de espesor de la grasa dorsal son descritas por varios autores, aunque en su mayoría señalan que el sitio más común para determinar tanto el espesor de grasa como la profundidad del lomo es a nivel de la décima costilla (Santana, 2008).

Este se puede hacer de varias formas:

*Por ultrasonidos in vivo:* La utilización de los ultrasonidos para determinar los límites de densidad de los diferentes tejidos sin la destrucción de los mismos fue relatada por Wild (1950). Los ultrasonidos son ondas sonoras con frecuencias no perceptibles por el oído humano, superiores a 30.000 hercios (HZ) (Cañeque y Sañudo, 2005).

*Sobre la canal entera* 24 h tras refrigeración. Se realiza con una regla milimetrada o pie de rey, pudiendo tomarse en diferentes puntos a nivel dorsal (a nivel de la 1 costilla, la 10ª, al principio y final de la grupa) (Cañeque y Sañudo, 2005).

Dada la tendencia de los últimos años de buscar carne y canales cada vez más magras y con un contenido menor en grasa, se ha ido estableciendo en el mercado un predominio de razas comerciales con un ETD mucho menor, atendiendo a una respuesta de selección genética realizada en ese sentido (Wood et al., 2004). Por el contrario, las razas autóctonas, que no entraron en los programas de selección hacia carnes magras, además de presentar por ello unos altos niveles de engrasamiento, suelen sacrificarse a edades y pesos mayores, lo que da valores de ETD más elevados (Renaudeau y Mourot, 2007).

En la tipificación de la canal porcina de razas autóctonas, es corriente realizar la medida del espesor de tocino dorsal; también existen otras medidas de parámetros morfométricos (longitudes lineales y perímetros) que se realizan sobre la canal porcina para deducir su calidad como materia prima de los productos transformados (Peinado et al., 2004). Además, hay que tener en cuenta que la carne de esas razas autóctonas es destinada en gran medida a productos transformados, donde componentes como la grasa tienen un valor añadido, mientras que en otro tipo de productos sería motivo de rechazo.

El peso vivo está relacionado directamente con el grosor del panículo dorsal (Asenjo et al., 2005). El sexo y la castración son factores que afectan de manera directa a la deposición de grasa, y por tanto al espesor del tocino, debido a las diferencias metabólicas existentes entre machos, hembras, castrados y enteros. Así Gómez-Fernández et al. (2013), en un estudio en cerdo Ibérico, encuentra que el grosor del panículo dorsal es mayor en animales castrados que en los enteros.

En el ganado **vacuno**, Hopkins, (1994), encuentra que la medida del espesor de la grasa subcutánea cuando es utilizada junto con el peso de la canal caliente, aumenta la exactitud de la predicción del contenido de magro. Kempster et al. (1976), llegan a la conclusión de que la puntuación visual del estado de engrasamiento predice de una forma concreta la proporción de músculo de la canal. El estado de engrasamiento está influido por factores como el peso, en el que un aumento del peso de la canal implica un incremento del grado de engrasamiento. Sánchez et al. (1997), observaron que el sexo influye significativamente en las características de cobertura de grasa del riñón, el macho deposita menos grasa de riñonada que las hembras y el color de la grasa subcutánea y del músculo es más blanco y rosado en machos que en hembras. Carballo et al. (1995), también encontraron diferencias en el estado de engrasamiento, siendo mayor en las hembras que en los machos.

La alimentación y el sistema de manejo son factores que influyen en la composición de la grasa de la canal. Varios autores afirman que un nivel de alimentación alto administrado a ganado bovino durante el periodo inmediato antes del sacrificio tiene un efecto positivo en el engrasamiento del animal (Hiner

y Bond, 1971; Robelin y Daenicke, 1980). Sin embargo, en un estudio donde se añade grasa en la dieta animal, Trujillo et al. (2002) no encontraron diferencias en el espesor del tocino dorsal. Dada la complejidad del aparato digestivo de los rumiantes, no siempre es fácil la modificación de la calidad de la canal a través de la dieta.

El uso de medidas de grasa y músculo por ultrasonidos junto con el peso vivo final del animal pueden ser usados en modelos de predicción para estimar el peso de la canal. Además, las correlaciones encontradas entre medidas ecográficas y medidas de apreciación visual de la grasa usando el peso canal, sugieren la validez de ambas metodologías para estimar el nivel de acabado (Velázquez & Ríos, 2010).

#### **I.2.4. Concepto de calidad de carne**

La calidad aplicada a la producción cárnica es un término muy amplio y frecuentemente mal entendido, que admite muchos puntos de vista. Éste varía según quién lo defina, ya que dependiendo de que sea productor, carnicero industrial o consumidor, destacará diferentes aspectos: un alto rendimiento, una buena conformación, que la grasa sea blanca y firme, que tenga un color estable y rosáceo, que no pierda líquido, pH adecuado, un bajo o elevado contenido en grasa intramuscular, el sabor, la jugosidad, la dureza o características nutritivas de la misma, entre otras. En cualquiera de los casos señalados, el término calidad implica una variación en el nivel de la aceptabilidad de la carne en el mercado, según la composición y propiedades.

No existe por tanto una calidad ideal ni un único objetivo productivo, sino que el concepto está sujeto a diferentes interpretaciones. Una de las definiciones más extendidas fue propuesta por Hammond (1955): “la calidad se puede definir como aquello que gusta al consumidor y por lo que está dispuesto a pagar más que el precio medio”. Por lo que el criterio de calidad es muy variable y dependerá de múltiples factores externos, tal como se muestra en la Tabla 1. De acuerdo con Girard (1984) en el término global de calidad se deben incluir distintas cualidades, a su vez relacionadas en algunos casos como son: calidad higiénica, calidad

nutritiva, calidad organoléptica y calidad o aptitud para la conservación o la transformación.

**Tabla 1.** Parámetros, procesos y factores que intervienen en los diferentes aspectos que constituyen la calidad de la carne (Clemente, 2012).

<b>Tipos de calidad</b>	<b>Parámetros determinantes</b>	<b>Procesos y factores responsables</b>
<b>Calidad de rendimiento cárnico</b>	Proporción Peso Vivo/Peso canal Conformación Grado engrasamiento Clasificación y categoría Rendimiento en piezas nobles	Razas Sistemas productivos
<b>Calidad industrial</b>	Propiedades que favorecen la elaboración	Sistemas productivos Procesos de elaboración
<b>Calidad funcional</b>	Envasado Etiquetado Propiedades exigidas por los consumidores	Razas Sistemas productivos Procesos de elaboración
<b>Calidad nutricional</b>	Proporción y equilibrio de grasas, hidratos de carbono, proteínas, aminoácidos, vitaminas, etc.	Sistemas productivos Razas Procesos de elaboración
<b>Calidad higiénica</b>	Ausencia de residuos, contaminantes, toxinas, productos tóxicos, agentes microbianos, etc.	Sistemas productivos Procesos de elaboración
<b>Calidad organoléptica o sensorial</b>	Olor, aroma, color, sabor, favor, textura, ternura, jugosidad, etc.	Sistemas productivos Razas Procesos de elaboración
<b>Calidad ética</b>	Bienestar animal Sostenibilidad en la producción Contaminación	Sistemas productivos Procesos de elaboración

A continuación se describen aquellos parámetros (físico-químicos, organolépticos) que definen la calidad de la canal y la carne

### **I.2.5. pH**

El pH es el logaritmo negativo de la concentración de protones de una disolución. La medida se basa en el registro de la diferencia de potencial eléctrico entre un electrodo de medición y otro de referencia (Sañudo et al., 2000). El pH



muscular del animal vivo en reposo está en torno a 7,08-7,30 y como consecuencia del sacrificio se produce un bloqueo del aporte de oxígeno y nutrientes al músculo, por lo que comienzan a movilizarse las reservas energéticas corporales (glucógeno y glucosa) con objeto de obtener energía en forma de ATP, a fin de asegurar la homeostasis muscular (Álvarez, 2002). Conforme se reducen los niveles de ATP se genera simultáneamente fosfato inorgánico, que a su vez estimula la degradación de glucógeno a ácido láctico mediante la glucólisis anaerobia (Garrido et al., 2005). La formación de ácido láctico y de otros ácidos orgánicos va a provocar un descenso del pH muscular que continúa hasta que se agotan las reservas de glucógeno o hasta que se inactivan los enzimas que rigen el metabolismo muscular (Lawrie, 1998).

La medida de los valores de pH sobre los diferentes músculos de la canal tiene como finalidad comprobar la evolución de este parámetro durante los procesos de transformación en carne. Por ello, se utilizan para su medición tiempos cercanos a la obtención de la canal; es decir, a los cuarenta y cinco minutos del sacrificio (pH45) y a las 24 horas *postmortem* (pH24), momento en el que se estabiliza el pH (Oliver et al., 1991). El pH final de la carne va a influir sobre las características físico-químicas, organolépticas e higiénico sanitarias de la misma (Galián, 2007).

El pH desciende en los músculos hasta valores de 5,4- 5,5 (Garrido y Bañón, 2000). Una bajada inadecuada del pH puede producir lo que conocemos como carne PSE (pale, soft, exudative). Se trata de una carne con una mayor destrucción de proteína, y por tanto una mayor exudación y carnes más pálidas (Galián, 2007), carnes más comunes en cerdo. Por el contrario, las carnes DFD son causa de animales con una baja reserva glucógeno muscular en el momento del sacrificio, con lo que el pH final es elevado, siendo más habitual en el ganado vacuno. Esta falta de descenso del pH aumenta el riesgo de contaminación por microorganismos (Garrido y Bañón, 2000). Además, de cara al consumidor, éste suele relacionar colores más oscuros con carne deteriorada, por lo que se puede producir el rechazo del producto, y las consecuentes pérdidas económicas (Mach et al., 2008b.)

Por tanto, la variación y valor final de pH depende de diversos factores que estén relacionados con la creación de depósitos de glucógeno o con el consumo del mismo, ya sean intrínsecos o extrínsecos, *antemorten* o *postmortem*. Así la especie, el genotipo (Galián, 2007), la raza, pueden ser importantes. Por ejemplo, en el caso del **cerdo**, esta es mucho más sensible que otras a presentar carnes PSE (Pérez, 2011). Esto se debe en parte a la presencia del gen del halotano (HAL) y del gen Rendement Napole (RN), que predisponen a los animales portadores a poseer una carne con un pH más bajo (Cherel et al., 2010).

Se ha visto en diversos estudios que la raza es también un factor que puede afectar a los valores de pH de la carne. Un caso particular es la raza Duroc, que a pesar de ser una raza altamente seleccionada, mantiene elevadas características de rusticidad, y ofrece valores de pH altos, típicamente asociados a las razas tradicionales (Tibau et al., 1997), frente a otras razas tales como Large White, Landrance o Pietrain, cuyos valores suelen ser más bajos. Es el caso del cerdo Ibérico en España, Serra et al. (2008) en un estudio comparando cerdos Ibéricos y Landrance encontraron que las diferencias en el pH muscular entre razas es debido a que las razas que poseen un crecimiento precoz tienen mayor cantidad de fibras musculares glicolíticas.

Otro factor importante es la alimentación. Aunque la composición de la dieta no afecta generalmente al contenido de glucógeno muscular si se utilizan fuentes energéticas convencionales, sin embargo, la administración de azúcares durante periodos largos de espera antes de sacrificio se ha definido como una medida preventiva efectiva en casos de DFD (Coma y Piquer, 2005). Otras estrategias han sido estudiadas, tal como la suplementación en la dieta de compuestos inhibidores de enzimas de la glucólisis (Kremer et al., 1998, 1999) o la posibilidad de administrar electrolitos por vía oral para alterar el equilibrio ácido-base del animal (Schaefer et al., 2001, 2006).

Hay otros factores *antemorten* que afectan al consumo previo de las reservas de glucógeno, principalmente aquellos que puedan ser causa de estrés como son: estación del año, duración del transporte y densidad de animales, condiciones climáticas adversas, tiempo de ayuno y descanso previo al sacrificio,

manejo de los animales en la carga y descarga, matadero, tipo de aturdimiento empleado, mezcla de animales de diferentes lotes, entre otros (Van de Perre et al., 2010, Gajana et al., 2013). La depleción de glucógeno muscular, y por tanto el valor final del pH una vez sacrificado el animal, dependerá en gran medida de todos aquellos factores que causan malestar físico y estrés en el animal (Galián, 2007).

Por otra parte, también se ha visto la importancia de las condiciones *post mortem*: manejo de las canales, tiempo de enfriamiento de la canal, desescarche de las cámaras frigoríficas (Álvarez, 2002), son factores que marcarán el ritmo de descenso del pH y el nivel final alcanzado.

Como se ha indicado anteriormente es frecuente asociar al **vacuno** con las carnes DFD. En el caso de la carne de vacuno, factores como la raza, la edad y la alimentación tienen una escasa influencia sobre el pH. Numerosos autores han constatado el escaso o nulo efecto que la raza ejerce sobre el pH, como en un estudio realizado por Vieira et al., (2007), en el que no encuentran diferencias significativas en los valores de pH final en terneros de razas Limousin, Pardo Suizo y Asturiana de los Valles. En estudios realizados con distintas razas, Albertí et al. (1995), tampoco encuentran diferencias en el pH final de la carne.

En cuanto a la edad, y en consecuencia el peso, en un estudio realizado por Dunne et al. (2004) hallaron valores de pH mayores en canales de terneros de mayor edad. Esto se debe probablemente a un cambio que se produce en el metabolismo de las células musculares a medida que el animal crece.

Algunos autores opinan que la naturaleza del alimento no tiene una gran influencia sobre el valor final del pH. En un trabajo realizado por Albertí et al. (1992), observaron que los distintos regímenes alimenticios con alfalfa deshidratada no afectaron al valor final del pH de la carne en terneros de razas Pirenaica y Parda Alpina. Del mismo modo Sami et al. (2004), no encuentra diferencias significativas en el pH final entre los toros alimentados en régimen extensivo y terneros alimentados en régimen intensivo. Espejo et al. (1998), encuentran diferencias significativas en la caída del pH comparando terneros

acabados con concentrado y otros alimentados con hierba, siendo más rápido el descenso de pH en los primeros. Según Nonell et al. (1998), esta diferencia de pH se debe al enfriamiento más lento de la canal en los animales que poseen mayor cobertura de grasa (terneros que han recibido concentrado en su periodo final de cebo).

El efecto del estrés pre sacrificio se presenta de forma diferente en ganado vacuno dependiendo del sexo del animal. Los machos son físicamente más activos que las hembras, lo que provoca un mayor consumo de glucógeno y por tanto, un mayor porcentaje de carnes DFD en canales de machos comparadas con las de hembras (Pérez, 2011). En un estudio en ganado bovino realizado por Dunne et al. (2004), observan diferencias significativas entre los valores de pH final del músculo *Longissimus dorsi* entre machos y hembras, correspondiendo los pH más elevados a los machos. Además, el hecho de estar castrados o no, también puede afectar al pH. Esto posiblemente sea debido a la mayor excitabilidad de los machos enteros, lo que provoca un mayor consumo de glucógeno por la acusada contracción muscular e hipersecreción de catecolaminas antes del sacrificio y en consecuencia pH más elevados (Destefanis et al., 2003).

Varios son los factores postmortem que afectan al pH en la carne de ternero, entre ellos la grasa dorsal de la canal, tiempo de espera (Mach et al., 2008), la temperatura del músculo, que también modula la velocidad de la glucolisis y las condiciones de envasado (Prieto, 2006), entre otros.

La consideración del pH como parámetro determinante de la calidad de la carne estriba en el hecho de su relevante influencia sobre otras características, referentes tanto a las cualidades organolépticas como el color y la terneza, como las tecnológicas, ya sea el grado de exudación de la carne o bien su aptitud frente a la conservación (Linares, 2007).

### **I.2.6. Capacidad de retención de agua**

Capacidad de retención de agua (CRA) es el término empleado para la propiedad de la carne por la que ésta conserva su agua de constitución durante la manipulación y retiene agua añadida durante el procesado (Offer y Knight, 1988). Es importante, ya que pérdidas o ganancias de agua afectan al peso y valor económico de la carne. El contenido y distribución en agua influyen en las propiedades de la carne, especialmente en su jugosidad, terneza y aspecto.

La carne cruda de los mamíferos inmediatamente tras el sacrificio contiene, por término medio, un 75% de agua (Lawrie, 1991), porcentaje que varía con la especie de procedencia, el músculo y, fundamentalmente, el contenido graso del mismo, disminuyendo la cantidad de agua al aumentar la edad del animal. El agua puede hallarse en distintas formas dependiendo si es agua ligada (de interfase o constitución) o agua libre, de tal forma que la CRA sólo afecta a ésta última (Brewer, 2004). Tras el sacrificio, parte de este agua se pierde con la manipulación de la carne: por evaporación durante el enfriamiento de las canales; por goteo, como consecuencia de la sección de los tejidos; las mayores pérdidas de agua, sin embargo, se producen como consecuencia del cocinado de la carne, pérdidas que pueden superar el 40%. Los valores de capacidad de retención de agua, medidos por el método de presión oscilan entre 65-82% (Pla Torres, 2005).

La capacidad de retención de agua puede ser determinada, bien “directamente” a partir de exudado obtenido, con aplicación de una fuerza mecánica o por calentamiento de la muestra, o bien “indirectamente” a partir de medidas de reflectancia y mediante el grado de solubilidad de proteínas miofibrilares y sarcoplásmicas. Hamm (1986) propuso cuatro metodologías de determinación:

- *Pérdidas por goteo*, determinadas por la formación de un exudado sobre la carne, sin aplicación de fuerzas externas.

- *Pérdidas por descongelación*, que originan un exudado sobre la carne tras su congelación y descongelación, sin aplicación de fuerzas externas.

- *Pérdidas por cocción*, consistente en fluidos liberados tras el calentamiento de la carne sin aplicación de fuerzas externas.

- *Jugo exprimible*, de la carne no calentada (incluso de la descongelada), mediante aplicación de fuerzas externas originadas por métodos de compresión, centrifugación o succión.

Se han hecho varios estudios en los que se han demostrado diversos factores que afectan a la capacidad retención del agua, como por ejemplo el contenido de cloruro sódico, la estructura de la fibras musculares y el pH (Puolanne, 2010). Como ya se vio en el apartado I.2.5., CRA y pH está estrechamente relacionados. Esto se debe a que como consecuencia de la instauración del *rigor mortis* se produce la caída del pH muscular que se aproxima al punto isoeléctrico de las proteínas miofibrilares (5,5) lo que origina un aumento de la fuerza de atracción entre cargas proteicas contiguas. Este hecho conlleva la disminución de la calidad de grupos reactivos capaces de ligar moléculas de agua. Finalmente tiene lugar un incremento de agua en el espacio sarcoplásmico que es expulsada al exterior de la pieza cárnica formando exudados (Linares, 2007). Por ello, ciertos factores nombrados anteriormente en el pH, también afectan a este parámetro tecnológico, tales como el ayuno previo al sacrificio (Rosenvold y Andersen, 2003), estrés (Bertram, 2010), sistema aturdimiento (Rosenvold y Andersen, 2003), un enfriamiento excesivamente rápido de la canal. Así, las carnes PSE (pale, soft, exudative) tienen una menor CRA en comparación con las carnes DFD (Warner et al., 1997).

En el caso concreto de las pérdidas por cocción, el calentamiento de la carne hasta una temperatura próxima a los 75 °C, hace que sus proteínas, tanto miofibrilares (miosina) como las estructurales (colágeno), se desnaturalicen. Esto produce cambios estructurales como la destrucción de membranas celulares, encogimiento longitudinal y transversal de las fibras y del tejido conjuntivo, agregación de proteínas sarcoplásmicas. Por tanto, todos estos fenómenos, originan un aumento de las pérdidas por cocción de la carne (Pla-Torres, 2005). Bendal y Restall (1983), determinaron las pérdidas de agua durante el cocinado y concluyeron que éstas eran mayores que las producidos por los métodos citados anteriormente, dado que las altas temperaturas a las que se somete la carne,

favorecen la desnaturalización de las proteínas y la destrucción de las membranas celulares liberándose agua tanto intra como extracelular (Hönikel, 1998).

Son varios los factores que afectan a las pérdidas por cocción, tanto *ante mortem* como *post mortem*. Rosenvold y Andersen (2003b) indicaron que los sistemas de producción en extensivo generan menores pérdidas por cocinado. Fischer et al. (2006) hallaron en cerdos comerciales una disminución en las pérdidas por cocinado al aumentar el peso de sacrificio. Hay que tener en cuenta que también afectarán factores tales como tiempo de cocción, el tipo de cocinado, la temperatura, de la presencia de agua, del calor directo, del tamaño, del grosor y de la preparación previa de la pieza (Onega, 2003).

### **I.2.8. Color**

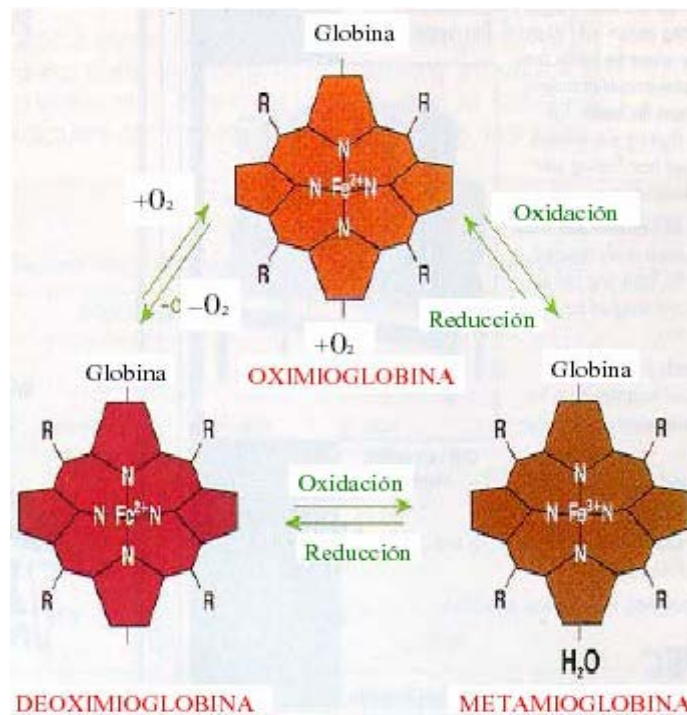
La CIE (Commission International de'Eclairage) define el color percibido como el atributo visual que se compone de una combinación cualquiera de contenidos cromáticos y acromáticos. Este color no depende sólo del color físico del estímulo sino también de su tamaño, forma, estructura y estímulos que le rodean. El color de la carne es uno de los principales factores que determinarán el valor del producto en el momento de comercialización, ya que el consumidor lo relaciona con las cualidades sensoriales del mismo (Albertí et al., 2005), debido a que éste lo relaciona con el grado de frescura (Adams y Huffman, 1972), con la edad del animal (Fernández, 1991) o valor nutritivo (Onega, 2003).

La carne está compuesta por dos fracciones: el músculo y la grasa. El color del músculo puede variar principalmente por tres factores: el contenido en pigmentos siendo la mioglobina (95%) y la hemoglobina (5%), las principales responsables (Linares, 2007); las condiciones del período pre y post sacrificio, y el tiempo de almacenamiento y las condiciones de comercialización. Todos ellos harán variar el color de la carne debido a que afectarán la estructura del músculo o bien a la concentración o estado de los pigmentos (Albertí et al., 2005).

En la carne fresca la mioglobina puede dar lugar a tres formas distintas de pigmentos según el ligando que se una al enlace libre (6ª posición) del átomo de

hierro y el estado de oxidación del mismo ( $\text{Fe}^{+2}$  o  $\text{Fe}^{+3}$ ). Distinguímos así la desoximioglobina, con el sexto enlace ocupado por una molécula de agua (color púrpura), la oximioglobina, ocupado por oxígeno (color rojo), metamioglobina, consecuencia de crecimiento bacteriano que produce la oxidación del átomo de hierro (color pardo), y finalmente caboximioglobina, cuando se une al monóxido de carbono, dando un color rojo-rosado brillante (Linares, 2007). Un proceso similar ocurre durante el proceso de cocción, lo que desemboca en el cambio de color de la carne (Galián, 2007).

En cuanto a la estructura, cuanto más ordenadas estén las fibras musculares, más luz absorberán, y por tanto la carne presentará un color más oscuro. Es el caso de las carnes DFD, donde el pH por encima de 5,5, punto isoelectrico de las proteínas, hace que el agua se mantenga almacenada en las fibras, dejando un escaso espacio extracelular y por tanto un menor reflejo de la luz (Fischer & Hamm, 1980).

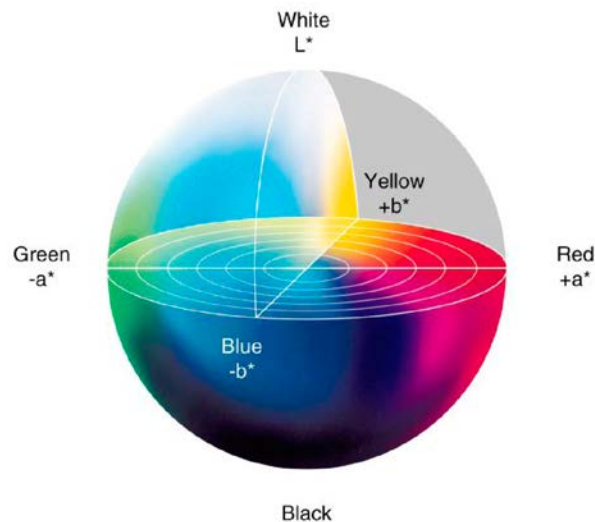


**Figura 5.** Diferentes estados de la mioglobina (Galián 2007).

Para poder llevar a cabo una medida de manera objetiva, el sistema de representación del color más adecuado es el CIELAB (CIE, 1986). Este sistema emplea las coordenadas tricromáticas  $L^*$  [luminosidad, del blanco (100) hasta negro (0)],  $a^*$  [mide las tonalidades de rojo (+) hasta verde (-)] y  $b^*$  [mide las



tonalidades de amarillo (+) hasta azul (-)], de manera que a partir de relaciones entre ellas se pueden obtener las coordenadas colorimétricas, la intensidad de color o saturación (Chroma, C) y el tono (Hue, H) (Onega 2003).



**Figura 6.** Representación de esfera de coordenadas CIELab.

Otra forma de medir el color es utilizando escalas de referencia. Las más comunes para carne de cerdo son las desarrolladas por el National Pork Producers Council (NPPC, 1999), el color varía de 1 a 10, siendo 1 el valor más claro y el 10 el tono más oscuro.

Según Carballo y López de Torre (1991) las clasifica por su color en:

*Músculo rojo (R)*, rico en mitocondrias y mioglobina. Presenta abundante irrigación sanguínea y metabolismo aerobio oxidativo.

*Músculo blanco (W)*, con escaso contenido en mitocondrias y mioglobina. Tiene poca irrigación y metabolismo anaerobio.

El color de la carne de **cerdo** por tanto, se ve afectado por diversos factores, aunque en general presentará un color que debe oscilar del blanco rosáceo al rojo oscuro, dependiendo de la especie animal, raza, edad, alimentación, forma de sacrificio y periodo de tiempo transcurrido desde que éste fue realizado. Diversos trabajos (Serra et al., 1998; Edwards, 2005; Franci et al., 2005; Estévez et al., 2006) indican de forma general que las razas porcinas

tradicionales presentan un color de la carne característicamente más oscuro y rojo que las comerciales. El ejercicio físico favorece la acumulación de pigmentos hemínicos, como adaptación fisiológica para conseguir un mayor metabolismo oxidativo y potencia las coloraciones más rojas (frente a los colores rosados característicos de animales confinados).

En relación a la calidad de la carne y su vida útil, también la raza ejerce un efecto diferenciador, ya que cada raza tiene algunas características únicas (pigmentos, porcentaje de grasa, perfil de ácidos grasos, etc.) que pueden influir en la estabilidad de la oxidación de la carne (Insausti et al., 2008). Esto se observa en el cerdo Ibérico, que a pesar de las diferencia que pueda presentar la forma de producción que tenga, el músculo de esta raza presenta un mayor contenido de mioglobina que otras, lo que da una coloración más oscura (Muriel et al., 2002).

Son varios los autores que han señalado diferencias en el color de la carne **vacuna** debidas al genotipo (Wegner et al., 2000; Insausti et al., 2001, Prieto, 2006). Las razas lecheras poseen un metabolismo muy elevado por lo que presentan una concentración superior de pigmentos que las razas de aptitud cárnica, aunque la estabilidad del color es más baja, debido a que el proceso de oxidación que da lugar a la formación de la metamioglobina es más rápido (Prieto, 2006). Estas diferencias en el color, posiblemente se deban a que las razas rústicas poseen un mayor metabolismo oxidativo del músculo, lo que implica que exista una concentración más alta de mioglobina (Jurie et al., 2004).

Afectará al color aquellos factores que afecten a la proporción de fibras oxidativas que exista en el músculo, tal como puede ser la edad o tipo de músculo (Prieto, 2006).

En cuanto al efecto del sexo sobre el color de la carne, no existe unanimidad entre los resultados de los estudios que se han llevado a cabo al respecto. Parece que las hembras presentan concentraciones de mioglobina más altas que los machos enteros de la misma edad, como consecuencia de la mayor precocidad de las primeras (Prieto, 2006). Por otro lado, son varios los autores que han descrito un color de la carne más oscuro en machos enteros que en castrados

(Monin y Ouali, 1991; Morgan et al., 1993), a pesar de que los niveles de mioglobina fueron similares en ambos tipos de animales. Estos trabajos explican estos resultados a través de una mayor susceptibilidad al estrés de los machos enteros de temperamento más agresivo.

Por otra parte, el grosor de la grasa subcutánea que van adquiriendo los animales conforme crecen, parece ser un aspecto a tener en cuenta cuando se evalúa el color de la carne. En este sentido Page et al. (2001) demostraron que, en canales de ganado bovino con un espesor de grasa subcutánea menor de 0,76 cm, el color de la carne es más oscuro que en aquéllas con una cobertura grasa más gruesa, y atribuyeron este hecho a que las primeras se enfriaban más rápidamente, lo que afecta a la caída del pH y con ello al color.

Por otra parte, largos periodos de enfriamiento de las canales, en cámaras de refrigeración, producen una mayor desnaturalización proteica que puede dar lugar a una carne con un color más claro y de menor estabilidad (Prieto, 2006).

La alimentación también es un factor que puede afectar al color (Soto et al., 2014). Para la grasa subcutánea de las canales de vacuno éste puede variar de blanco, crema, rosado hasta amarillento. El color amarillento se asocia a animales viejos, aunque suele estar más relacionado con el tipo de alimentación (Albertí et al., 2010). Así, Panea et al. (2010), en un estudio en raza Bovina Menorquina, encontraron que el color de la carne era algo más oscuros respecto a lo esperado por el mercado español, lo que posiblemente sea derivado de su alimentación en pastoreo.

### **I.2.9. Grasa intramuscular y subcutáneo**

El término “grasa animal” comprende usualmente todos los tipos de lípidos, incluyendo triglicéridos (los más abundantes), fosfolípidos esteroides, esteres de esterol y otros lípidos si están presentes. La grasa es un componente importante de la canal de los animales de abasto. Comprende el 7-14% del peso en ternero y el 12-20% en cerdo del peso vivo. Los valores inferiores son

generalmente consecuencia de la raza o de criterios comerciales (McKormick, 1994).

Como se vio anteriormente, en la carne, los lípidos están localizados en el tejido adiposo (subcutáneo e intermuscular) y en el tejido muscular (Onega, 2003). En el tejido graso se producen continuamente lipogénesis y lipólisis de manera simultánea, dependiendo del tamaño del adipocito y del equilibrio de ambas, según sea el balance energético del animal, depósito graso, especie, raza y sexo. La grasa intramuscular es una característica que depende cuantitativa y cualitativamente de la alimentación recibida por el animal, ya que éste puede sintetizar grasa a partir de proteínas o hidratos de carbono, puede depositar los ácidos grasos ingeridos sin apenas modificación o puede modificarlos con mayor o menor intensidad, aunque esto varía más o menos según la especie (Nieto, 2009). Por ejemplo, la composición en lípidos de la grasa de **cerdo** está influida por la cantidad de ácidos grasos presentes en la dieta del animal, ya que la mayor parte de los ácidos grasos suministrados por los alimentos no se modifican en el curso de la digestión, sino que son absorbidos y depositados en los tejidos adiposos (Galián 2007).

En cuanto a cómo afecta la cantidad de grasa a la hora de tomar una decisión de compra, quizá el veteado sea el parámetro que mayor influencia tiene. El veteado es la cantidad de grasa visible en la carne, es un factor que influye en la decisión de compra del consumidor, además de los criterios de calidad tales como: el tamaño, la forma, el color, el exudado, la proporción grasa/magro, la textura y el coste por ración. En el punto de venta, la apariencia de la carne de cerdo y vacuno juega un papel importante en comparación con la importancia de la grasa para proporcionar palatabilidad y ternura. Varios autores han demostrado que aquellos consumidores que habían rehusado inicialmente la carne de cerdo con cierto nivel de grasa infiltrado debido a su apariencia, apreciaban sus propiedades sensoriales (ternura, jugosidad y sabor) cuando la consumían (Faucitano, 2007).

Eikelenboom y Hoving-Bolink (1994) indicaron que es preciso que la carne contenga una proporción de grasa intramuscular entre un 2-4% para obtener

una valoración del veteadado que sea apreciada por los consumidores. En la bibliografía se encuentran recomendaciones de que para mantener los atributos de calidad es preciso que la carne contenga al menos un 2% de grasa intramuscular si bien, costumbres gastronómicas de España y la tradición en el procesado de la carne hacen que se prefieran carnes con un contenido superior, aunque no exactamente cuantificado.

El efecto de la raza sobre la calidad de la carne es un hecho evidente, hasta el punto que el hombre comenzó a seleccionar diferentes individuos de una especie para optimizar su rendimiento según el objetivo buscado. Esta variación se debe a la selección que se ha ido haciendo en función de una serie de genes que aportaban o iban relacionados con esas características. Se ha visto que existen diferencias en calidad de carne, incluyendo el nivel de contenido en grasa intramuscular entre razas. Brewer (2002) concluyó en su estudio que la composición genética afectaba el color de la carne, el veteadado, la jugosidad y el sabor. En el caso de los cerdos, podemos ver cómo afecta la raza el contenido graso. Por ejemplo animales con genética Duroc suelen tener altas cualidades comestibles, debido al contenido de grasa intramuscular en comparación con otros cruces (Suzuki et al, 2003). Las diferencias en el veteadado de la carne varían también según la raza y los músculos, en cantidad, estructura y distribución. Razas más rústicas como es el cerdo Ibérico, presentan valores más altos de infiltración grasa que otras razas, tal como demostraron Serra et al. (2008).

Otro de los factores que va a influir en la cantidad de grasa de la carne va a ser el sexo (Alonso et al., 2009). Los animales castrados tienen mayor capacidad de presentar carnes infiltradas que las hembras y los machos enteros. Estas diferencias apreciadas entre sexos varían en función de la raza, edad y la calidad y forma de racionamiento del pienso (Galián, 2007).

La edad de sacrificio influye en el grado de engrasamiento de la canal y de la carne (Fischer et al., 2006), y es por ello, que las razas autóctonas, tales como el cerdo Ibérico, que ya de por sí posee unos niveles superiores de grasa intramuscular (IM) que las razas comerciales (Serra et al., 1998; Wood et al.,

2004), muestran además unas tasas más altas debido a un sacrificio a mayor edad y peso.

Numerosos trabajos demuestran que la dieta afecta al porcentaje de grasa intramuscular y a la composición en ácidos grasos (Edwards, 2005). Wood et al. (2004) además comprobaron que una dieta baja en proteínas incrementa más el engrasamiento de la canal en razas modernas (Large White y Duroc) que en tradicionales (Tamworth y Berkshire); mientras que con una dieta rica en proteínas, las razas modernas aprovechan mejor esa proteína logrando un mayor crecimiento y un menor engrasamiento. Nuernberg et al. (2005), Teye et al. (2006) y Mitchaothai et al. (2007) con dietas enriquecidas con diferentes aceites hallaron diferencias en la composición en ácidos grasos, pero no en el nivel de grasa intramuscular. Finalmente, los niveles de grasa intramuscular se ven también incrementados en los sistemas de explotación en extensivo (Rosenvold y Andersen, 2003a).

En el caso del **vacuno** el metabolismo de las grasas es muy diferente al de los monogástricos. La digestión ruminal de la grasa incluye una fase de hidrólisis o lipólisis y otra de hidrogenación. Estos procesos afectan a la mayor parte de la grasa ingerida, lo que justifica que la grasa de los rumiantes sea en general más saturada que la de los monogástricos. Sin embargo, en algunas circunstancias ligadas a la dieta y al tipo de animal que la recibe, pueden realizarse de forma incompleta. El metabolismo ruminal, por el contrario, modifica en gran medida el perfil de los ácidos grasos de los lípidos que están incluidos en la dieta, disponibles para la absorción intestinal. Al llegar los ácidos grasos insaturados, se produce la biohidrogenación de los mismos, que influye en la digestibilidad de la grasa y es el principal factor que determina el perfil de los SFA de la grasa de los rumiantes (Nafikov y Donald, 2007).

En el caso de los terneros, las diferencias interraciales de la canal son debido a la distinta precocidad en la deposición de grasa según la raza (Berg y Walters, 1983). Esto hace que podamos hablar de razas de diversa aptitud, aunque todas ellas se aprovechan para la obtención de carne, incluso los animales procedentes de razas de aptitud lechera.

Las diferencias entre razas en la calidad de la carne se basa muchas veces en las diferencias de engrasamiento, especialmente en el contenido de grasa intramuscular y a veces de grasa subcutánea. Sin embargo, esta relación no siempre es evidente, ya que Chambaz et al. (2003) al comparar la calidad de la carne de terneros de razas de distinta precocidad (Angus, Simmental, Charolais y Limousin) con el mismo porcentaje de grasa intramuscular (3,2%), hallaron sustanciales diferencias de calidad entre ellas, especialmente en jugosidad y terneza. Dado que la diferente precocidad en la deposición de grasa entre estas razas implica que llegaron al mismo nivel de engrasamiento a edades diferentes, se recomiendan las dietas intensivas para minimizar estas diferencias de edad y disminuir, por tanto, las diferencias de calidad sensorial de la carne.

La raza también influye en el veteado en el ganado vacuno. El ganado vacuno también se ve afectado, la raza Blanco Azul Belga fue la que tuvo menor veteado en la carne, incluso a la edad de 24 meses, que la carne de la raza Angus (Albrecht et al., 2006).

La raza influye también en el tamaño de las fibras musculares y el desarrollo de las células grasas. Así las razas tardías tendrán fibras musculares más finas y menor desarrollo de las células grasas que las razas precoces (Cornforth et al., 1980). Se ha encontrado también que la raza influye en las diferencias en la evolución de la calidad sensorial de la carne con el tiempo de maduración, ya que la carne de las razas rústicas y de doble aptitud necesitan periodos de maduración largos, mientras que las razas especializadas pueden consumirse antes (Campo et al., 1999).

El veteado se ve afectado por el tipo de alimentación, este parece aumentar cuando los animales son alimentados con pienso y heno a voluntad (Salgueiro, 2005). Parece que las únicas modificaciones notables que producen los sistemas de alimentación en la composición química de la carne son el contenido en grasa y humedad, que aumenta y disminuye, respectivamente, con los acabados, ya que el contenido en proteína no varía cuando se analizan independientemente por sexo o por tipo de forraje consumido.

### **I.2.10. Perfil de ácidos grasos**

Los lípidos en la carne son una mezcla compleja de sustancias que se encuentran constituidos por triacilglicéridos (triglicéridos, 90-95%), diacilglicéridos y monoacilglicéridos (diglicéridos y monoglicéridos, 1-2%), ácidos grasos libres (0,5%), fosfolípidos (3-7%) y otros compuestos menores (ácidos grasos libres, ésteres metílicos y etílicos de ácidos grasos, alcoholes, esteroides, vitaminas, tocoferoles, etc.). En principio, se puede considerar que los lípidos tienen poca relación entre sí, porque estructuralmente son muy heterogéneos, sin embargo, derivan de precursores biológicos similares y exhiben características físicas y químicas muy parecidas (Galián, 2007).

La consistencia de la grasa depende fundamentalmente de la proporción de triglicéridos que se encuentran en forma líquida o sólida a una determinada temperatura, es decir, del número de insaturaciones de las cadenas de ácidos grasos que constituyen los triglicéridos. En consecuencia, aquellos con una elevada proporción de ácidos grasos poliinsaturados pueden permanecer líquidos a temperaturas de refrigeración e incluso de congelación. El hecho de que se encuentre solidificada no sólo la grasa de cobertura, sino la inter- e intramuscular, afecta también a la consistencia del magro. Por ello, lo ideal es que la grasa esté sólida a la temperatura de refrigeración a la que normalmente se conserva, expone y manipula la carne fresca (Cañeque y Sañudo, 2005).

En las carnes destinadas a la elaboración de productos cárnicos los problemas asociados a una deficiente consistencia de la grasa son incluso más importantes. Fischer et al. (2006) indican que para la elaboración de productos transformados, el tocino no debe contener más de un 12-14% de ácidos grasos poliinsaturados. En el caso de productos cárnicos crudos curados, una baja consistencia de la grasa produce problemas de manipulación de la carne (picado, perfilado, embutido, etc), oxidación excesiva con aparición de olores y sabores anómalos y coloraciones amarillentas e incluso anaranjadas. Probablemente incluso de mayor importancia, es una ralentización en el proceso de secado porque la grasa fluida impide la migración de agua desde el interior de las piezas (Girard et al., 1984).



En los últimos años, la conciencia del consumidor sobre la importancia que tiene la alimentación sobre la salud, ha hecho que su mirada se enfoque más en la composición de los mismos. Esto hace que en cuanto al perfil de ácidos grasos, se tiende a buscar alimento con un perfil con menor cantidad de grasas saturadas (Bosh et al., 2009).

La cantidad total de ácidos grasos de la carne, varía considerablemente entre todas las especies animales. Por ejemplo, la composición de ácidos grasos (SFA, MUFA y PUFA) de la grasa de cerdo de depósito y separable del magro es similar en ambas (Ramírez, 2004), no siendo así en otras especies, como veremos más adelante.

Además de la especie, la raza también influye al perfil de ácidos grasos. Según el tipo de músculo que predomine en la raza (fibras oxidativas o no oxidativas), éstas tendrán más o menos mitocondrias, las cuales suelen estar asociadas con fosfolípidos formando un complejo. Cuanto mayor sea la cantidad de fosfolípido que posea el músculo, mayor será la proporción de ácidos grasos insaturados que posea (Muriel et al., 2002). Esto explicaría por qué razas tradicionales como el cerdo Ibérico, que posee mayor cantidad de fibras oxidativas (Serra et al., 2008), poseen un perfil de ácidos grasos poliinsaturados mayor que otras razas comerciales, como el Landrace, cuyos porcentaje de fibras musculares glicolíticas es mayor.

La edad también influye en el perfil de ácidos grasos. Esto se debe a que el perfil de ácidos grasos va a estar influido, tanto en monogástricos como en rumiantes, por la proporción de fosfolípidos y grasas neutras. Warren et al. (2008), explica como al principio cuando el animal es joven, la mayor grasa proviene de los fosfolípidos de membrana, que tienen un alto contenido en ácidos grasos insaturados. A medida que el animal crece, esta cantidad es más menos constante, mientras que empieza a desarrollarse en mayor cantidad la producción de las grasas neutras, que son más pobres en ácidos grasos poliinsaturados. Wood et al. (2004) observó cierta diferencia en la raza Duroc, donde los niveles de 18:2 son mayores y los de 18:1 menores de lo esperados, en comparación a otras razas como Large White, Tamworth y Berkshire, por lo que vemos un efecto también

de la genética. Así a medida que el animal crece, la cantidad del esteárico (18:0) y oleico (18:1) aumentan, mientras que la del linoleico (18:2) decrece (Wood et al., 2008). Esto se debe a que a medida que el animal va creciendo, la síntesis *de novo* de ácidos grasos es cada vez mayor (Wood et al., 1984). Esto puede también explicar el hecho de que se haya una correlación negativa entre el grosor del panículo dorsal y la cantidad de 18:2n-6. Por ello la castración también afecta la cantidad de este ácido graso que es mayor en machos enteros que en castrados, los cuales tienen un menor grosor del panículo (Wood et al., 2008).

El perfil de ácidos grasos se va a ver afectado también por el sistema de explotación empleado. Rosenfold y Andersen (2003) indican que la composición en ácidos grasos de la carne de cerdos explotados en extensivo, incluyendo a los de producción ecológica, es más rica en ácidos grasos insaturados comparada con los del sistema intensivo. En cuanto a la distribución corporal de la grasa, se ha visto que la exposición al frío aumenta la deposición grasa en el tejido subcutáneo, además de existir una relación inversa entre la temperatura ambiente y el grado de insaturación de la grasa (Lebret et al., 2002). Además, numerosos trabajos indican que un aumento en los niveles de grasa de la canal o intramuscular va asociado a un aumento en el total de ácidos grasos saturados (AGS) y disminución en ácidos grasos poliinsaturados (AGP) (Galián, 2007).

La composición grasa se ve influida directamente por la alimentación del animal, dependiendo de la cantidad de ácidos grasos presentes en la dieta del animal, aunque esto varía según la especie. En el caso de los monogástricos la mayor parte de los ácidos grasos suministrados por los alimentos no se modifican en el curso de la digestión, sino que son absorbidos y depositados en los tejidos adiposos (Asghar et al., 1990).

En la carne de cerdo, el ácido graso que se encuentra en mayor proporción es el ácido linoleico (Enser et al., 1996). Se trata de un ácido graso esencial y por lo tanto su consumo depende totalmente de la dieta. No es modificado en el estómago, pasando a sangre en el intestino delgado e incorporado a los tejidos (Wood et al., 2008). El segundo en importancia es el ácido linolénico y en cerdos se encuentra en mayor proporción en grasa que en músculo. El ácido

araquidónico tiene también gran importancia y su presencia en el músculo se ve relacionada con una alta incorporación de ácido linoleico.

El producto más común de la síntesis lipídica es el ácido palmítico (C16:0), siendo ejemplo de los ácidos grasos saturados. A pesar de esto, debe haber un límite mínimo de insaturación que permita que el conjunto de los triglicéridos esté fundido a 37° C. Por ello, cuando se aporta una ración carente en absoluto de grasa, la síntesis endógena hace que alrededor del 50-55% de los ácidos grasos sean monoinsaturados

Así, según la alimentación que demos al animal, podremos mejorar la calidad de la misma aplicando diferentes estrategias, ya que cada uno de dichos parámetros pueden estar influenciados por varios. En el caso de la influencia de la alimentación en la grasa, la intensidad del proceso de retención de la misma durante el crecimiento depende del aporte calórico. De forma resumida se puede decir que existe una priorización metabólica en la utilización de las dos principales fuentes de energía de la ración: hidratos de carbono y lípidos. Si se aportan bastantes hidratos de carbono, prácticamente toda la grasa que se consume se depone en los tejidos. Los lípidos principales en los tejidos animales son los ácidos grasos. Dentro de ellos, existen fundamentalmente dos tipos: los esenciales (que se precisan para la vida y no se pueden sintetizar) y los no esenciales (que sí se pueden sintetizar). Los ácidos grasos en los tejidos animales pueden tener doble origen: deposición directa a partir del alimento o síntesis en el animal. En el caso de los animales monogástricos, como el cerdo, en la mayor parte de los casos la grasa que llega al duodeno es prácticamente la misma que la del alimento. Los lugares donde se produce mayoritariamente la síntesis de grasa en los animales son el hígado y el tejido adiposo, siendo éste último el más importante en el cerdo. Por lo tanto, en cerdos alimentados con piensos comerciales, con contenidos grasos limitados (en torno al 2%), la gran mayoría de ácidos grasos de los tejidos del animal son de síntesis propia, mostrando elevados niveles de ácidos grasos saturados y monoinsaturados. En cambio, cuando el contenido graso de la ración es elevado y el perfil de esta grasa es rico en ácidos grasos poliinsaturados, los tejidos del cerdo mostrarán proporciones elevadas de este tipo de ácidos grasos, disminuyendo la de ácidos grasos saturados.

En animales monogástricos la síntesis se lleva a cabo a partir de glucosa obtenida de hidratos de carbono y proteínas de la ración. Aunque existen unos límites máximos y mínimos en la concentración de los ácidos grasos, las posibilidades de modificación de la composición de la grasa son muy marcadas: reducir la proporción de ácidos grasos saturados implica necesariamente utilizar piensos enriquecidos en grasa insaturada que permitan limitar la síntesis endógena, siendo los más utilizados aceites ricos en estos ácidos grasos. Con la inclusión de hasta un 10% de estos aceites, algunos autores han conseguido concentraciones de ácidos grasos monoinsaturados del 60-62% (con un 22-26% de saturados) (Miller et al., 1990).

A diferencia del cerdo, en las carnes de cordero, **vaca y ternera** el contenido de ácidos grasos saturados es más alto en la grasa de depósito que en la grasa separable de magro. Las carne de cordero y vacuno poseen por lo general, elevadas cantidades de ácidos grasos saturados y monoinsaturados, teniendo una mayor cantidad de poliinsaturados la carnes de cerdo, pollo o conejo (monogástricos).

La carne de vacuno también se ve influenciada por la raza. La raza puede influir en la proporción de ácidos grasos. La genética del animal determinará el mayor o menor grado de expresión de ciertas enzimas. Ciertos estudios (Warren et al., 2008) en que se compara el perfil de ácidos grasos en del musculo de terneros Holstein–Friesians frente a Aberdeen Angus, muestran que las primeras tienen un perfil más insaturado, acompañado de una mayor actividad o expresión de las enzimas D5 y D6 desaturadas.

La carne de los terneros de raza Asturiana de los Valles sacrificados a 470 kg presentó mayor relación PUFA/SFA que las razas Parda y Morucha, que presentaron una menor relación n-6/n-3 pero un elevado contenido en C22:6 n-3. Las razas Pirenaica y Retinta presentaron valores intermedios entre los dos grupos de animales (Insausti et al., 2004). Estas variaciones entre razas estarían relacionadas en primer lugar con el número de adipocitos, ya que las razas tardías como la Asturiana de los Valles y la Rubia Gallega, acumulan menos grasa dado

que los tienen en menor número por una menor hiperplasia (Alzón et al., 2007). A su vez, se relacionaría con la distinta proporción de los componentes del adipocito. Así en el tejido adiposo, las membranas celulares están compuestas por fosfolípidos, que contiene altas proporciones de ácidos grasos poliinsaturados y en su interior se acumulan los lípidos neutros o triglicéridos, que son ricos en ácido oleico, palmítico y esteárico (Wood et al., 2008).

A diferencia de los cerdos que incorporan directamente los ácidos grasos en el organismo, los rumiantes llevan a cabo un proceso de transformación. Aún así es posible también modificar el perfil de ácidos grasos de los rumiantes a través de la dieta. Por ejemplo, se ha visto como la alimentación con hierba consigue aumentar los niveles de CLA (ácido linoleico conjugado) tanto en leche como en carne (Realini et al., 2004) o de aceite de pescado y lino aumentar la serie omega 3 PUFA de la carne (Wood et al., 2003). Aún así, ciertas estrategias quizás van encaminadas a proteger el proceso de biohidrogenación, con lípidos encapsulados, con tratamiento de formaldehído (Ashes et al., 1992) o incluso alimentar con una dieta basada sobretodo en concentrados, donde disminuir el efecto de la transformación de lípidos (Wood et al., 2008). En recientes estudios se ha visto el efecto que tiene añadir ciertos subproductos, como el glicerol, para modificar la flora ruminal responsable de este proceso (Edwards et al., 2012)

### **I.2.11. Características sensoriales**

El análisis sensorial es la disciplina científica que permite medir, de forma objetiva y reproducible, las características de un producto mediante los sentidos. A través del análisis sensorial se puede obtener valiosa información, de cara a conocer las características del producto. El análisis sensorial no es un mero complemento, sino una de las bases fundamentales para un sistema de aseguramiento de la calidad, ya que no existe medida instrumental que pueda reemplazar las percepciones del ser humano (Basso et al., 2009). Los parámetros más utilizados en el análisis sensorial de la carne vienen resumidos en la **Tabla 2**.

**Tabla 2.** Parámetros utilizados en el análisis sensorial

<b>Parámetro</b>	<b>Definición</b>	<b>Bibliografía</b>
<b>Olor</b>	Sensación percibida por medio del órgano olfatorio al oler ciertas sustancias volátiles.	ISO 5492: 2008
<b>Textura</b>	Propiedad sensorial de los alimentos que es detectada por los sentidos del tacto, la vista, el oído, y que se manifiesta cuando el alimento sufre una deformación.	Scott-Blair, 1976; Brennan, 1980; Bourne, 1982; Anzaldúa-Morales, 1994
<b>Flavor</b>	Conjunto de impresiones olfativas y gustativas provocadas en el momento del consumo. Este término engloba el olor del alimento, ligado a la existencia de compuestos volátiles, y el sabor, que tiene su origen en algunas sustancias solubles	Patterson, 1975
<b>Color</b>	La sensación resultante de estimular la retina por las ondas luminosas comprendidas en la región visible del espectro. Otros atributos relacionados con el color son el tono, la saturación de un color y la luminosidad.	Onega, 2003

### *Tipos de pruebas*

En líneas generales, se pueden establecer dentro del análisis sensorial dos tipos de pruebas, afectivas y analíticas. Las **pruebas afectivas** evalúan el grado de aceptación y preferencia de un producto bajo el criterio de los catadores. Los catadores son consumidores no entrenados en la descripción de preferencias, que se basan en su estimación personal. En este grupo distinguimos las pruebas de preferencia, de grado de satisfacción y las de aceptación (Teruel, 2011).

Dentro de las **pruebas analíticas** distinguimos dos tipos: las pruebas discriminatorias y las descriptivas. En las pruebas **discriminatorias** se desea establecer si existe diferencia o no entre dos o más muestras y, en algunos casos, la magnitud de esa diferencia. Este tipo de pruebas son muy utilizadas en el control de calidad para evaluar si las muestras de un lote están siendo producidas con una calidad uniforme, si son comparables con muestras de referencia, etc. En las pruebas discriminatorias sencillas pueden utilizarse jueces semientrenados; sin embargo, para pruebas más complejas es preferible utilizar jueces entrenados (Onega, 2003). Podemos distinguir prueba de comparación por parejas, prueba dúo-trío y prueba triangular.

Las pruebas **descriptivas** son las que permiten describir, comparar y valorar las características de las muestras en función de unas categorías o tipos (patrones) definidos previamente y tienen un carácter típicamente analítico. En este tipo de pruebas se pretende definir las propiedades del alimento y medirlas lo más objetivamente posible. Dentro de esta podemos destacar dos, la primera el **perfil descriptivo**, que es una técnica altamente descriptiva, basada en los juicios emitidos por un grupo de catadores seleccionados y extensamente entrenados, los cuales trabajan en equipo hasta alcanzar un consenso, por lo que este método no permite el análisis estadístico (Guerrero y Guardiola, 1999).

El segundo es el **análisis descriptivo cuantitativo (QDA)**, es una técnica de caracterización de atributos sensoriales en términos cuantitativos según su orden de aparición. Normalmente cada panelista realiza una serie de medidas repetidas sobre el mismo producto empleando una escala lineal no estructurada, anclada en ambos extremos o escalas de intervalos. En los métodos anteriores la cuantificación definitiva del perfil se realiza por consenso entre los catadores; en este caso se realiza un análisis estadístico de los resultados, evitando así la presión del grupo para alcanzar un consenso. Los resultados suelen expresarse en forma de gráficas radiales, en las que cada eje representa un atributo (Onega, 2003).

### *Escalas*

Para la representación cuantificación de la respuesta de los catadores a los diferentes estímulos se utilizan escalas, las cuales pueden ser de dos tipos: estructuradas y no estructuradas. Dentro de las estructurales distinguimos las siguientes:

*Escalas nominales:* en las escalas nominales, los números se asignan como meras etiquetas por lo que dichos números no reflejan ningún orden, ni prioridad, ni proporción entre los eventos. Por ejemplo, para identificar características olfativas de salsas de tomate, los panelistas pueden utilizar una escala nominal en que el número 1 = a fruta, 2 = dulce, 3 = picante y 4 = ácido. Los panelistas escriben el número correspondiente a cada característica de olor presente en cada muestra y el encargado del panel tabula la frecuencia en que aparecen las diferentes características para cada muestra. Luego, los productos se comparan observando la frecuencia de cada característica de olor en cada muestra.

*Escalas ordinales:* los números se asignan para reconocer el orden de los productos en relación con algún atributo sensorial. Por ejemplo, una serie de cinco muestras de sopa de pollo podría ordenarse atendiendo a su contenido de sal, asignando el número 1 a la sopa más salada y el 5 a la menos salada.

*Escalas de intervalos y proporcionales:* en estos dos tipos de escalas, los números representan cantidades reales, y permiten concluir no sólo sobre el orden, sino que también proporcionan datos sobre la magnitud de la diferencia entre productos. La diferencia entre estos dos tipos de escalas reside en el tipo de cero empleado. En las escalas proporcionales, el número cero es real: representa la ausencia total del atributo o característica evaluados. Por ejemplo: 0- ausencia de olor extraño, 10- máximo de olor extraño.

Sin embargo, en las escalas de intervalos, el cero es relativo, no representa la ausencia total. Corresponde a una escala en la cual no existen puntos extremos como el caso anterior, sino una serie de puntos intermedios. Las escalas de intervalo suelen constar de 3, 4, 5, o más puntos. Es importante ofrecer a los



jueces una descripción de cada uno de los puntos de la escala. Por ejemplo: 1- Ligeramente duro; 2- Moderadamente duro, 3- Bastante duro, 4-muy duro.

Dentro de las escalas no estructuradas se encuentra la *escala gráfica lineal* (perteneciente a la categoría de escalas de intervalos) consiste en una recta horizontal de dimensiones conocidas, donde el panelista identifica en una línea continua su evaluación sin parámetros de referencia diferentes a los extremos (Westada et al., 2003).

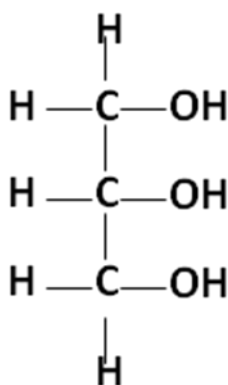
### **I.3. El glicerol**

Tal como se ha visto en los primeros apartados, la producción de carne, tanto de cerdo como de ternera, tiene gran importancia, no sólo a nivel de España, sino también a nivel mundial. Teniendo en cuenta que dentro de la Producción Animal los gastos en alimentación rondan un 70% del total, el hecho de rebajar el coste de la producción implica un gran interés para el ganadero. Los cereales se ven en repetidas ocasiones ligados a las variaciones del mercado, elevando su precio, repercutiendo así directamente en la producción de carne. Teniendo en cuenta esto, y las últimas tendencias a tener en cuenta que poco a poco la sociedad cada vez tiene una mayor conciencia en temas de medio ambiente y desarrollo se actividades sostenibles, se ha comenzado a estudiar la posibilidad del aprovechamiento de subproductos en la alimentación animal. Entre ellos se encuentra la glicerina bruta, que por su parte, puede resultar económicamente rentable frente a los cereales (Linares et al., 2014). Teniendo en cuenta, la importancia que tiene la alimentación en la calidad final de la carne, y la importancia que ésta tiene sobre la decisión final del consumidor, se explicará a continuación el origen de éste subproducto, su metabolismo e implicación en los parámetros de calidad del producto final.

#### **I.3.1. Características y obtención del subproducto**

El biodiésel es un combustible renovable, que se presenta como una alternativa al diésel tradicional, no renovable. Se obtiene de la esterificación de lípidos naturales de aceites vegetales y grasa animal, siendo los más comunes

semillas de colza, soja y girasol, aceite de colza, soja o palma, de aceites de fritura y de grasa de pollo (Mateos, 2007). En dicha reacción el glicerol de la molécula de triglicérido es sustituido por un alcohol primario o secundario, como puede ser el metanol principalmente, pero también etanol, butanol y amil alcohol, dando origen a un metiléster (biodiésel) y obteniendo como subproducto el glicerol o glicerina. Para acelerar esta reacción, muchas veces se utilizan catalizadores, como el NaOH, que se disuelve fácilmente en metanol (Ma y Hanna, 1999).



**Figura 7.** Estructura molecular del glicerol

El glicerol sin refinar tras su obtención, está formado además de por glicerol y una pequeña cantidad de agua, por metanol y sales, en diferente proporción, según su nivel de pureza. Se trata de un producto viscoso, translúcido, de color caramelo claro (aunque este punto depende de su pureza), de sabor dulce y con propiedades antisépticas. Está registrada en la Unión Europea como el aditivo E-422 [Reglamento (UE) 257/2010 de la Comisión de 25 de marzo 2010)]. Según Lammers et al. (2007), por cada litro de biodiésel que se produce se pueden obtener 79 gramos de glicerol.

Dada la gran variabilidad de materia prima a partir de la cual se puede obtener el biodiesel, la composición de glicerol obtenido puede variar bastante en rango de 78-85% de glicerol, 8-15% de agua, 2-10% de sal (NaCl o KCl), 0,5% ácidos grasos libres y  $\leq 0,5\%$  metanol (Kerr et al., 2007a).

La demanda de productos petrolíferos, excluyendo los consumos propios de refinerías y pérdidas, alcanzó 67 millones de toneladas en 2009 (MICYT,

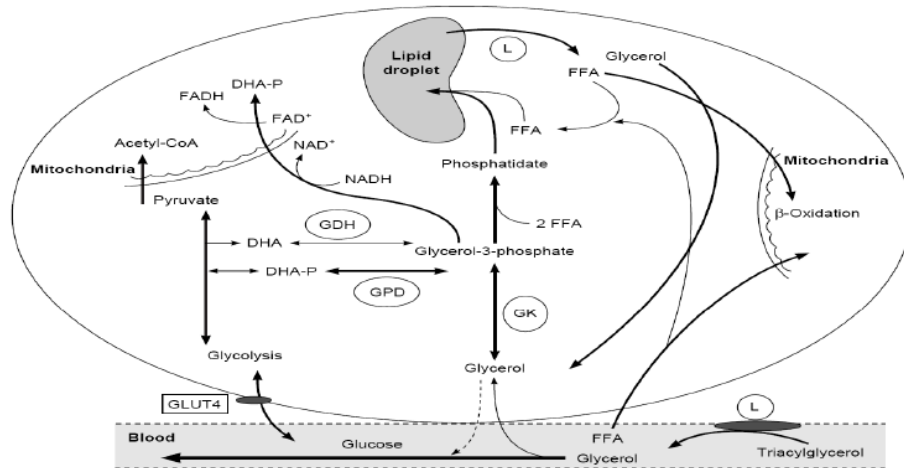
2009) y si tenemos en cuenta además que es objetivo de la UE sustituir el 5,7-10% del combustible tradicional entre el 2010-2020, debido al aumento del calentamiento global en los últimos años, es fácil suponer que dispondremos de un gran excedente de este producto.

El glicerol, además de un subproducto del biodiésel, es un componente de los triglicéridos de animales y plantas, siendo su forma comercial pura la glicerina (Pluske, 2007). El glicerol cuenta con ciertas ventajas, tiene una buena absorción y es un producto palatable, ya que tiene un sabor dulce, lo que favorece el consumo de los animales.

La composición media de la glicerina obtenida en las plantas de la elaboración del biodiésel es de un 80-85% (aunque puede bajar hasta el 60%), 10% de agua, un 3-7% de sales (Schröder y Südekum, 1999) e incluso se pueden encontrar cantidades apreciables de metanol en glicerinas de baja pureza. Las glicerinas destinadas a la alimentación animal deberían contener más de un 80% de glicerol y menos de 0,5% de metanol.

### **I.3.2.1. Metabolismo del glicerol en monogástricos**

Una vez que el glicerol es consumido por el animal, pasa a ser digerido de igual manera que el glicerol que se encuentra en los triglicéridos de los nutrientes. Después de la digestión, más del 97% del glicerol es absorbido a nivel del intestino (Kerr et al., 2007b). Una vez ingerido, el glicerol es absorbido mediante transporte activo, mediado por Na<sup>+</sup> en estómago e intestino delgado (Kato et al., 2004, Schields, 2009). Una vez absorbido, puede ser convertido a glicerol-3-fosfato para ser transformado en glucosa vía gluconeogénesis u oxidado para la obtención de energía vía glicolisis y el ciclo del ácido cítrico, teniendo lugar estos procesos en gran parte en el hígado y riñón (Mourot et al., 1994)



**Figura 8.** Metabolismo del glicerol en monogástricos (Kerr et al., 2007b)

Estudios realizados con lechones, estiman el contenido en energía metabolizable (EM) de glicerina de diferente pureza en cerdos de 10 kg de peso vivo, observando un rango de variación entre 2,5 y 5,2 Kcal/kg en función de su contenido en glicerol, metanol y ácidos grasos libres (Lammers et al., 2008b; Kerr et al., 2009). Estos autores concluyen que la glicerina es una fuente energética interesante pero que depende de su grado de pureza, siendo su valor EM como media un 85,4% de su energía bruta en lechones.

En cuanto a lo relacionado con los efectos en la salud de los animales, debemos añadir que el glicerol contiene restos de metanol, utilizado en la obtención del biodiésel, el cual puede tener efectos tóxicos en los animales (Dorman et al., 1993). Por tanto las glicerinas destinadas a consumo animal deberán tener menos de un 0,5% de metanol.

El metanol puede ser tóxico para los animales, se recomienda (Food and Drug Administration states) que el nivel debería ser menor a 150 ppm en alimentación animal. La ventaja de este producto es que tiene un punto de evaporación bajo (65°C), por lo que si el pienso se transforma en pellet, éste se perderá durante el proceso (Pluske et al., 2007).

Respecto al contenido en sales, debe ser conocido para ajustar el balance electrolítico de la ración y evitar excesos que puedan ser perjudiciales para el animal, provocando diarreas, problemas de camas húmedas, etc.

### **I.3.2.2. Metabolismo del glicerol en rumiantes**

En la actualidad no se sabe con exactitud el metabolismo ruminal del glicerol pues aunque hay varios trabajos, estos no son concluyentes. Aún así, lo que podemos decir es que al llegar a rumen el 13% pasa al tramo posterior, un 44% es fermentado y un 43% es absorbido a través del epitelio ruminal (Krehbiel, 2008). Kristensen y Raun (2007) administraron intraruminalmente 925 gramos de glicerol en vacas y observaron que sólo el 10% era recuperado en sangre portal, siendo éste transformado a glucosa en hígado con una eficiencia del 100%, presumiblemente el resto del glicerol fue fermentado en rumen.

La fermentación ruminal del glicerol es otro punto de discusión entre los autores. Al consumir glicerol parece que se produce una bajada en la proporción molar del ácido acético y un aumento del ácido propiónico (Johns et al., 1953, Garton et al., 1961). Aunque en estudios posteriores se observa un comportamiento similar, también encuentran un aumento en la producción de ácido butírico (Remond et al., 1993, Schröder y Südekum, 1999, DeFrain et al., 2004; Trabue et al., 2007, Wang et al., 2009). Aún así, Trabue et al., (2007) describió que el metabolismo del glicerol es del 80% después de 24 horas, resultando en un ratio acetato:propionato menor ( $P < 0,05$ ) (Schroder y Südekum, 2007).

Estudio de fermentaciones *in vitro* del glicerol sugieren que especies de *Selenomonas* son las principales responsables de su fermentación, siendo los principales productos de la misma el propionato, lactato, succinato y acetato. También se ha sugerido que los microorganismos se adaptan a la alimentación con glicerol. En el caso del glicerol crudo se ha visto que puede producir un disminución de la ingesta media diaria (IMD) cuando se incluye al 10% en dietas que contenían maíz y productos de destilería, pero la ganancia media diaria (GMD) estaba aumentada, resultando en aumento de la eficiencia del 16 al 23%

comparada con las dietas sin glicerol. Además, se vieron mayores mejoras en las dietas que contenían una mayor cantidad de almidón (Drouillard et al, 1986).

Incluso algunos estudios han observado que el uso de 200 g/animal/día de glicerol puede modular los microorganismos o enzimas del tracto digestivo de los rumiantes mejorando la digestibilidad de los nutrientes (Wang, 2009).

### **I.3.2.3. Efecto del glicerol en la calidad de la carne de cerdo**

El glicerol es un producto que comenzó a utilizarse como alternativa a otros cereales en el pienso animal, lo que aumentó el interés por sus posibles efectos en la calidad de la canal y de la carne. Trabajos anteriores indican que añadir glicerol a la dieta no afecta al porcentaje magro en los filetes, humedad y el porcentaje de grasa en los filetes (Mourot et al., 1994; Kijora et al., 1995; Kijora and Kupsch, 1997; Lammers et al, 2008a; Schieck et al., 2010; Hanczakowska et al., 2010).

Por sus características como precursor de la glucosa, varios estudios han investigado el uso del glicerol como una forma alternativa de energía para evitar defectos en diferentes parámetros de calidad de la carne, por ejemplo el pH. Así, Mourot et al. (1994), encontraron un aumento en el pH final de cerdos alimentados con glicerol. Sin embargo, estudios posteriores de Della Casa et al. (2009), Schieck et al. (2010); Hanczakowska et al. (2010) no encontraron diferencias entre el valor de pH de la carne de animales alimentados con glicerina y animales control. Ciertos estudios plantean que estas diferencias se deban al nivel de estrés inicial de los animales, aunque no hay resultados claros en este sentido (Mendoza et al., 2010).

Por lo que respecta a las pérdidas de agua en la carne, no queda claro el efecto que este producto tiene sobre este parámetro. El glicerol en algunos estudios ha tenido un efecto reduciendo las pérdidas por goteo (Della Casa et al., 2009) o de cocción (Mourot et al., 1994). Sin embargo otros autores como Lammers et al. (2008a), Kijora y Kupsch (2006) y Airhart et al. (2002) no observaron efecto alguno.

En relación al efecto de la glicerina sobre el perfil de ácidos grasos, los resultados mostrados por diversos autores Mourot et al. (1994), Kijora et al. (1997), Lammers et al. (2008a) son bastante heterogéneos por lo cual, no puede concluirse si hay efectos o no en la glicerina sobre los ácidos grasos, ni sobre cuáles de ellos.

Finalmente, los datos en análisis sensorial, son bastante escasos teniendo en cuenta la importancia que este posee en el consumidor final. Sólo algunos autores como Lammers et al. (2008a), Della Casa et al. (2009), o Schieck et al. (2010) ha incluido en sus estudios este parámetro de estudio, siendo diferentes los resultados encontrados. Mientras que Lammers et al. (2008a) y Schieck et al. (2010) no encuentran un efecto en la adición del glicerina en la dieta de los cerdos, Della Casa et al. (2009), si parecen encontrar pequeñas variaciones.

Dentro de toda esta variedad de estudios, hay que añadir que la mayoría de ellos están hechos utilizando razas comerciales como Large White (Mourot et al., 1994, Cerneau et al., 1994), Large White x Landrace (Hansen et al., 2009) o Polish Landrace x Duroc x Pietrain (Hanzakowska et al., 2010), todas razas con un peso de sacrificio que ronda entre los 100 y los 110 kg. Son escasos los estudios como el de Della Casa et al. (2009), en el que se utiliza un raza mucho más rústica, donde los tiempos de cebos son más lentos y prolongados, y los pesos de sacrificio son superiores (160 kg), lo que puede afectar de manera diferente a la calidad de la carne.

#### **I.3.2.4. Efecto del glicerol en la calidad de la canal y carne de vacuno**

En general, los trabajos realizados señalan un escaso efecto de la glicerina, si bien muestran discrepancia con respecto a ciertos parámetros. En principio, el glicerol utilizado en alimentación animal, debe aportar la energía necesaria para un desarrollo normal del animal, y en consecuencia un calidad de la canal y de la carne.

Estudios previos (Mach et al., 2008a y 2008b) en toros de raza Holstein, sustituyendo con glicerol hasta un 12% de la dieta, no afectó los parámetros de peso de la canal caliente, rendimiento en la canal, y espesor del tocino dorsal. Tampoco encontraron diferencias en el contenido de grasa intramuscular en el músculo *Longissimus dorsi*. Barton et al. (2013) añadieron hasta un 10% de glicerol, no encontrando un efecto en los parámetros de calidad de la canal, aunque sí un aumento en la grasa. Parsons et al. (2009), en un estudio en terneros mestizos alimentados durante 85 días con varias dosis de glicerol, encontraron un óptimo uso hasta 8% de glicerol, el cual produce un aumento en el peso vivo final, y en consecuencia peso de la canal, aunque estas mejoras fueron acompañadas con una disminución de la grasa en canal.

Incluso estudios como los de Gunn et al. (2011) se han planteado la utilización de este subproducto (glicerol) en combinación de otros, tal como son los DDGS (granos secos de destilería con solubles), que poseen ciertos defectos nutricionales, con la finalidad de compensarlos. En un estudio con terneros cruce con Angus, alimentados durante 160 días, encontrando una mejora en los parámetros de calidad de la canal y la carne al utilizar 30% DDGS junto con un 15% de glicerina.

En cuanto a la calidad de la carne, los resultados siguen presentando cierta variabilidad. Algunos de ellos, tal como la composición proximal, capacidad de retención de agua y el color no parecen verse afectados por la inclusión de glicerina en la dieta (Mach et al., 2008a y b, Françoza et al., 2013, Eiras et al., 2014). En el caso del pH, varios estudios han centrado sus objetivos en observar cómo el glicerol, por ser precursor de la glucosa tal como se ha explicado anteriormente, puede ser una alternativa para prevenir las carnes DFD. En este sentido, se han encontrado diversos resultados. Por un lado, Parker et al. (2007) en un estudio donde se somete a un transporte y ayuno prolongado a un grupo de animales *Bos indicus*, aquellos animales a los que se les administra glicerol presentan niveles más altos de glucosa. Sin embargo, en estudios posteriores donde se administra glicerina cruda a un grupo de toros no se ve un efecto sobre el pH, tal como se esperaba (Mach et al., 2008b).



En cuanto al perfil de ácidos grasos, existe también discrepancia en cuanto al efecto que la dieta puede tener sobre éstos. Estudios *in vitro* han puesto de manifiesto la capacidad del glicerol de inhibir los procesos de biohidrogenación en el rumen (Edwards et al., 2012). Sin embargo, aunque si se refleja cierta tendencia a un perfil de grasa más insaturada en aquellos animales que consumen glicerol, no siempre son los mismos ni en las mismas proporciones (Françoze et al., 2013, Carvahlo et al., 2014). Teniendo en cuenta la importancia de los ácidos grasos en la dieta humana, sería interesante desarrollar más estudios en este sentido.

En cuanto al análisis sensorial, son escasos los datos encontrados, siendo el único estudio encontrado el de Eiras et al. (2014), quienes realizan un estudio en toros que son alimentados con hasta un 18% de glicerina cruda. Aún así, no encuentran diferencias en los parámetros de flavor y terneza estudiados.

Dada la escasez de estudios y la variabilidad de los mismos, se plantea la realización del presente trabajo teniendo como objetivos los siguientes:

**Objetivo general:**

Estudiar el efecto de la inclusión de glicerina cruda en la dieta de los animales (cerdo, vacuno) sobre los parámetros de calidad de la canal y de la carne.

Par llevar a cabo este objetivo general, se proponen los objetivos específicos descritos a continuación:

1. Estudiar el efecto de la inclusión de glicerina cruda en la dieta de cerdos blancos (Large White x Landrace) y cerdo Ibérico (Ibérico x Duroc) sobre la calidad de la canal y de la carne.

2. Estudiar el efecto de la inclusión de glicerina cruda en la dieta de terneros (Limousin) sobre los parámetros productivos, de calidad de la canal y de la carne.

3. Estudiar el efecto de la inclusión de glicerina cruda en el agua (vía sonda nasogástrica vs agua de bebida) contemplando su posible uso profiláctico en terneros (Limousin) administrado 24 horas antes del sacrificio, de cara a mejorar la calidad de la carne.





*Capítulo II*

**Metodología**



## II.1. ANIMALES, SISTEMA DE PRODUCCIÓN Y MANEJO.

Todos los procedimientos que se llevaron a cabo con los animales utilizados en el presente trabajo fueron aprobados por el Comité Ético de la Universidad de Murcia según las normas sobre protección utilizadas para experimentación animal nacionales y europeas (Directiva 86/609/CEE modificada por 2003/63/CE y ley 32/2007, de 7 noviembre).

El sacrificio de todos los animales se realizó según la legislación vigente, de acuerdo a las especificaciones detalladas en el Real Decreto 640/2006 sobre higiene y sanidad de los alimentos y el Real Decreto 54/1995 del 20 de enero, sobre la protección de los animales en el momento de su sacrificio (B.O.E. nº39 de 15/2/95, modificado por RD 731/2007, de 8 de junio).

Se llevaron a cabo cuatro trabajos experimentales diferentes que se desarrollaron tal y como se explica a continuación.

### II.1.1. Ensayo I

Se utilizaron un total de 60 cerdos machos castrados ( $30,7 \pm 0,02$  kg;  $80 \pm 3,5$  días), cruce Large White x Landrace, que se dividieron al azar en tres grupos de 20 animales cada uno, y se le administró un pienso con diferente nivel de glicerina cruda (Abengoa Bioenergy, San Roque, Cádiz, España) en sustitución del maíz:

**C:** grupo control, pienso sin glicerina cruda.

**G2,5:** pienso con un 2,5 % de glicerina cruda.

**G5:** pienso con un 5 % de glicerina cruda.

Se alimentaron durante 82 días, hasta llegar a un peso de sacrificio de  $94 \pm 3,3$  kg peso vivo. Se aplicó un programa de alimentación en dos fases: crecimiento y acabado, utilizándose un total de 6 piensos, dos lotes de pienso para cada tratamiento (**Tabla 3**). La administración de agua y pienso fue *ad libitum* a lo largo de toda la prueba que se desarrolló en una granja perteneciente a la

empresa SAT N° 2.439 – ALIA, ubicada en Lorca. Los animales se sacrificaron en el matadero “La Comarca”, situado en Lorca, Murcia.

### II.1.2. Ensayo II

Se utilizaron un total de 90 cerdos cruce Ibérico x Duroc (45 machos y 45 hembras) de la granja Sánchez Morales (Murcia, España). Los animales fueron criados bajo régimen intensivo. En la fase de crecimiento los animales fueron manejados de acuerdo a un sistema de cría comercial y recibieron las mismas dietas estándar (25–100 kg peso vivo) conteniendo 160 g de proteína cruda y 9,5 MJ de energía neta por kg de pienso (FEDNA, 2006). Los animales ( $95,9 \pm 3,1$  kg y 6-7 meses) fueron agrupados por sexo y luego divididos aleatoriamente en tres grupos:

**C:** grupo control, pienso sin glicerina cruda.

**G5:** pienso con un 5% de glicerina cruda.

**G10:** pienso con un 10% de glicerina cruda.

La glicerina cruda (Abengoa Bioenergy, San Roque, Cádiz, España) obtenida de la producción de biodiesel, parcialmente refinada, se incluyó en sustitución de trigo. Las dietas (**Tabla 4**) fueron formuladas para contener 9,8 MJ NE y 130 g de proteína cruda por kg (FEDNA, 2006) y fueron administradas *ad libitum* durante 74 días.



**Tabla 3.** Ingredientes y composición de los piensos experimentales utilizados para el cebo de cerdos Large White x Landrace, con tres niveles diferentes de glicerina cruda (0, 2,5 y 5%)

	Dieta cebo <sup>a</sup>			Dieta finalización		
	Glicerina cruda, %			Glicerina cruda, %		
	0	2,5	5	0	2,5	5
<i>Ingredientes (g/100 g de pienso)</i>						
Cebada	30,8	30,8	30,5	38,5	38,1	37,4
Trigo	30,0	30,0	30,0	25,0	25,0	25,0
Harina de soja, 47% PC <sup>c</sup>	17,0	17,4	18,1	15,0	15,5	16,1
Maíz	15,0	12,5	10,0	15,0	12,5	10,0
Manteca	3,70	3,59	3,51	3,02	3,05	3,10
Glicerina cruda <sup>c</sup>	-	2,50	5,00	-	2,50	5,00
Carbonato de calcio	1,16	1,15	1,15	1,31	1,55	1,54
Fosfato monocálcico	0,46	0,46	0,46	0,49	0,49	0,49
Bicarbonato sódico	0,39	0,20	-	0,38	0,18	-
Cloruro sódico	0,30	0,20	0,15	0,40	0,20	0,40
VTM premezcla <sup>d</sup>	1,10	1,10	0,11	0,90	0,90	0,90
<i>Composición (g/100 g de pienso)<sup>e</sup></i>						
EM, MJ kg <sup>-1</sup>	13,5	13,5	13,5	13,5	13,5	13,5
Materia seca	88,6	88,7	88,8	89,0	89,1	89,2
Cenizas	4,68	4,63	4,62	4,92	5,01	5,24
Extracto de éter	5,75	5,56	5,39	5,00	5,00	5,00
Fibra detergente neutra	11,7	11,5	11,3	12,0	11,8	11,5
Ácido linoleico	1,24	1,18	1,13	1,14	1,10	1,06
Lys ileal digestible, g kg <sup>-1</sup>	0,95	0,95	0,95	0,79	0,79	0,79

<sup>a</sup> Dieta cebo: 80-125 d<sup>b</sup> Dieta finalización: 125-162 d<sup>c</sup> Composición química: glicerol total, 86,66%; metanol, 0,0038%; humedad, 7,50%; cenizas, 5,88%; cloro, 3,06 %; calcio, 0,0040%; sodio, 2,005%; potasio, 0,0526%.<sup>d</sup>VMT: vitaminas y minerales traza; Proporcionado (por kg de dieta completa): 6,0 y 4,9 g de L-lisina 50, 0,9 y 0,2 g de L-treonina y 0,7 y 0,3 g de DL-metionina para pienso de cebo y acabado, respectivamente; 8000 IU de vitamina A; 1100 IU of vitamina D<sub>3</sub>; 20 IU of vitamina E; 1 mg of vitamina K<sub>3</sub>; 1 mg of vitamina B<sub>1</sub>; 3 mg of vitamina B<sub>2</sub>; 1 mg of vitamina B<sub>6</sub>; 0,015 mg of vitamina B<sub>12</sub>; 17 mg of niacina; 10 mg de ácido pantoténico; 0,08 mg of biotina; 0,02 mg ácido fólico; 50 mg colina; 50 mg Mn; 0,5 mg I; 90 mg Zn; 10 mg Cu; 90 mg Fe; y 0,3 mg Se; 10 IU endo-1,4-beta-xylanase (CE 3,2,1,8) de *Bacillus subtilis* (LMG s-15136).<sup>e</sup>Según FEDNA (2003).

PC: proteína cruda; EM: energía metabolizable.

**Tabla 4.** Ingredientes y composición de los piensos experimentales utilizados para el cebo de cerdos Ibérico x Duroc, con tres niveles diferentes de glicerina cruda (0, 5 y 10%)

	<b>Dieta<sup>a</sup></b>		
	<b>G0</b>	<b>G5</b>	<b>G10</b>
<i>Ingredientes (%)</i>			
Cebada	45,0	45,0	45,0
Trigo	34,5	27,5	20,7
Salvado de trigo	11,8	12,0	12,0
Harina de soja, 470g CPkg <sup>-1</sup>	6,13	7,65	9,19
Glicerina cruda <sup>b</sup>		5	10
Grasa animal	0,50	0,50	0,50
Cloruro de sodio	0,35	0,30	0,25
Carbonato cálcico	1,13	1,43	1,78
Fosfato monocalcico	0,32	0,32	0,33
VTM premezcla <sup>c</sup>	0,30	0,30	0,30
<i>Análisis calculado<sup>d</sup></i>			
Energía neta (MJ kg <sup>-1</sup> )	9,80	9,80	9,80
Proteína cruda	13,0	13,0	13,0
Grasa cruda	2,53	2,44	2,35
Lisina total	0,547	0,558	0,583
Ácido Palimítico	0,397	0,384	0,369
Ácido oleico	0,420	0,412	0,403
Ácido linoleico	0,831	0,795	0,757
Ácido linolénico	0,082	0,080	0,078

<sup>a</sup> G0, 0% crude glycerine; G5, 5% crude glycerine, G,10 10% crude glycerine.

<sup>b</sup> Glicerol 86,6%, metanol 0,003%, humedad 7,50%, 5,88% cenizas, cálcico 0,004%, sodio 2,00%, potasio 0,052%, cloro 3,06% (Abengoa Bioenergy, San Roque, Cádiz, España).

<sup>c</sup>VMT: vitaminas y minerales traza; Compuesto por (por kg de deta completa): 7000 IU vitamina A; 1500 IU vitamina D3; 20 mg vitamina E; 4 mg vitamina B2; 1,5 mg vitamina B6; 0.020 mg vitamina B12; 20 mg niacina; 8 mg pantotenato de calcio; 100 mg cloro; 75 mg óxido de zinc; 40 mg de óxido de manganeso (II); 75 mg sulfato de hierro heptahidratado; 12 mg sulfato cúprico heptahidratado; 0,15 mg selenito de sodio; 1 mg iodato de potasio; 0,1 mg carbonato básico de cobalto monohidratado; 500 FTU de fitasa (EC 3.1.3.8)

<sup>d</sup>FEDNA (2010).

**Tabla 6.** Ingredientes y composición de los piensos experimentales utilizados para el cebo de toros jóvenes Limousin, con tres niveles diferentes de glicerina cruda (0, 2 y 4%).

	Dieta		
	G0	G2	G4
<i>Ingredientes, % MF</i>			
Cebada	42,7	40,3	38,0
Maíz	30,0	30,0	30,0
Gluten feed	16,0	16,0	16,0
Harina de soja 47% PB	4,30	4,75	5,25
Aceite de palma	2,85	2,75	2,60
Glicerina >80% <sup>a</sup>	--	2,00	4,00
Carbonato cálcico	1,70	1,70	1,70
Urea	0,50	0,50	0,50
Sal	0,35	0,35	0,35
Bicarbonato sódico	0,45	0,45	0,45
Magnesio óxido 50-51% Mg	0,15	0,15	0,15
ECONBEEF 1% <sup>b</sup>	1,00	1,00	1,00
<i>Precio (euros/kg)</i>	<i>0,236</i>	<i>0,236</i>	<i>0,237</i>
<i>Composición calculada (en MF)</i>			
UFC (por kg)	1,05	1,05	1,05
PB (%)	13,0	12,9	13,0
PDI (g/kg)	87,5	86,4	85,5
FND (%)	16,2	15,9	15,5
FNDe (% FND)	39,2	38,5	37,8
Almidón (%)	43,9	42,7	41,6
Grasa (%)	5,74	5,61	5,43
Ca (%)	0,78	0,78	0,78
P (%)	0,38	0,38	0,38
<i>Composición analizada (% MS)</i>			
MS	89,7	89,6	89,6
Cenizas	6,58	6,41	6,44
PB	13,8	14,4	13,8
Almidón + azúcares	47,3	47,7	46,6
FND	20,7	20,2	19,4
FAD	6,78	5,63	5,80
Ca	0,85	0,77	0,89
P total	0,39	0,41	0,39
Glicerol	0,35	1,77	4,14

<sup>a</sup>Composición química: glicerol, 85,00%; metanol, <0,5%; humedad, 9,22%; cenizas, 4,51%; fósforo, 0,11%; sodio, 1,66%; potasio, 0,05%.

<sup>b</sup> ECONBEEF, pienso complementario mineral INZAR, S.L. España. Aporta (por kg de pienso): vitamina A, 6.000 UI; vitamina D<sub>3</sub>, 800; vitamina E (alfa-tocoferol) 15 mg; óxido de zinc, 40 mg; óxido de manganeso, 30 mg; sulfato cúprico, pentahidratado, 5 mg; selenito de sodio, 0,20 mg; yoduro de potasio, 0,50 mg; carbonato de cobalto, 0,20 mg.

### II.1.3. Ensayo III

Se utilizaron un total de 45 terneros machos de aptitud cárnica (Limousin), con un peso inicial de  $310,6 \pm 43$  kg, se dividieron al azar en tres grupos de 15 animales cada uno y se le administró a cada grupo un pienso con diferente nivel de glicerina cruda en sustitución de cebada (**Tabla 5**):

**C:** grupo control, pienso sin glicerina cruda.

**G2:** pienso con un 2 % de glicerina cruda.

**G4:** pienso con un 4 % de glicerina cruda.

Los animales se alimentaron con los correspondientes piensos durante 240 días. Los animales fueron alojados en nueve corrales en una granja localizada en La Aparecida (Cartagena). Los corrales tenían suelo de cemento con cama de paja y cada uno estaba provisto de bebederos, comedero para concentrados conectado a un silo (un silo de pienso, único para ese corral) y forrajeras para la paja de cereal. Los animales se sacrificaron con un peso medio de  $644 \pm 24$  kg, en tres lotes diferentes (cinco animales por tratamiento en cada lote) entre mayo y septiembre del 2012, en el matadero “Mercamurcia”, situado en El Palmar, Murcia.

### II.1.4. Ensayo IV

Un total de 36 terneros machos raza Limousin de una granja (La Aparecida, Cartagena, Murcia), con  $625 \pm 32$  kg peso vivo y una edad de 16-18 meses se dividieron al azar en tres grupos de 12 animales cada uno, y se les administró glicerina cruda 24 horas antes del sacrificio por dos vía diferentes:

**C:** grupo control, sin glicerina cruda.

**GS:** glicerina cruda administrado por una sonda nasogástrica ( $2 \text{ g kg}^{-1}$  peso vivo, aproximadamente 1200 mL de glicerina cruda)

**GA:** glicerina cruda administrado en el agua de bebida ( $2 \text{ g kg}^{-1}$  peso vivo, aproximadamente 1200 mL de glicerina cruda), considerando una ingestión diaria de 80 L por animal. Todos los animales fueron transportados hasta el matadero “Mercamurcia”, situado en El Palmar, Murcia, donde fueron sacrificados.

## II.2. MEDIDAS *IN VIVO*.

### II.2.1. Parámetros productivos

En todos los experimentos se controló el peso inicial y final de los cerdos y terneros. Para el caso del Ensayo III además se tomó la ingestión de pienso por cuadra de los terneros, y a partir de estos datos se calculó la ganancia media diaria (**GMD**), el consumo medio diario (**CMD**) y el índice de conversión (**IC**). Las bajas fueron registradas y pesadas.

### II.2.2. Espesor del tocino dorsal y lomo.

Las medida de espesor de tocino dorsal y lomo se realizaron en los ensayos I, II y III con un equipo de ultrasonidos (ALOKA, Prosound 2, Hitachi Aloka Medical, Tokyo, Japón) con una sonda lineal de 172 mm, 3,5 Mhz a nivel de la 10<sup>a</sup>-11<sup>a</sup> costilla. En todos los casos se utilizó aceite para acoplar mejor la sonda. Las medias realizadas fueron las siguientes:

#### *Ensayo I:*

Se realizó la ecografía de tal forma que se obtuvo una sección longitudinal del lomo y se tomaron las siguientes medidas:

**ETD:** espesor del tocino dorsal, medida desde la primera línea hipocogénica (piel) hasta la línea hiperecogénica encima del músculo (zona hipocogénica)

**EL:** espesor del lomo, medida desde el fin de el ETD hasta el final del músculo (fin de la zona hipocogénica)



**Figura 9.** Medidas realizadas en la ecografía en el ensayo I

**Ensayo II:**

Las medias realizadas se hicieron para obtener una sección transversal del lomo, según describe Daza et al. (2006) se realizaron las siguientes medidas:

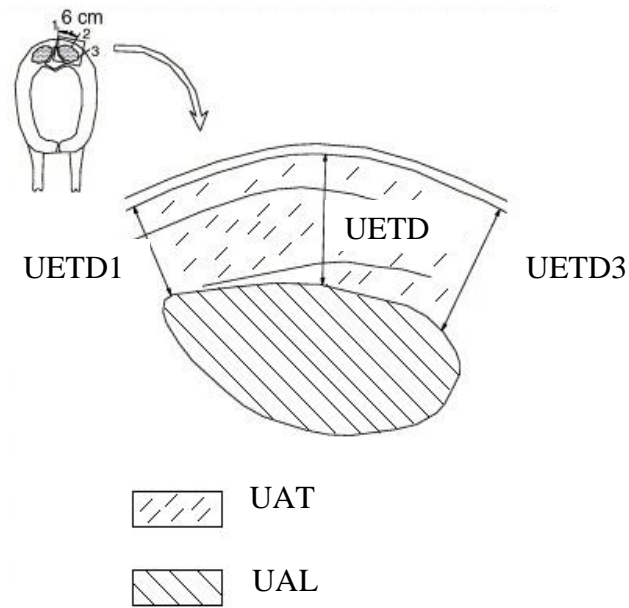
**UETD1:** Espesor del tocino dorsal, tomado perpendicularmente en la línea media dorsal a la altura de la última costilla, desde la piel al músculo *Longissimus thoracis*.

**UETD2:** Espesor del tocino dorsal, medido 6 cm de la línea dorsal media, desde la piel al músculo *Longissimus thoracis*.

**UETD3:** Espesor del tocino dorsal, medido desde el borde distal más alejado de la línea dorsal media, desde la piel al músculo *Longissimus thoracis*.

**UTDA:** Área de la grasa, limitada por el músculo *Longissimus thoracis* (cara superior), la piel (cara interna) y las medidas descritas en UETD1 y UETD 3.

**UAL:** Área del músculo *Longissimus thoracis*.



**Figura 10.** Medidas de ultrasonido realizadas en la ecografía del Ensayo II (Daza et al., 2006)

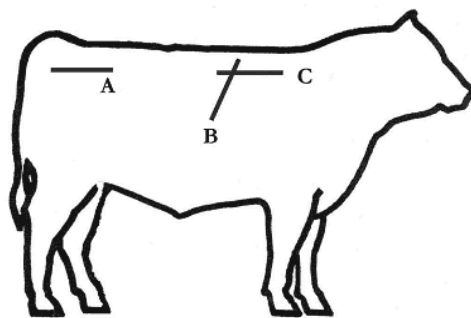
*Ensayo III:*

Para el Ensayo III, a cada uno de los terneros se le realizaron tres ecografías siguiendo el método de Greiner et al. (2003):

**Espesor de la grasa en grupa:** medida realizada en sección longitudinal del animal a la altura de la grupa, para medir el espesor de la grasa, con la sonda sin adaptador (**Figura 11, A**).

**Área del lomo:** Una sección transversal del animal entre la 12ª y 13ª costilla, para medir el área del lomo (**Figura 11, B**).

**Espesor de la grasa en la 12ª costilla:** Una sección longitudinal del animal a la altura de la 12ª y 13ª costilla, para medir el espesor de la grasa dorsal, con la sonda sin adaptador (**Figura 11, C**).



*Figura 11. Localización de las ecografías realizadas en el Ensayo III.*

### **II.2.3. Determinación de parámetros sanguíneos.**

Para la determinación de los parámetros sanguíneos en el Ensayo II, antes de aplicar el tratamiento y una vez que los animales llegaron a matadero, se tomaron muestras de sangre por extracción en vena utilizando un tubo con heparina (BD Vacutainer®, LH PST; Becton, Dickinson, Madrid, España). Inmediatamente, las muestras de sangre fueron centrifugadas para obtener el plasma y fueron congeladas a -20 °C para su posterior análisis en el Hospital Clínico Veterinario de la Universidad de Murcia.

La medición de proteína total, albúmina, calcio, fósforo y glucosa se realizó mediante un analizador automático clínico (Olympus AU2700; Olympus Diagnostica GmbH, Hamburg, Alemania). La concentración de cortisol en plasma se midió por inmunoensayo con Immulite System (Siemens Health Diagnostics, Deerfield, IL, Estados Unidos). Los coeficientes de variación intra- e inter-ensayo fueron 7,3 y 10,5 % respectivamente. El ion sodio, potasio, cloro y lactato fueron determinados en un autoanalizador de gases en sangre (Radiometer ABL System) utilizando selectivamente electrodos de membrana.

## **II.3. CALIDAD DE LA CANAL**

### **II.3.1 Rendimiento de la canal**

Para el Ensayo III, tras el faenado se tomó el peso de la canal en caliente (PCC) y tras 24 horas de oreo a 4°C se volvieron a pesar obteniendo el peso de la



canal en frío (**PCF**). A partir de estos datos se determinó el rendimiento a la canal (**RC**) siguiendo la siguiente fórmula:

$$\% RC = \frac{P_{canal\ frío}}{P_{vivo}} \cdot 100$$

### II.3.2. Longitud de la canal

La longitud de la canal (**LC**) se determinó en la media canal izquierda 24 horas después del sacrificio. La medida se tomó utilizando una cinta métrica milimetrada, desde la mitad del borde craneal de la primera costilla hasta la sínfisis pélvica.

### II.3.3. Espesor del tocino dorsal.

Para los ensayos I y II se realizó la medida del espesor del tocino dorsal con una regla milimetrada a las 24 horas del sacrificio, sobre la media canal izquierda, en tres puntos diferentes: la primera medida (**ETD1**) se tomó en el dorso, a la altura de la primera costilla, la segunda medida (**ETD2**) entre la 9° y 10° vértebra, y la tercera medida (**ETD3**) en el glúteo medio, en la zona de menor espesor de grasa.



**Figura 12.** Medidas tomadas en la canal: ETD1, ETD2, ETD3.

## II.4. CALIDAD DE LA CARNE

Tras el sacrificio, se llevó a cabo el despiece extrayendo el músculo *Longissimus dorsi*. También se cogieron muestras de tocino dorsal de los cerdos ibéricos (Ensayo IV), a la altura de las costillas 12° y 13° para su posterior análisis. Cada muestra, debidamente identificada, fue introducida en bolsas de plástico y fueron transportadas en condiciones de refrigeración hasta la Planta Piloto de Tecnología de los Alimentos de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Murcia. A continuación, se procedió a su fileteado, desechándose los extremos y seleccionándose diferentes zonas de cada pieza para la obtención de las muestras destinadas a los distintos análisis.

Para los Ensayos II y III la carne de ternera se dejó madurar durante un período de 7 días (Mandell et al., 1998) antes de proceder a ser fileteado.

### II.4.1. Parámetros físico-químicos

#### pH

Tras el sacrificio de los animales, en la cadena de faenado, se realizaron medidas de pH y temperatura en la media canal izquierda de cada animal siguiendo la norma ISO 2917 (1999). La medida de pH tras 45 minutos del sacrificio (**pH<sub>45</sub>**) se realizó en el músculo *Longissimus dorsi* a nivel del 12° y 13° espacio intercostal con un pHmetro portátil (pH meter 507, Crison Instruments SA, Alella, España). La temperatura se midió a nivel del músculo *Gluteus medius* con un termómetro (TM 65, Crison Instruments SA, Alella, España). Tras 24 horas de refrigeración, y una vez extraído el músculo *Longissimus dorsi*, se realizó una segunda medida de pH en la carne (**pH<sub>24</sub>**) y en la carne de ternera a los siete días (**pH<sub>7</sub>**).



**Figura 13.** Medida con pHmetro portátil.

## Composición proximal

### *Humedad*

Se determinó el porcentaje de humedad siguiendo la norma ISO 1442 (1997). Previo al análisis, las placas de Petri se situaron en una estufa de aire forzado (ST 6120, Heraeus, Barcelona, España) durante 24 horas, a 105°C. Posteriormente se dejaron enfriar a temperatura ambiente en un desecador durante 20 minutos y se pesaron. A continuación se pesaron 10 g de muestra, previamente homogenizada, en las placas y se llevaron a la estufa donde permanecieron durante 24 horas a una temperatura de 105°C (hasta alcanzar peso constante). Posteriormente se enfriaron a temperatura ambiente en el desecador durante 20 minutos y se pesaron. La medida para el lomo de cada animal se realizó por duplicado. Se calculó el porcentaje de humedad utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ humedad} = \frac{P_{inicial} - P_{final}}{P_{inicial}} \cdot 100$$

Siendo:

$P_{inicial}$  = Peso de la muestra húmeda

$P_{final}$  = Peso de la muestra seca

### **Proteína**

La determinación del porcentaje proteína (nitrógeno total) de las muestras se realizó mediante el método Kjeldahl ISO 937 (1981). Se pesaron 0,25 g de muestra, previamente homogenizada, y se introdujeron en un tubo de cristal junto con una tableta de catalizador Kjeldahl (Cu-TiO<sub>2</sub>) (Panreac Química, S.A., Castellar del Vallés, España). Se añadieron al tubo 10 ml de ácido sulfúrico 96% (Panreac Química, S.A. Castellar del Vallés, España) y se colocaron los tubos en el bloque digestor (Digestión Unit Büchi 426, Flawil, Suiza) hasta que las muestras tomaron un color verde-azulado (aproximadamente tras 8-10 horas, a 400 °C). Después se llevó cada tubo a la unidad de destilación (Büchi Distillation Unit 323, Flawil, Suiza) con la adición de hidróxido sódico al 40% (v/v) (Scharlau Chemie S.A., Barcelona, España), recogiendo el destilado en 25 mL de ácido bórico 4% (v/v) (Panreac Química, S.A., Castellar del Vallés, España) utilizando un indicador mixto rojo de metilo (Scharlau Chemie, S.A., Barcelona, España) y verde de bromocresol (Panreac Química, S.A., Castellar del Vallés, España). El amoníaco recogido se valoró con ácido clorhídrico 0,1 N (Scharlau Chemie, S.A., Barcelona, España) utilizando un valorador automático (702 SM Titrimo, Metrohm, Herisau, Suiza). El contenido en proteína se obtuvo multiplicando el valor obtenido en la determinación de nitrógeno total por el factor 6,25. La medida para cada producto se hizo por duplicado. El porcentaje de proteína bruta se obtuvo mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ proteína bruta} = \frac{V \times 0,14}{P_{\text{muestra}}} \cdot 6,25$$

Siendo:

$V$  = Volumen de ácido clorhídrico gastado en la valoración

$P_{\text{muestra}}$  = Peso de la muestra

### **Grasa intramuscular**

La determinación del contenido en grasa total en materia seca se realizó gravimétricamente siguiendo el método Soxhlet, norma ISO 1443 (1979)

mediante extracción con éter de petróleo. La muestra homogeneizada y los vasos de colectores de vidrio fueron previamente desecados en estufa (ST 6120, Heraeus, Barcelona, España) a 105°C durante 24 horas. Para la determinación se pesó 1 g de la muestra desecada y se introdujo en un sobre de papel de filtro. Los vasos se enfriaron a temperatura ambiente durante 45 minutos en un desecador y se pesaron. La extracción se realizó con 100 mL de éter de petróleo con punto de ebullición 40-60 °C (Panreac Química, S.A., Castellar del Vallés, España) mediante un extractor tipo Soxhlet (Büchi, Soxtec System HT2 1045 Tecator, Flawil, Suecia). Tras la extracción, los vasos se introdujeron en la estufa a 105 °C durante 60 minutos para eliminar el disolvente. Posteriormente, se dejaron enfriar a temperatura ambiente en un desecador y se pesaron. Las determinaciones se realizaron por duplicado. Se calculó el porcentaje de grasa total en materia húmeda utilizando las siguientes expresiones:

$$\% \text{ grasa materia seca.} = \frac{P_{\text{final}} - P_{\text{inicial}}}{P_{\text{muestra}}} \cdot 100$$

Siendo:

$P_{\text{muestra}}$  = peso de la muestra

$P_{\text{final}}$  = peso de vaso + peso de la grasa extraída

$P_{\text{inicial}}$  = peso del vaso

$$\% \text{ grasa m.h.} = \frac{\% \text{ grasa m.s} \times \% \text{ m.s.}}{100}$$

Siendo:

$\% \text{ grasa m.h.}$  = porcentaje de grasa en materia húmeda

$\% \text{ m.s.}$  = porcentaje de materia seca de la muestra

### **Cenizas**

La determinación de cenizas se realizó gravimétricamente por incineración a 550°C según la norma ISO 936 (1998). Primero se pesaron los crisoles de porcelana vacíos (KPM, Berlín, Alemania), previamente desecados en una estufa (ST 6120, Heraeus, Barcelona, España) durante 24 horas. Los crisoles se dejaron enfriar a temperatura ambiente en un desecador antes de pesar la muestra. Luego se adicionaron 5 g de carne y se introdujeron en el horno mufla (Heraeus MR 170,

Alemania) elevando la temperatura progresivamente hasta alcanzar 550°C, permaneciendo las muestras a esta T° durante 8 horas. Posteriormente el crisol con las cenizas es pesado en una balanza analítica. Para el cálculo del porcentaje de cenizas se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ cenizas} = \frac{P_{final} - P_{inicial}}{P_{inicial} - P_{crisol}} \cdot 100$$

Siendo:

$P_{final}$  = Peso de crisol + peso de las cenizas

$P_{inicial}$  = Peso de crisol + peso de la muestra

$P_{crisol}$  = Peso crisol vacío

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

La CRA se realizó siguiendo la técnica de Grau y Hamm (1953), que consiste en medir el agua que se libera de una pieza cárnica al aplicar una presión determinada. Para ello se pesaron 0,3 g de muestra del músculo *Longissimus dorsi* (picado y homogenizado) y se colocó sobre un papel de filtro Whatman n° 540, previamente pesado. Se colocó el papel entre dos placas Petri y se sometió a la muestra a una presión de 1 kg durante 10 minutos. A continuación, se separa con cuidado la carne del papel, pesando éste. La diferencia entre el peso inicial del filtro y el peso después de haber sido sometida la muestra a presión, será el agua que ha liberado, que se expresa como porcentaje de jugo expulsado respecto al peso de la muestra inicial. La CRA se calcula de la siguiente forma:

$$\% \text{ agua libre} = \frac{P_{final} - P_{inicial}}{P_{muestra}} \cdot 100$$

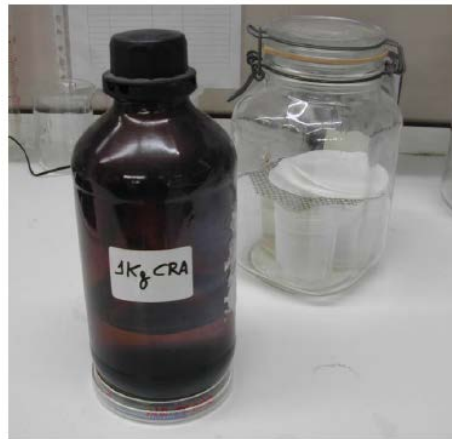
Siendo:

$P_{final}$  = Peso final del papel

$P_{inicial}$  = Peso inicial del papel

$P_{muestra}$  = Peso de la muestra

$$\% \text{ CRA} = 100 - \% \text{ agua libre}$$



**Figura 14.** Método utilizado para la determinación de capacidad de retención de agua por presión.

### **Pérdidas por goteo**

Para el cálculo de las pérdidas por goteo se siguió el método de Hönikel (1998), con modificaciones de Otto et al. (2007). Las muestras de carne se cortaron en filetes de 2 cm de grosor y se colocaron en bandejas de poliestireno (B5-37 aeropack, ALIAGA y Ortiz, SL, Alcantarilla, España). Sobre el fondo de las bandejas se colocaron unos soportes de malla plástica con retícula cuadrada de 1x1 cm, situada a 1,5 cm del fondo, lo que impidió el contacto de la carne con el agua liberada. Todas las muestras fueron cubiertas con un film permeable (MICAL® professional, Miquel Alimentació Group S.A.U, Vilamalla, España) para evitar la pérdida de humedad y fueron almacenadas en refrigeración a 4 °C en una vitrina-expositor, iluminada con luz blanca fluorescente (620 lux), durante 120 horas. A las 72 horas y al final del ensayo (120 horas) las muestras se secaron suavemente con papel de filtro y se pesaron. Las pérdidas por goteo se calcularon de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\% \text{ pérdidas por goteo} = \frac{P_{\text{inicial}} - P_{\text{final}}}{P_{\text{inicial}}} \cdot 100$$

Siendo:

$P_{inicial}$  = *Peso inicial de la muestra.*

$P_{final}$  = *Peso final de la muestra tras 72 y/o 120 horas de almacenamiento en refrigeración, respectivamente.*

% *pérdidas por goteo final* = % *pérdidas por goteo 72 h* – % *pérdidas por goteo 120 h*

### **Pérdidas por cocción**

Las pérdidas por cocción se calcularon siguiendo el método propuesto por Honikel (1998). En el momento del análisis los filetes se secaron suavemente, se pesaron y se introdujeron en bolsas individuales. Éstas, a su vez, fueron introducidas en un baño de agua a 72,5 °C hasta alcanzar a una temperatura de 70 °C en el interior del filete, que fue medida con un termómetro de sonda (TM 65, Crison Instruments SA, Alella, España). Las pérdidas fueron estimadas pesando las muestras antes y después de la cocción. El ensayo se realizó por duplicado. Los cálculos de las pérdidas por cocción se hicieron de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\% \text{ pérdidas por cocción} = 100 - \frac{P_{inicial} - P_{final}}{P_{final}} \times 100$$

Siendo:

$P_{inicial}$  = *Peso inicial de la muestra.*

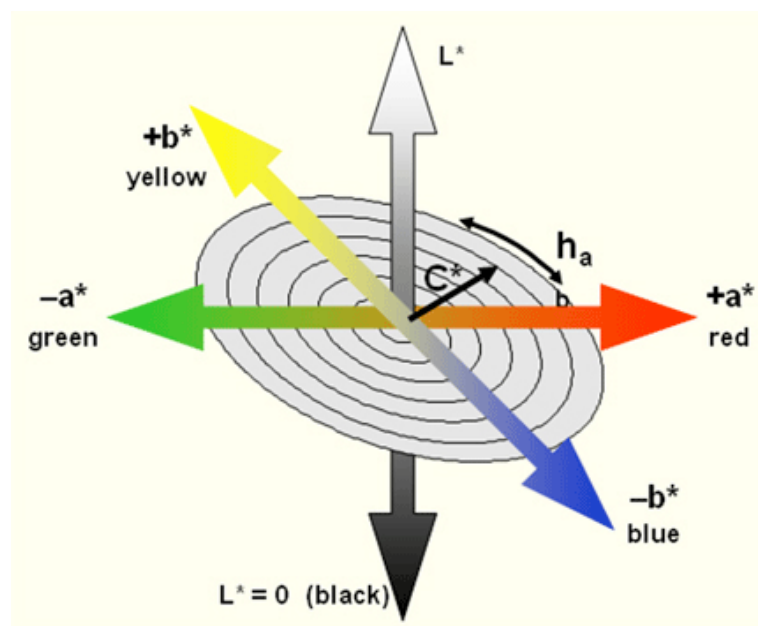
$P_{final}$  = *Peso final de la muestra (tras la cocción).*

### **Color CIELab**

La valoración objetiva del color se llevó a cabo sobre la superficie de los filetes del músculo *Longissimus dorsi*. Los parámetros fueron estimados con un colorímetro portátil Minolta Chroma Meter II Reflectance, CR-400 CR/410



(Minolta Limited, Milton Keynes, Reino Unido), utilizando el iluminante D65 y un diámetro de apertura de ventana de 8-mm. Se realizaron tres medidas sobre la superficie del filete, expresando valores medios de las medidas a través del sistema de coordenadas CIELab (Commission Internationale de l'Eclairage, CIE, 1986). Este sistema permite identificar un color con la ayuda de las coordenadas  $L^*$  (luminosidad),  $a^*$  (índice de rojo-verde) y  $b^*$  (índice de amarillo-azul). A partir de las coordenadas  $a^*$  y  $b^*$ , se calcularon los valores  $C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$  (índice de saturación o Chroma) y  $H^* = \arctg \frac{b^*}{a^*} \times 57,32$  (tono o ángulo Hue).



**Figura 15.** Espacio de color CIELAB ([www.gravureexchange.com](http://www.gravureexchange.com)).

### Color subjetivo y vetado

El color subjetivo de la carne de cerdo (Ensayo I y IV) y el contenido de grasa intramuscular (vetado) fue valorado de manera visual utilizando el protocolo del National Pork Producers Council (NPPC, 1991). Se trata de una serie de tarjetas donde se muestran imágenes de piezas de carne con distinto grado de color, siendo 1 el más claro y 10 el más oscuro, y de infiltración grasa, siendo 1 mínimo infiltrado y 6 máximo infiltrado.



*Figura 16. Escala de veteados y color según sistema NPPC (1991).*

### **Textura instrumental**

Para analizar la textura de la carne se utilizó un texturómetro QTS-25 (Brookfield CNS Farnell, Borehamwood, Reino Unido) equipado con una célula de carga de 25 kg, una sonda de 10 mm de diámetro y el software Texture Pro v. 2.1.

La determinación de textura de la carne se realizó sobre las muestras empleadas en la determinación de pérdidas por cocción, tras haberse mantenido durante 24 horas en cámara frigorífica a 4 °C. La temperatura de análisis de la sala y de las muestras fue de 20 °C. Las muestras de carne, fueron seccionadas en cubos de 20 x 20 mm, utilizando un cortador de acero inoxidable. El ensayo se realizó mediante la aplicación de dos ciclos consecutivos de presión a una velocidad constante 30 mm/s y se sometió a una compresión del 50% en dirección perpendicular a las fibras musculares. Los parámetros de perfil de textura analizados (Texture Profile Analysis, TPA, **Figura 16**) fueron: dureza, elasticidad, cohesividad, gomosidad y masticabilidad (**Tabla 6**).

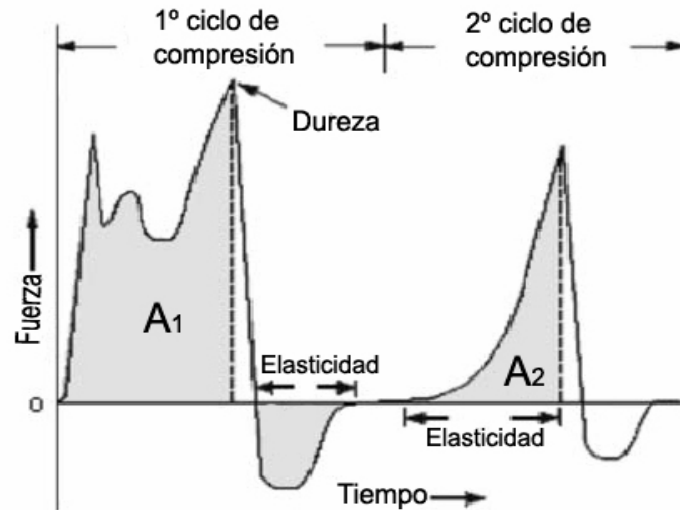


Figura 17. Análisis del Perfil de Textura (TPA; Bourne, 1978)

Tabla 6. Perfil de Textura (Bourne, 1978).

PARÁMETRO	DEFINICIÓN
<b>Dureza 1</b>	Fuerza máxima correspondiente al pico más alto del primer ciclo de compresión, simulando la primera masticación.
<b>Dureza 2</b>	Fuerza máxima correspondiente al pico más alto del segundo ciclo de compresión, simulando la segunda masticación.
<b>Adhesividad</b>	Área negativa tras la primera compresión según la gráfica del TPA.
<b>Cohesividad</b>	Energía mecánica necesaria para destruir la estructura interna de la muestra. (Área 2 / Área 1)
<b>Elasticidad</b>	Habilidad de la muestra de recobrar su forma original tras retirar la fuerza deformante.
<b>Gomosidad</b>	Energía requerida para masticar la muestra. (Dureza x Cohesividad)
<b>Masticabilidad</b>	Trabajo requerido para masticar una muestra sólida hasta el estado listo para tragar. (Gomosidad x Elasticidad)

### **Perfil de ácidos grasos**

Los ácidos grasos se analizaron siguiendo el método de Granados (2001). Posteriormente se procedió a la determinación de los mismos mediante cromatografía gaseosa (Norma UNE-EN ISO 5508:1996).

#### *Obtención del extracto lipídico*

La grasa intramuscular fue extraída con un método de decantación en frío (Folch et al., 1957). Se pesaron 10 g de carne para las muestras de cerdo y 20 g para las de ternera (debido a que contienen un menor porcentaje de grasa), previamente homogeneizada, se le añadió 200 mL de solución de Folch (Cloroformo- Metanol 2:1), conteniendo un 0,003% de butilhidroxitolueno (BHT) y se homogenizó todo con Ultra-Turax T25 (IKA®-Labortechnik, Stauffen, Alemania) a 9.000 r.p.m. durante 1 minuto. La muestra obtenida se filtró con un papel Whatman n°1 y se agregaron 50 mL de solución de Folch. Tras ello, el filtrado se depositó en un embudo de decantación de 500 ml y se mezcló con 80 ml de una disolución de NaCl al 8%, dejándolo decantar durante 24 horas para separar la fase metanol-agua. Posteriormente, mediante evaporación se separaron los extractos lipídicos de los solventes (Rotavapor-011, Büchi, St. Louis, Estados Unidos). Una vez extraídas, las muestras fueron congeladas a  $-80^{\circ}\text{C}$ .

#### *Análisis del perfil de ácidos grasos*

Se pesaron 0,03 g de muestra junto con 5,7  $\mu\text{L}$  de metil undecanoato, 99% (500 ppm de patrón interno) en un matraz esférico. Se añadieron 3 ml de metilato de sodio 0,2 N y se calentó durante 5 minutos mediante una placa eléctrica de manta (Selecta, Agimateic-N, Barcelona, España) adaptando un tubo de refrigeración al matraz, hasta formar una sola fase. Durante esta etapa, los ácidos grasos se liberan y esterifican dando lugar a sus correspondientes ésteres metílicos. Se dejaron enfriar y se añadió 3 ml de una disolución al 3% de ácido sulfúrico en metanol anhidro, y se calentó durante 5 minutos, con la finalidad de completar la esterificación y estabilización de los ésteres. Tras esperar a que se enfríe, se añadieron 3 ml de n-hexano con agitación, calentando suavemente

durante 2 minutos para favorecer la disolución de los ésteres en dicho disolvente. Se dejó enfriar el contenido y se vertió en un matraz aforado mezclándolo con una disolución sobresaturada de cloruro sódico para la separación de dos fases claramente diferenciadas, recogiendo la fase superior transparente que contiene los ésteres metílicos disueltos en hexano. Seguidamente, se procedió a la inyección en el cromatógrafo de gases (Thermo Finnogan Trace GC Ultram, Milán, Italia) utilizando un automuestreador (Thermo Scientific AS 3000, Milán, Italia) y una columna capilar BPX-70 (Forte, SGE, Wingwood, Australia) polar, con una fase estacionaria de cianopropil polisinoxano, de 60 m de largo, con un diámetro interior de 0,25 mm y 0,25  $\mu\text{m}$ . El programa de temperatura utilizado para separar los ácidos grasos fue el siguiente: a partir de una temperatura inicial de 120 °C se establecieron tres rampas, hasta alcanzar un máximo de 250 °C. El tiempo total de análisis fue 35 minutos. El gas portador utilizado fue helio, con un flujo de 3,2 mL min<sup>-1</sup>. La identificación de los ésteres metílicos de ácidos grasos se basó en tiempos de retención de los patrones de referencia, siendo ésteres metílicos de: ácido cáprico (C10:0); ácido laúrico (C12:0), ácido mirístico (C14:0); ácido palmítico (C16:0); ácido palmitoleico (C16:1), ácido margárico (C17:0), ácido esteárico (C18:0), ácido oleico (C18:1), ácido linoleico (C18:2), ácido linolénico (C18:3); ácido araquídico (C20:0) y ácido araquidónico (C20:4) (Sigma, Madrid, España). Los ésteres metílicos fueron cuantificados usando el éster metílico del ácido undecanoico como estándar interno y a partir de las rectas de calibrado de cada ácido graso.

## **II.5. Análisis sensorial.**

### **II.5.1. Análisis descriptivo (Quantitative Descriptive Analysis, QDA).**

#### **Entrenamiento del panel.**

La selección y entrenamiento del panel de cata se realizó de acuerdo con la norma ISO 8586-2 (2012). El panel estuvo conformado por 8 jueces (6 mujeres y 2 hombres). Debido a las diferencias existentes entre las características organolépticas de la carne según la especie (cerdo *vs.* ternera) y la raza (cerdo blanco *vs.* cerdo ibérico), se realizaron tres entrenamientos: uno para el Ensayo I,

otro para los Ensayos II y III, y finalmente otro para el Ensayo IV, siguiendo siempre el mismo protocolo. El entrenamiento específico se llevó a cabo en 6 sesiones teórico-prácticas de 1,5 horas de duración cada una, orientadas hacia el aprendizaje de los atributos. Las dos primeras sesiones se dedicaron a la evaluación y discusión de las características sensoriales propias de la carne, tanto de ternera como de cerdo. Las dos siguientes se destinaron a la generación y selección de los descriptores y las dos últimas al desarrollo de la escala y puntuación de las mismas. Los parámetros sensoriales evaluados fueron los que muestra la **Tabla 7**.

En base a los descriptores seleccionados por el panel de cata, se estableció una ficha de cata. Los atributos se evaluaron de acuerdo a una escala no estructurada de 10 cm.

### **Preparación de las muestras**

Para realizar el análisis sensorial de la carne de cerdo y de ternera, las muestras de lomo de 1,5 cm de grosor fueron cocinadas en una plancha de doble placa (Silanos, Liscia Average, Lavastoviglie Industriali, Italia) cubierta con papel de aluminio en su interior. La placa se precalentó durante 10 minutos, tras los cuales se realizaba el cocinado a 150 °C 4 minutos en el caso de las muestras de cerdo y 7 minutos para la ternera, hasta alcanzar el producto una temperatura interna de 72 °C (T200 termómetro portátil, Digitron Instrumentation Ltd., Merd Lane, Hertford, Reino Unido). Una vez cocinados los filetes, se eliminaba la zona grasa del filete y se obtenían rectángulos de 1,5 x 2 cm. Las muestras cocinadas se envolvieron con papel de aluminio y se mantuvieron calientes (60°) en un baño de arena (Braun, Esplugues de Llobregat, España) hasta el momento de su evaluación sensorial. Las muestras fueron servidas a los catadores en orden balanceado de acuerdo a lo descrito por Macfie et al. (1989).

**Tabla 7.** Definición de los parámetros utilizados en el análisis sensorial descriptivo.

<b>Parámetro</b>	<b>Descripción</b>
<b>Olor a carne</b>	Intensidad de la percepción del olor característico a lomo (cerdo o ternera). Las puntuaciones bajas en este parámetro indican lomos con poco olor característico y valores altos indican lomos con olor intenso.
<b>Otros olores</b>	Este parámetro hace referencia a olores no característicos de la carne.
<b>Color propio de la carne</b>	Este parámetro indica la semejanza del color de la muestra al color característico de la carne de la especie. A mayor semejanza con la muestra de referencia mayor puntuación en la escala.
<b>Intensidad de color de carne</b>	Intensidad del color rojo-rosado de la carne.
<b>Flavor propio</b>	Este parámetro indica la percepción de flavor característico de la carne.
<b>Persistencia</b>	Este parámetro indica el tiempo que el sabor de la pieza de carne permanecía en la boca después de ser tragada. A mayor permanencia del sabor en la boca, mayor valor en la escala.
<b>Jugosidad</b>	Cantidad de agua liberada por el producto en los primeros mordiscos.
<b>Terneza</b>	Cualidad de la carne de dejarse cortar y masticar (con mayor o menor facilidad) antes de la deglución, estando directamente ligada a la resistencia mecánica del producto consumible.
<b>Masticabilidad</b>	Tiempo o número de masticaciones necesarias para deglutir un producto. Un valor alto en la escala significa que la muestra requiere un gran número de masticaciones para ser deglutida y un valor bajo significa que son necesarios pocas masticaciones para deglutir la pieza cárnica.
<b>Fibrosidad</b>	Sensación de fibras o hilos durante la masticación del producto.

### **Sesiones de cata**

Las catas se realizaron de acuerdo a la ISO 4121 (2006) en una sala estandarizada del Departamento de Tecnología de los Alimentos de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Murcia, cumpliendo las condiciones que debe tener una instalación de estas características (Norma UNE EN-ISO 8589, 2010). Cada catador probó seis muestras de cada lote (dieciocho en total para cada ensayo). En cada sesión se probaba un número máximo de seis muestras. Se utilizó agua mineral y colines sin sal entre muestras. Todas las sesiones se realizaron a media mañana y se llevaron a cabo dos tipos de pruebas (descriptiva y triangular), ambas con panel de catadores entrenados.

#### **II.5.2. Prueba triangular**

Además del perfil sensorial, se realizó una prueba triangular (Norma UNE EN-ISO 4120, 2008) con el fin de comprobar si el panel diferenciaba los lomos en base a la dieta suministrada. La preparación de las muestras de todos los Ensayos, panel y condiciones de la cata fueron iguales que las descritas para el análisis descriptivo. Para ello, se presentaron a cada catador 3 muestras de lomo, codificadas con un código de tres dígitos, de las cuales dos muestras eran iguales y una era diferente. A cada catador se le pidió que identificara la muestra que era diferente.

#### **II.5. Análisis estadístico.**

Para el análisis estadístico y procesado de los datos se utilizó el programa SPSS 19.0 (SPSS (2005), Inc., Chicago, IL). Para el Ensayo I se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de todos los parámetros analizados (media  $\pm$  desviación estándar). Para los Ensayos II, III y IV se utilizó un modelo lineal general. En el Ensayo II el modelo estadístico investigó los efectos principales de la dieta, del sexo y de la interacción dieta x sexo. En el Ensayo III, las medidas de ultrasonido, calidad de la cala y de la carne, ácidos grasos y sensorial fueron analizadas utilizando un modelo mixto, donde se incluyeron las dietas como efectos fijos y como efecto aleatorio la cuadra la cuadra y el residual. Para las



medidas de ultrasonidos, peso de la canal y longitud, un segundo efecto fijo fue incluido como covariable (peso vivo final). El modelo para la calidad de la carne y ácidos grasos también incluyó el peso vivo final como covariable. El modelo del análisis sensorial incluyó al panelista como efecto aleatorio. En el Ensayo III, para los parámetros sanguíneos, se estudió los efectos principales de la dieta, tiempo y su interacción.

Se compararon las medias y cuando las diferencias entre pares de grupos fueron significativas se realizó el test de Tukey ( $P < 0,05$ ). La relación entre variables fue establecida mediante correlaciones de Pearson. La habilidad de diferencias entre muestras iguales o diferentes en la prueba triangular, fue determinada con tabla de probabilidad propuesta por la norma ISO 4120 (2004).



## *Capítulo III*

---

### **Resultados y discusión**



### **III.I. ENSAYO I**

*Efecto de la inclusión de glicerina cruda en la dieta de cerdos Large White x Landrance sobre los parámetros de calidad de la canal y la carne*



### ***Efecto de la inclusión de glicerina cruda en la dieta de cerdos Large White x Landrace sobre los parámetros de calidad de la canal y la carne***

El objetivo del ensayo I fue ver el efecto que tenía la glicerina cruda sobre la calidad de la canal y la carne de cerdos Large White x Landrace. Para ello, 60 cerdos machos castrados se dividieron de forma aleatoria en tres grupos, los cuales fueron alimentados con un 0 (control), 2,5 (G2,5) y 5 % (G5) de glicerina cruda en sustitución del maíz. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

#### **III. 1. 1. Medidas con ultrasonidos: Espesor del tocino dorsal y del lomo**

La **Tabla 8** muestra los resultados del espesor de la grasa subcutánea y del lomo realizadas con ultrasonidos (ETD y EL) y con regla milimetrada (ETD<sub>1</sub>, ETD<sub>2</sub> y ETD<sub>3</sub>). Ninguno de los tres grupos estudiados (C, G2,5 o G5) presentaron diferencias significativas para las medidas realizadas tanto antes (ultrasonidos) como después (regla milimetrada) del sacrificio. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Lammers et al. (2008a), Hansen et al. (2009), y Schieck et al. (2010), quienes tampoco encontraron diferencias significativas en cerdos alimentados con niveles de hasta 15% de glicerina cruda. Por el contrario, algunos autores como Hanczakowska et al. (2010) observaron una reducción en el tejido adiposo de animales (110 kg peso de sacrificio) alimentados con un 10% de glicerina cruda (19,2 mm) en comparación con el grupo control (21,6 mm) y el grupo de animales alimentado con 10% de glicerina cruda refinada (20,9 mm). En vista de estos resultados, una alimentación con niveles superiores al 15% conlleva un aumento lineal del ETD y un menor porcentaje de magro (Stevens et al., 2008).

Se encontró una correlación positiva de la medida *pos-mortem* ETD con las de ultrasonidos ETD<sub>2</sub> y ETD<sub>3</sub> ( $r^2 = 0,487$  y  $0,581$ ;  $P < 0,05$ ), lo que permite validar el uso de los ultrasonidos a tiempo real en los animales antes del sacrificio, para poder desarrollar fórmulas predictivas del grosor del pánículo en las canales de los cerdos, tal como indica Velázquez (2000) en cerdos con peso vivo entre 80 y 120 kg.

**Tabla 8.** Espesor del tocino dorsal (media en mm) medido con regla milimetrada (ETD<sub>1</sub>, ETD<sub>2</sub> y ETD<sub>3</sub>) y ultrasonido (ETD y EL) en cerdos alimentados con 0, 2,5 o 5% de glicerina cruda

	Tratamiento <sup>1</sup>			SEM <sup>2</sup>	Significancia <sup>3</sup>
	Control	G2,5	G5		
ETD <sub>1</sub> (mm)	39,6	43,9	40,5	0,06	ns
ETD <sub>2</sub> (mm)	26,4	26,8	26,2	0,05	ns
ETD <sub>3</sub> (mm)	23,1	26,3	25,8	0,08	ns
ETD	18,2	19,2	19,0	0,57	ns
EL	41,6	39,7	41,9	0,84	ns

<sup>1</sup> Control, G2,5, G5: cerdos alimentados con 0%, 2,5%, 5% de glicerina cruda en sustitución de maíz, respectivamente.

<sup>2</sup> SEM: error estándar de la media.

<sup>3</sup> ns: no significativo (P > 0,05).

ETD<sub>1</sub>: espesor del tocino dorsal medido con regla milimétrica en la canal a la altura de la 1ª costilla; ETD<sub>2</sub>: espesor del tocino dorsal medido con regla milimétrica en la canal entre la 9ª y 10ª costilla; ETD<sub>3</sub>: espesor del tocino dorsal medido con regla milimétrica en la canal en el músculo *Gluteus medius*, en la zona de menor espesor graso; ETD espesor del tocino dorsal medido en vivo por ultrasonidos, entre la 10ª y 11ª costilla, desde la primera línea hiperecogénica (piel) hasta la siguiente línea hiperecogénica sobre el músculo (hipoecogénico); EL: espesor del lomo medido en vivo por ultrasonidos desde el fin de la ETD hasta la base del músculo (fin de la zona hipoecogénica).

### III.1.2. Calidad de carne

La **Tabla 9** muestra los resultados de la composición proximal, pH, CRA y PC de la carne de cerdos alimentados con diferentes niveles de glicerina cruda. La inclusión de glicerina en la dieta de los animales no afectó a ninguno de los parámetros estudiados (P > 0,05). Los valores medios obtenidos fueron 22,8 % de proteína, 3,8 % de grasa y 1,4 % de cenizas. Estos datos son similares a los encontrados por Della Casa et al. (2009) en cerdos del cruce Duroc italiano con Large White Italiano, los cuales se llevan a un peso de sacrificio mayor que el de las razas comerciales y que también fueron alimentados con diferentes niveles de glicerina cruda (hasta un 10%). Teixeira y Rodrigues (2013) encontraron niveles similares de grasa en cerdos cruce Large White y Landrace con un peso de sacrificio entre 80 y 100 kg.



**Tabla 9.** Composición química y capacidad de retención de agua del músculo *Longissimus dorsi* de cerdos Large White x Landrace alimentados con 0, 2,5 o 5% de glicerina cruda.

	Tratamiento <sup>1</sup>			SEM <sup>2</sup>	Significancia <sup>3</sup>
	Control	G2,5	G5		
<i>Composición química</i>					
Grasa (%)	3,45	4,30	3,80	0,246	ns
Humedad (%)	73,24	72,26	72,65	0,492	ns
Proteína (%)	23,00	22,86	22,74	0,882	ns
Cenizas (%)	1,45	1,46	1,40	0,130	ns
pH <sub>45</sub>	6,09	6,11	6,17	0,042	ns
pH <sub>24</sub>	5,35	5,31	5,39	0,020	ns
<i>Capacidad de retención de agua</i>					
CRA (%)	71,46	73,70	72,45	0,508	ns
PC (%)	26,49	27,12	25,86	0,442	ns

<sup>1</sup> Control, G2,5, G5: cerdos alimentados con 0%, 2,5%, 5% de glicerina cruda en sustitución de maíz, respectivamente.

<sup>2</sup> SEM: error estándar de la media.

<sup>3</sup> ns: no significativo ( $P > 0,05$ ).

pH<sub>45</sub>: medidas de pH tomadas 45 minutos después del sacrificio; pH<sub>24</sub>: medidas pH tomadas 24 horas después del sacrificio; CRA: capacidad de retención de agua; PC: pérdidas por cocción.

La adición de glicerina cruda en la dieta de los cerdos no afectó al pH de la carne ( $P > 0,05$ ), lo que coincide con otros estudios anteriores (Della Casa et al., 2009; Hansen et al., 2009; Berenchtein et al., 2010; Mendoza et al., 2010; Schieck et al., 2010). Por el contrario Lammers et al. (2008a) observaron en los lomos de cerdos Cambrough 22 x L337 alimentados con 5 y 10 % de glicerol, una ligera tendencia a tener un pH más elevado que los lomos de los animales control. Además, estudios anteriores (Kijora y Kupsch, 1996; Lammers et al., 2008a; Hansen et al., 2009; Berenchtein et al., 2010; Mendoza et al., 2010; Schieck et al., 2010) encontraron resultados similares a los obtenidos para CRA y PC. Sin embargo, Mourot et al. (1993) remarcó una reducción en las pérdidas por goteo y por cocción en cerdos Large White alimentados de los 30 a los 100 kg de peso vivo con 5 % de glicerina cruda. Según los autores, esto se debe a la acción que ejerce el glicerol sobre la presión osmótica de las células, lo cual podría aumentar

el contenido en agua, y por tanto, la capacidad de retención de agua. Las fibras musculares podrían estar hiperhidratadas como consecuencia de un aumento en el contenido de agua debido a un menor grado de desnaturalización proteica, especialmente durante el tratamiento por calor. Resultados similares fueron encontrados por Aihart et al. (2002), quien observó una tendencia a una reducción de estos parámetros en la carne de cerdo alimentado con glicerol. Además, en un estudio hecho con cerdos alimentados con un 10% de glicerina cruda o refinada, Hanczakowska et al. (2010) también encontraron una mayor CRA. Los datos acerca de las CRA son muy variables dentro de la bibliografía, así Schieck et al. (2010) identificaron que el contenido en NaCl en el pienso es el principal factor que causa estas diferencias entre grupos. El sodio es frecuentemente añadido como catalizador en la producción de biodiesel y se convierte en NaCl tras el proceso de purificación. El contenido de NaCl en la glicerina cruda depende de la técnica de refinado utilizada y debe tenerse en cuenta a la hora de calcular la formulación de las dietas (Kerr et al., 2007a). Un aumento del consumo de NaCl puede originar un mayor contenido de sal en el músculo, lo cual podría resultar en una mayor CRA debido al edema miofibrilar. En nuestro estudio, el contenido en Na y el Cl de la glicerina cruda fue considerado al realizar la formulación de los piensos, teniendo en cuenta el balance electrolítico de los piensos de cada fase.

### III.1.3. Textura y color

Los resultados de la textura de la carne de los cerdos alimentados con glicerina cruda están recogidos en la **Tabla 10**. La inclusión de glicerina cruda no tuvo efecto sobre los parámetros de textura analizados ( $P > 0,05$ ). Resultados similares fueron hallados por otros autores como Duttlinger et al. (2008), Della Casa et al. (2009), Hansen et al. (2009) y Berenchtein et al. (2010) quienes evaluaron el efecto de la adición de glicerina en la alimentación de cerdos sobre la textura analizada con una célula Warner-Bratzler (WB). A pesar de que las metodologías utilizadas son diferentes (WB vs. TPA), Caine et al. (2003) encontraron una correlación positiva entre el parámetro de máxima fuerza obtenido con el método WB y la dureza (máxima fuerza obtenida durante el primer ciclo de compresión) resultado del análisis de TPA. Por el contrario, Gipe (2008), encontró una tendencia a una mayor dureza en la carne de cerdos

alimentados con un 2,5% de glicerina cruda que el grupo control y aquellos alimentados con un 5% de este subproducto. Los autores señalan que este aumento puede deberse a un mayor contenido de tejido conectivo. Sin embargo, en el presente estudio, utilizando dosis de 2,5 y 5 % de glicerina cruda, no se vio afectada la textura de la carne, por lo que en principio podrían utilizarse niveles de hasta un 5% para alimentar cerdos.

**Tabla 10.** Análisis de perfil de textura (TPA), coordinadas de color y veteado del músculo *Longissimus dorsi* de cerdos Large White x Landrace alimentados con 0, 2,5 o 5% de glicerina cruda.

	Tratamiento <sup>1</sup>			SEM <sub>2</sub>	Significancia <sup>3</sup>
	Control	G2,5	G5		
<i>Textura</i>					
Gomosidad (N)	23,51	23,58	22,49	1,257	ns
Adhesividad (kg m <sup>2</sup> s <sup>-2</sup> )	-0,20	-0,27	-0,17	0,014	ns
Cohesividad	0,55	0,54	0,56	0,005	ns
Masticabilidad (N mm)	99,44	90,38	80,55	4,942	ns
Elasticidad (mm)	4,20	3,95	3,55	0,066	ns
Dureza (N)	41,72	43,30	40,12	1,788	ns
<i>Color</i>					
L*	50,25	50,20	49,11	0,570	ns
a*	10,51	9,97	10,38	0,166	ns
b*	-1,73	-1,73	-2,01	0,120	ns
H*	-9,78	-10,32	-11,30	0,717	ns
C*	10,17	10,16	10,61	0,154	ns
Veteado <sup>4</sup>	1,22	1,28	1,16	0,053	ns

<sup>1</sup> Control, G2,5, G5: cerdos alimentados con 0%, 2,5%, 5% de glicerina cruda en sustitución de maíz, respectivamente.

<sup>2</sup> SEM: error estándar de la media.

<sup>3</sup> ns: no significativo ( $P > 0,05$ ).

<sup>4</sup> Standard National Pork Producer Council (1991).

No hubo diferencias ( $P > 0,05$ ) entre tratamientos para las coordinadas CIELab ni para C\* y H\* (**Tabla 10**). Estos resultados coinciden con los obtenidos por otros autores (Della Casa et al., 2009; Hanczakowska et al., 2010; Schieck et al., 2010). Los parámetros de color pueden verse afectados por varios factores, intrínsecos y extrínsecos (Sañudo et al, 1998). El veteado obtenido utilizando una escala subjetiva estándar (NPPC, 1991), no mostró diferencias entre los diferentes grupos, tal como indicaron Gipe (2008), Mendoza et al. (2010) y Schieck et al. (2010), en la carne de cerdos alimentados con glicerina cruda.

#### III.1.4. Perfil de ácidos grasos

Los resultados del perfil de ácidos grasos aparecen en la **Tabla 11**. El perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular obtenida del músculo *Longissimus dorsi* no se vio afectada ( $P > 0,05$ ) cuando la glicerina cruda fue incluida en la fase de crecimiento y cebo de los animales. Estos resultados son similares a aquellos obtenidos por otros autores que estudiaron el uso de la glicerina en la dieta de cerdos (Cerneau et al., 1994; Mourot et al., 1994; Kijora et al., 1997; Lammers et al., 2008a; Della Casa et al., 2009). Sin embargo, otros autores encontraron efectos de la adición de la glicerina cruda sobre el perfil de ácidos grasos, así, el ácido linoleico (C18:2) no se vio afectado en nuestro estudio por la adición de glicerina cruda, no siendo así en otros estudios previos, tal como describen Mourot et al. (1993), Cerneau et al. (1994), Kijora et al. (1997), Lammers et al. (2008a) y Della Casa et al. (2009). En estos trabajos se vio que el contenido de ácido linoleico se reducía al añadir glicerina cruda en la dieta. Mourot et al. (1993) sugirieron que este cambio en el perfil podría estar relacionado con un menor consumo de maíz, el cual es rico en ácido linoleico (FEDNA, 2003). En nuestro estudio, el contenido de ácido linoleico fue también reducido por la incorporación de glicerol en la alimentación, pero las diferencias entre distintas dietas fueron mínimas (**Tabla 3**, sección material y métodos). El hecho de que el ácido linoleico sea el más variable de todos los ácidos grasos es debido a que es un ácido graso esencial, por lo que no puede ser sintetizado *de novo* por los animales, siendo por tanto incorporado a través de los alimentos (Granados, 2001). Además, teniendo en cuenta que la composición de la grasa depende estrechamente de perfil de ácidos grasos de la dieta, los ingredientes utilizados en la formulación de la dieta va a determinar la calidad de la grasa. El glicerol es un componente estructural de triglicéridos y fosfolípidos, que puede actuar como intermediario en la lipogénesis o ser fuente de energía a través del ciclo del ácido cítrico (Duttlinger et al., 2012). Por otro lado, la glicerina cruda puede también ser fuente de ácidos grasos *per se*, estudios previos encontraron que la glicerina cruda puede contener hasta un 56% de ácidos grasos, en su mayoría insaturados (Chiloane et al., 2013). Por tanto, el perfil de ácidos grasos puede estar influenciado por el remanente de ácidos grasos presente en la glicerina

cruda. En el presente estudio, el contenido de grasa en la glicerina cruda fue insignificante.

**Tabla 11.** Composición de ácidos grasos (g 100 g<sup>-1</sup>) de la grasa intramuscular del músculo *Longissimus dorsi* de cerdos Large White x Landrace alimentados con 0, 2,5 o 5% de glicerina cruda

		Tratamiento <sup>1</sup>			SEM <sup>2</sup>	Significancia <sup>3</sup>
		Control	G2,5	G5		
10:0	Ácido cáprico	0,09	0,09	0,10	0,003	ns
12:0	Ácido laurico	1,38	1,14	1,36	0,095	ns
14:0	Ácido mirfítico	1,30	1,41	1,34	0,023	ns
16:0	Ácido palimítico	24,56	24,75	24,59	0,326	ns
16:1	Ácido palmitoleico	2,08	2,16	2,26	0,052	ns
18:0	Ácido esteárico	11,84	10,88	11,56	0,166	ns
18:1	Ácido oleico	40,45	41,06	41,16	0,338	ns
18:2	Ácido linoleico	17,08	17,51	17,28	0,263	ns
18:3	Ácido linolenico	0,16	0,08	0,10	0,027	ns
20:0	Ácido araquídico	0,70	0,72	0,66	0,012	ns
SFA		38,78	36,13	39,43	0,631	ns
TUFA		61,22	63,87	60,58	0,631	ns
MUFA		43,98	46,28	43,19	0,736	ns
PUFA		17,24	17,59	17,38	0,263	ns

<sup>1</sup>Control, G2,5, G5: cerdos alimentados con 0%, 2,5%, 5% de glicerina cruda en sustitución de maíz, respectivamente.

<sup>2</sup>SEM: error estándar de la media.

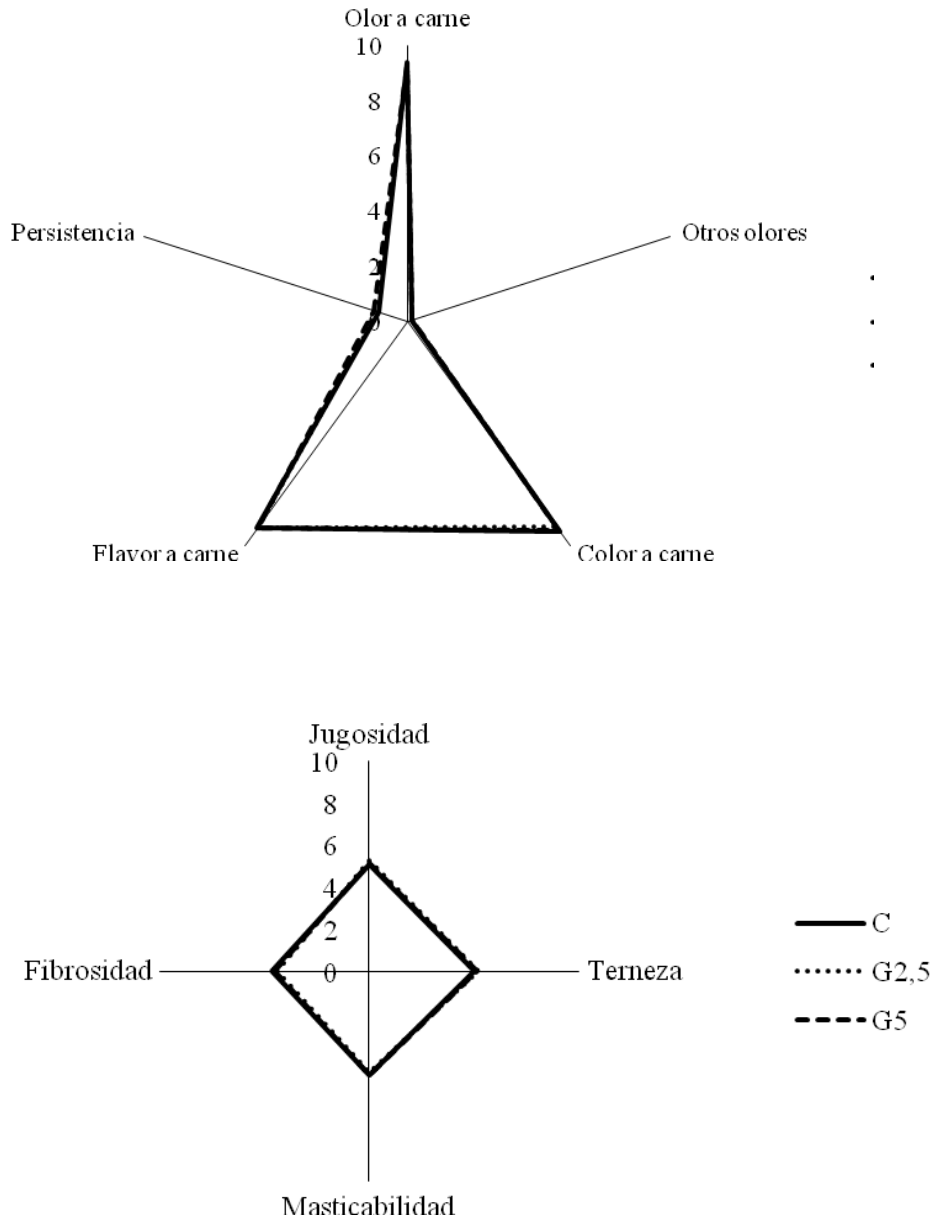
<sup>3</sup>ns: no significativo (P > 0,05).

SFA: ácidos grasos saturados; TUFA: ácidos insaturados totales; MUFA: ácidos grasos monoinsaturados; PUFA: ácidos grasos poliinsaturados.

### III.1.5. Análisis sensorial

La **Figura 18** muestra los diferentes parámetros sensoriales de la carne de cerdos alimentados con diferentes niveles de glicerina cruda (0, 2,5 y 5 %). No hubo diferencias (P > 0,05) entre tratamientos para los parámetros intensidad de olor, otro olores, intensidad de flavor, persistencia, color de la carne, jugosidad, terneza y masticabilidad. Estos resultados coinciden con los encontrados por Lammers et al. (2008a) y Schieck et al. (2010). Hanczakowska et al. (2010) por el contrario, encontraron algunas diferencias en los parámetros de flavor y olor, aunque los autores señalan que al aparecer sólo en la carne de aquellos animales alimentados con glicerina cruda, y no en los que consumieron glicerol puro, las

diferencias en el análisis sensorial puede deberse a otras sustancias residuales que la glicerina cruda sin refinar tenga contenga, y no a un efecto del glicerol *per se*.



**Figura 18.** Análisis sensorial (olor a carne, otros olores, flavor a carne, persistencia, color a carne) y perfil de textura (jugosidad, terneza, masticabilidad y fibrosidad) en el músculo *Longissimus dorsi* de cerdos Large White x Landrace alimentados con 0% (C, control), 2,5% (G2,5) o 5% (G5) de glicerina cruda.







## **III.2. ENSAYO II**

*Efecto de la inclusión de glicerina cruda en la dieta de cerdos cruce Ibérico x Duroc sobre los parámetros de calidad de la canal y la carne*



### ***Efecto de la inclusión de glicerina cruda en la dieta de cerdos cruce Ibérico x Duroc sobre los parámetros de calidad de la canal y la carne***

Para estudiar el efecto de la glicerina cruda sobre la calidad de la canal y de la carne de cerdos cruce Ibérico x Duroc, se cogieron 90 animales (45 hembras y 45 machos castrados) y fueron divididos aleatoriamente en tres grupos, recibiendo cada uno un 0 (control), 5 (G5) o un 10% (G10) de glicerina cruda en la dieta en sustitución de trigo. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

#### **III.2.1. Medidas de ultrasonidos**

La **Tabla 12** muestra el efecto de la alimentación de cerdos con glicerina cruda sobre los valores obtenidos por ultrasonidos del área del músculo *Longissimus thoracis* y el grosor y área de la grasa dorsal. No hubo efecto de la dieta sobre el depósito de grasa o el UAL ( $P < 0,05$ ), lo que coincide con los resultados obtenidos por Lammers et al. (2008a), quienes no encontraron diferencias en las medidas realizadas con ultrasonidos en cerdos de cruce Cambrought alimentados hasta con un 10% de glicerina cruda durante 138 días.

Los cerdos machos castrados presentaron valores más altos de UETD2 que las hembras enteras ( $P = 0,049$ ), aunque estas diferencias tienen una relevancia práctica mínima (3,41 vs. 3,05 cm respectivamente). Estos resultados son similares a los hallados por Peinado et al. (2008), quienes describieron que las canales de las hembras y machos castrados tenían valores más altos de grasa subcutánea que las canales de hembras enteras. Además, Lammers et al. (2008a) encontraron valores más altos de grasa subcutánea a nivel de la 10ª costilla en machos castrados que en hembras enteras, ambos alimentados con glicerina cruda.

#### **III.2.2. Calidad de la canal**

No se encontraron diferencias significativas para la interacción entre dieta y sexo para ninguno de los tratamientos estudiados, y por tanto sólo los efectos principales son presentados en la **Tabla 13**. La glicerina cruda incorporada hasta en un 10 % en la dieta de los animales no afectó ( $P > 0,05$ ) al peso vivo final, LC

o ETD2. Estos resultados son similares a los encontrados por Della Casa et al., (2009), quienes no vieron diferencias en los parámetros de calidad de la canal de cerdos pesados alimentados con un 5 y 10 % de glicerina. Hanczakowska et al. (2010) hallaron, que la canal de cerdos sacrificados con un peso de 110 kg que recibieron glicerina cruda en la dieta, tenían un grosor del tocino dorsal menor que los del grupo control y que aquellos que recibieron glicerina refinada.

**Tabla 12** Efecto de la alimentación con glicerina cruda sobre los valores del área del músculo *Longissimus thoracis* y grosor y área del tocino dorsal de cerdos cruce Ibérico x Duroc.

	EGC <sup>1</sup>			ES <sup>2</sup>		SEM	P-value	
	Control	G5	G10	Machos castrados	Hembras		EGC	ES
<i>Inicial</i>								
UETD1 (cm)	3,16	2,96	2,83	2,97	3,00	0,087	0,291	0,853
UETD2 (cm)	2,11	1,91	1,95	2,09	1,88	0,063	0,435	0,108
UETD3 (cm)	2,65	2,53	2,39	2,55	2,49	0,077	0,378	0,696
UAT (cm <sup>2</sup> )	32,6	30,0	28,3	31,4	29,2	1,05	0,233	0,288
UAL (cm <sup>2</sup> )	30,5	31,1	28,0	30,0	29,7	0,84	0,254	0,838
<i>Final</i>								
UETD1 (cm)	4,10	4,07	3,90	4,09	3,96	0,096	0,672	0,516
UETD2 (cm)	3,23	3,33	3,14	3,41	3,05	0,091	0,714	0,049
UETD3 (cm)	4,17	4,14	3,99	4,18	4,08	0,102	0,763	0,453
UAT (cm <sup>2</sup> )	49,3	47,5	48,7	48,7	48,3	1,29	0,841	0,876
UAL (cm <sup>2</sup> )	42,0	40,1	40,7	41,5	40,3	0,81	0,615	0,443

<sup>1</sup>EGC: efecto de la glicerina cruda. Control, G5 y G10: grupos de cerdos alimentados con un 0, 5 y 10% de glicerina respectivamente, en sustitución de trigo.

<sup>2</sup>ES: efecto sexo

SEM = Error estándar de la media

UETD1: Espesor del tocino dorsal, tomado perpendicularmente en la línea media dorsal a la altura de la última costilla, desde la piel al músculo *Longissimus thoracis*; UETD2: Espesor del tocino dorsal, medido 6 cm de la línea dorsal media, desde la piel al músculo *Longissimus thoracis*; UETD3: Espesor del tocino dorsal, medido desde el borde distal más alejado de la línea dorsal media, desde la piel al músculo *Longissimus thoracis*; UTDA: Área de la grasa, limitada por el músculo *Longissimus thoracis* (cara superior), la piel (cara interna) y las medidas descritas en UETD1 y UETD 3; UAL: Área del músculo *Longissimus thoracis*.

La interacción EGC x ES no fue significativa (P > 0.05).

Además, no hubo diferencias en el peso final entre sexos (P > 0.05). Estos resultados coinciden con los obtenidos en estudios previos donde se comparan machos castrados y hembras castradas y enteras de raza Ibérica (Serrano et al., 2008a,b). La LC y ETD2 fueron parecidos entre hembras y machos castrados (P > 0,05). Por el contrario, Serrano et al. (2008b) observaron que las canales de hembras Ibéricas enteras eran más largas que aquellas de los machos castrados.

Serrano et al. (2008a,b) encontraron que las canales de los cerdos castrados de los cerdos Ibéricos eran más grasas que las de las hembras enteras. Esto puede deberse a un menor consumo en las hembras, las cuales tienden a tener un IC mejor y unas canales menos grasas (Serrano et al., 2008b).

**Tabla 13.** Calidad de la canal y de la carne de hembras enteras y machos castrados Ibérica x Duroc alimentados con glicerina cruda (0, 5 y 10%)

	EGC <sup>1</sup>			ES <sup>2</sup>		SEM	P-value	
	Control	G5	G10	Machos castrados	Hembras		EGC	ES
<i>Animal</i>								
Peso vivo final (kg)	148	156	148	155	146	3,2	0,526	0,161
<i>Calidad de la canal</i>								
LC (cm)	89,3	89,5	89,5	89,3	89,6	0,31	0,946	0,663
ETD <sub>2</sub> (cm)	4,52	4,45	4,70	4,69	4,42	0,097	0,552	0,173
<i>Composición química de la carne</i>								
Humedad (%)	70,7	71,4	70,6	70,3	71,5	0,31	0,556	0,054
Proteínas (%)	23,0	22,8	22,4	22,6	22,9	0,21	0,510	0,581
Grasa (%)	5,51	4,97	6,02	5,99	5,01	0,224	0,178	0,033
pH <sub>45</sub>	6,15	6,19	6,31	6,30	6,13	0,040	0,229	0,029
pH <sub>24</sub>	5,55	5,55	5,56	5,54	5,56	0,020	0,955	0,651

<sup>1</sup> EGC: efecto de la glicerina cruda. Control, G5 y G10: grupos de cerdos alimentados con un 0, 5 y 10% de glicerina respectivamente, en sustitución de trigo.

<sup>2</sup> ES: efecto sexo

SEM = Error estándar de la media

La interacción EGC x ES no fue significativa para ninguno de los tratamientos ( $P > 0,1$ ) excepto para la grasa ( $P < 0,05$ ).

LC: longitud de la canal; ETD<sub>2</sub>, espesor del tocino dorsal medido con regla milimetrada medida a las altura de la 10ª costilla; pH<sub>45</sub>: medidas de pH tomadas 45 minutos después del sacrificio; pH<sub>24</sub>: medidas pH tomadas 24 horas después del sacrificio.

<sup>a,b,c</sup> Medias con diferentes superíndices difieren significativamente ( $P < 0,05$ ).

### III.2.3. Calidad de la carne

La calidad de la carne de cerdos Ibérico x Duroc aparece en la **Tabla 13**. No hubo un efecto de la inclusión de glicerina cruda sobre el contenido de humedad, proteína o grasa intramuscular ( $P > 0,05$ ), lo que coincide con los resultados obtenidos por Della Casa et al. (2009) quienes no encontraron diferencias en la composición proximal de cerdos pesados alimentados con hasta un 10 % de glicerol. El contenido de grasa fue mayor en el grupo de cerdos

castrados (5,99 vs. 5,01 %) que en el de las hembras ( $P < 0,05$ ). De forma similar, Serrano et al. (2009) encontraron que la grasa intramuscular era mayor en machos Ibéricos castrados que en hembras criadas en sistema intensivo. Esto se debe a que la castración aumenta el contenido de grasa intramuscular (Gispert et al., 2010). Hubo una interacción entre el tratamiento con glicerina cruda y el sexo en el parámetro de grasa, mientras que Lammers et al. (2008a) no observaron dicha interacción entre estos dos factores.

Los resultados del pH medido 45 minutos y 24 horas *post-mortem* aparecen en la **Tabla 13**. No hubo diferencias ( $P > 0.05$ ) entre el pH de los lomos de los diferentes grupos tratados con glicerina cruda (Control, G5 o G10). Estos resultados son similares a aquellos encontrados previamente en carne de cerdos - con alto peso al sacrificio alimentados con glicerol (Della Casa et al., 2009) y de cerdos de razas comerciales (Hansen et al., 2009; Schieck et al., 2010).

El  $pH_{45}$  se vio afectado por el sexo ( $P < 0,05$ ), siendo menor en hembras, lo cual coincide con el estudio de Serrano et al. (2008a), quienes observaron diferencias en el pH de la carne de hembras enteras y machos castrados de cruce de hembra Ibérica x macho Duroc. En otro estudio de cruces de Ibérico, Serrano et al. (2008b) también encontraron niveles de pH más altos en lomos de machos castrados que de hembras. Las condiciones en el transporte y el tiempo de reposo en el matadero son los principales factores que tienen influencia sobre el pH de la canal, y el manejo antes del sacrificio puede afectar a machos y hembras de manera diferente (Pineiro et al., 2001). De todas formas, cuando el pH fue medido a las 24h no hubo diferencias ( $P > 0,05$ ) entre sexos, lo que coincide con Peinado et al. (2012), quienes encontraron que no hubo diferencias en el pH entre sexos de cerdos Ibéricos sacrificados a los 133 y 139 kg. En el presente estudio, aunque el inicial  $pH_{45}$  fue diferente entre sexos, la caída del mismo fue similar, obteniendo resultados parecidos a las 24 horas.

#### III.2.4. CRA, PG y PC

La **Tabla 14** presenta los resultados de capacidad de retención de agua de los lomos de los diferentes tratamientos y en ella se observa que, ni la inclusión de

glicerina cruda ni el sexo afectó la CRA o las PG ( $P > 0,05$ ). Además, no hubo diferencias entre machos castrados y hembras para las PC ( $P > 0,05$ ), un parámetro que se vio disminuido en el grupo G10 ( $P < 0,05$ ). Resultados similares fueron encontrados por Mourot et al. (1994) en cerdos alimentados con 5 % de glicerol. Este estudio explica que el glicerol posee propiedades osmóticas, las cuales podrían mejorar las PC. Por el contrario, Della Casa et al., (2009) no encontraron diferencias en el grupo control y aquellos alimentados con un 10% de glicerol. Estas diferencias entre los estudios pueden deberse a varios factores, tales como la distancia de transporte. Los animales utilizados en el presente estudio fueron transportados una distancia larga antes del sacrificio, la posibilidad de una situación más estresante pudo acarrear un daño en los aminoácidos, con el consecuente aumento en las PC, tal como describe Parker et al. (2007). Estos autores destacaron que el uso de glicerol en otras especies, como los rumiantes, puede prevenir el daño en aminoácidos producido por las hormonas del estrés, dado que el glicerol es una fuente fácil y rápida de energía. Por esta razón, las menores PC en la carne del grupo G10 puede ser indicativa de un cierto efecto protector del glicerol en los tejidos musculares.

### III.2.5. Color y veteado

No hubo interacciones entre dieta y sexo para ninguno de los parámetros recogidos en la **Tabla 14**, por tanto sólo son presentados los efectos principales. Se obtuvieron resultados similares para ambos sexos en los parámetros de color NPPC,  $L^*$ ,  $b^*$  y  $H^*$  ( $P > 0,05$ ). No hubo efecto de la inclusión de glicerol sobre el parámetro de veteado ( $P > 0,05$ ). Por el contrario, el grupo G10 presentó valores más altos de  $a^*$  ( $P < 0,01$ ) que el grupo control (menos rojo), y valores más bajos de  $C^*$  ( $P < 0,001$ ). Esto puede estar relacionado con la puntuación de veteado, ya que el grupo G10 tuvo valores numéricos más altos (4,08 vs. 3,40 para G10 y grupo control, respectivamente). Además, hubo una correlación positiva entre  $C^*$  y el veteado ( $r^2 = 0,216$ ;  $P < 0,05$ ). En este sentido, Della Casa et al. (2009) encontraron que los lomos de cerdos alimentados con un 5 y un 10% de glicerol, durante la fase de finalización tenían valores de veteado más altos. Sin embargo, Della Casa et al. (2009) no encontraron diferencias en los parámetros de color. De manera similar, otros estudios (Lammers et al. 2008a; Hansen et al., 2009,

Schieck et al., 2010), en los cuales utilizan cerdos de razas comerciales que se llevan a sacrificio con pesos menores, tampoco encontraron diferencias en los parámetros de color. Hay que tener en cuenta que, las razas comerciales presentan una respuesta diferente al depósito de grasa en comparación a las razas tradicionales, siendo mayor en estos últimos (Lee et al., 1973).

**Tabla 14.** Calidad de la carne de hembras enteras y machos castrados Ibérica x Duroc alimentados con glicerina cruda (0, 5 y 10%)

	EGC <sup>1</sup>			ES <sup>2</sup>		SEM	P-value	
	Control	G5	G10	Machos castrados	Hembras		EGC	ES
<i>Capacidad de retención de agua</i>								
CRA (%)	76,5	77,8	78,0	78,0	76,9	0,36	0,192	0,141
PG 72 (%)	2,29	2,08	2,12	2,26	2,06	0,088	0,580	0,260
PG120 (%)	2,78	2,59	2,62	2,73	2,60	0,089	0,632	0,475
PG finales (%)	0,50	0,51	0,51	0,47	0,54	0,030	0,976	0,240
PC (%)	22,8 <sup>a</sup>	20,4 <sup>a,b</sup>	19,9 <sup>b</sup>	20,7	21,4	0,43	0,017	0,454
<i>Parámetros de color</i>								
<i>L*</i>	49,4	49,7	49,6	50,1	49,0	0,38	0,955	0,142
<i>a*</i>	8,68 <sup>a</sup>	8,18 <sup>a,b</sup>	7,65 <sup>b</sup>	8,11	8,22	0,118	0,003	0,643
<i>b*</i>	2,12	1,66	1,56	1,92	1,64	0,114	0,109	0,225
<i>C*</i>	9,00 <sup>a</sup>	8,40 <sup>a,b</sup>	7,85 <sup>b</sup>	8,38	8,45	0,128	0,002	0,797
<i>H*</i>	13,4	11,1	11,3	12,9	11,0	0,69	0,331	0,169
NPPC color	3,27	3,37	3,33	3,15	3,49	0,107	0,926	0,110
Veteado	3,40	3,72	4,08	4,04	3,43	0,142	0,155	0,032

<sup>1</sup> EGC: efecto de la glicerina cruda. Control, G5 y G10: grupos de cerdos alimentados con un 0, 5 y 10% de glicerina respectivamente, en sustitución de trigo.

<sup>2</sup> ES: efecto sexo

SEM = Error estándar de la media

CRA: capacidad de retención de agua, PG: pérdidas por goteo, PC: pérdidas por cocción, *L\**: brillo, *a\**: verde-rojo, *b\**: azul-amarillo, *H\**: Hue, *C\**: Chroma.

<sup>a,b,c</sup> Medias con diferentes superíndices difieren significativamente (P < 0,05).

Se han observado valores más altos de veteado en machos castrados que en hembras (P < 0,05), lo que se corresponde con los resultados obtenidos en estudios previos (Latorre et al., 2004). Estos resultados eran esperados debido al mayor depósito de grasa que tienen los machos castrados (Candek-Potokar et al., 2002). Alonso et al. (2009), también observaron que los machos castrados tenían valores más altos de grasa intramuscular que las hembras. En nuestro estudio, hubo una correlación positiva ( $r^2 = 0,730$ ; P < 0,01) entre el contenido de grasa intramuscular y el veteado, parámetro que tiene gran importancia debido a la



influencia que tienen sobre la aceptación por parte del consumidor en este tipo de productos tradicionales. No hubo diferencias en los parámetros de color entre los diferentes sexos ( $P < 0,05$ ). Por el contrario, otros estudios (Latorre et al., 2004, Alonso et al., 2009) destacaron que la carne de cerdos castrados tenía valores más altos de  $a^*$  y  $b^*$  que las hembras. Cisneros et al. (1996) observaron que la carne de cerdos castrados tenía un contenido más alto de mioglobina que la carne de hembras, lo que podría producir carnes más rojas en machos castrados.

### **III.2.6. Perfil de ácidos grasos**

#### **III.2.6.1. Perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular**

Los niveles de C14:0, C16:0, C16:1, C17:0, C18:0, C18:1, C18:2, C20:0 y C20:4 en la grasa intramuscular (**Tabla 15**) fueron similares para los diferentes tratamientos y entre machos castrados y hembras ( $P > 0,05$ ). Aunque hubo una ligera reducción en C10:0, C12:0, y C18:3 cuando la glicerina cruda fue añadida a la dieta de los animales ( $P < 0,01$ ), no es destacable debido al escaso efecto que ésta puede tener sobre la calidad global del producto. Por otro lado, la ligera reducción observada en el ácido linoleico (C18:3), no tendría un impacto importante sobre la salud humana (Ensminger et al., 1995). De manera similar, Della casa et al. (2009) no encontraron diferencias en el perfil de ácidos grasos de la grasa de la carne de cerdos alimentados con glicerol.

Los ácidos grasos C12:0 y C18:3 se vieron afectados por el sexo ( $P < 0,05$ ), siendo los valores más altos para las hembras en comparación a los machos castrados, sin embargo no hubo diferencias en el contenido total de SFA.

En general, se puede incluir hasta un 10 % de glicerol en la dieta de los animales, sin grandes cambios en el perfil de ácidos grasos. Estos resultados son interesantes, debido a que el flavor característico de los productos de carne de raza Ibérica están fuertemente influenciados por el perfil de ácidos grasos de la carne fresca (Muriel et al., 2004).

**Tabla 15.** Perfil de ácidos grasos (%) de la grasa intramuscular de hembras enteras y machos castrados Ibérica x Duroc alimentados con glicerina cruda (0, 5 y 10%)

		EGC <sup>1</sup>			ES <sup>2</sup>		SEM	P-value	
		Control	G5	G10	Machos castrados	Hembras		EGC <sup>1</sup>	ES <sup>2</sup>
C10:0	Ácido cáprico	0,22 <sup>b</sup>	0,22 <sup>b</sup>	0,18 <sup>a</sup>	0,20	0,21	0,006	0,004	0,161
C12:0	Ácido laurico	0,10 <sup>b</sup>	0,09 <sup>ab</sup>	0,09 <sup>b</sup>	0,09	0,10	0,002	0,003	0,035
C14:0	Ácido mirítico	2,28	2,20	2,07	2,17	2,19	0,032	0,054	0,732
C16:0	Ácido palimítico	21,3	21,0	20,5	20,9	20,9	0,148	0,115	0,971
C16:1	Ácido palmitoleico	6,46	6,65	6,15	6,24	6,60	0,14	0,296	0,199
C17:0	Ácido esteárico	0,13	0,11	0,12	0,13	0,12	0,005	0,417	0,244
C18:0	Ácido oleico	22,9	22,9	23,3	23,8	22,3	0,315	0,776	0,022
C18:1	Ácido linoleico	40,9	40,5	41,7	40,7	41,4	0,327	0,262	0,294
C18:2	Ácido linolenico	4,10	4,29	3,95	4,01	4,21	0,122	0,471	0,420
C18:3	Ácido araquídico	0,36 <sup>b</sup>	0,29 <sup>a</sup>	0,30 <sup>ab</sup>	0,30	0,34	0,007	0,003	0,014
C20:0		0,14	0,14	0,14	0,15	0,14	0,003	0,541	0,109
C20:4		1,22	1,74	1,50	1,40	1,58	0,088	0,068	0,313
SFA		47,0	46,6	46,4	47,4	45,9	0,436	0,867	0,097
UFA		47,3	47,1	47,8	46,9	48,0	0,4	0,724	0,193
PUFA		5,67	6,33	5,76	5,71	6,13	0,205	0,339	0,315
TUFA		53,0	53,4	53,6	52,6	54,1	0,436	0,867	0,097
UFA/SFA		1,02	1,02	1,04	1,00	1,05	0,018	0,830	0,153
PUFA/SFA		0,12	0,14	0,13	0,12	0,14	0,005	0,469	0,203
TUFA/SFA		1,14	1,15	1,16	1,12	1,18	0,021	0,882	0,119
DFA		75,9	76,3	76,9	76,4	76,3	0,175	0,068	0,970

<sup>1</sup> EGC: efecto de la glicerina cruda. Control, G5 y G10: grupos de cerdos alimentados con un 0, 5 y 10% de glicerina respectivamente, en sustitución de trigo.

<sup>2</sup> ES: efecto sexo

SEM = Error estándar de la media

La interacción EGC x ES fue no significativa ( $P > 0,1$ ) para todos los tratamientos salvo para el C12 ( $P < 0,05$ )

SFA: ácidos grasos saturados; TUFA: ácidos insaturados totales; MUFA: ácidos grasos monoinsaturados; PUFA: ácidos grasos poliinsaturados, DFA: ácidos grasos deseables (PUFA + C18:0)

### III.2.6.2. Perfil de ácidos grasos de la grasa subcutánea

Los niveles de C10:0, C12:0, C14:0, C16:0, C16:1, C17:0, C18:0, C18:1, C18:2 y C20:4 en grasa subcutánea (**Tabla 16**) fue similar para las tres dietas ( $P > 0,05$ ). Hubo un efecto lineal entre la incorporación de glicerina y los ácidos grasos C18:2 y C20:0 ( $P < 0,05$ ). Estos ácidos grasos se vieron aumentados (C18:2) y disminuidos (C20:0) cuando los animales fueron alimentados con glicerina cruda. Como consecuencia, hubo una reducción de los PUFA en los animales alimentados con glicerina cruda. Estudios previos han demostrado que los ácidos grasos poliinsaturados son más propensos a la oxidación, provocando el desarrollo de procesos de rancidez del producto durante el almacenamiento (Wood et al., 2003). En este sentido, una menor cantidad de ácidos grasos insaturados podría alargar la vida útil del producto. Está extensamente aceptado que el perfil de ácido grasos de la grasa en monogástricos está estrechamente relacionada con el perfil de ácidos grasos de la dieta (Duttinger et al., 2012), principalmente debido al efecto inhibitorio de la síntesis de ácidos grasos *de novo* en favor de la deposición directa de los ácidos grasos de la dieta (Chilliard, 1993). Por tanto, la sustitución del cereal por el glicerol puede producir un cambio en el perfil de ácidos grasos. El glicerol es absorbido y entra en el proceso metabólico siendo convertido en ácido grasos *de novo*, los cuales normalmente son saturados.

Aunque la deposición grasa es menos pronunciada en razas comerciales, otros estudios han observado que las dietas de finalización de cerdos alimentados con glicerol han aumentado los niveles de ácido oleico y disminuido los niveles de linoleico y linolénico en la grasa subcutánea, lo que resultaría en un mayor grado de saturación (Mourot et al., 1994). En estudios previos, Della Casa et al. (2009) observaron que la grasa subcutánea de grupo que había recibido el tratamiento con glicerol tenía niveles más altos de ácido octadecenoico.

**Tabla 16.** Perfil de ácidos grasos (%) de la grasa subcutánea de hembras enteras y machos castrados Ibérica x Duroc alimentados con glicerina cruda (0, 5 y 10%)

		EGC <sup>1</sup>			ES <sup>2</sup>		SEM	P-value	
		Control	G5	G10	Machos castrados	Hembras		EGC <sup>1</sup>	ES <sup>2</sup>
C10:0	Ácido cáprico	0,07	0,08	0,07	0,07	0,07	0,001	0,205	0,946
C12:0	Ácido laurico	0,11	0,10	0,10	0,11	0,10	0,003	0,908	0,554
C14:0	Ácido mirítico	1,22	1,26	1,28	1,29	1,22	0,015	0,279	0,031
C16:0	Ácido palimítico	25,0	25,4	25,5	25,8	24,7	0,154	0,458	0,001
C16:1	Ácido palmitoleico	2,28	2,22	2,27	2,29	2,22	0,058	0,900	0,599
C17:0	Ácido esteárico	0,29	0,33	0,33	0,33	0,30	0,009	0,218	0,192
C18:0	Ácido oleico	13,9	14,9	14,7	15,0	14,0	0,245	0,301	0,041
C18:1	Ácido linoleico	45,8	44,8	45,5	45,1	45,6	0,298	0,334	0,353
C18:2	Ácido linolenico	10,3	10,0	9,22	9,01	10,70	0,148	0,012	0,000
C18:3	Ácido araquídico	0,49	0,50	0,46	0,44	0,53	0,009	0,138	0,000
C20:0		0,16	0,18	0,31	0,27	0,16	0,022	0,015	0,015
C20:4		0,34	0,34	0,31	0,30	0,36	0,008	0,092	0,000
SFA		40,8	42,1	42,3	42,9	40,6	0,328	0,157	0,001
UFA		48,1	47,0	47,7	47,3	47,8	0,325	0,354	0,447
PUFA		11,1	10,8	9,99	9,75	11,59	0,162	0,015	0,000
TUFA		59,2	57,9	57,7	57,1	59,4	0,328	0,157	0,001
UFA/SFA		1,19	1,12	1,14	1,11	1,19	0,016	0,278	0,024
PUFA/SFA		0,28	0,26	0,24	0,23	0,29	0,005	0,011	0,000
TUFA/SFA		1,46	1,38	1,38	1,34	1,47	0,019	0,150	0,001
DFA		73,2	72,7	72,4	72,1	73,4	0,163	0,225	0,000

<sup>1</sup> EGC: efecto de la glicerina cruda. Control, G5 y G10: grupos de cerdos alimentados con un 0, 5 y 10% de glicerina respectivamente, en sustitución de trigo.

<sup>2</sup> ES: efecto sexo

SEM = Error estándar de la media

La interacción EGC x ES fue no significativa ( $P > 0,1$ ) para todos los tratamientos salvo para el C12 ( $P < 0,05$ )

SFA: ácidos grasos saturados; TUFA: ácidos insaturados totales; MUFA: ácidos grasos monoinsaturados; PUFA: ácidos grasos poliinsaturados, DFA: ácidos grasos deseables (PUFA + C18:0)

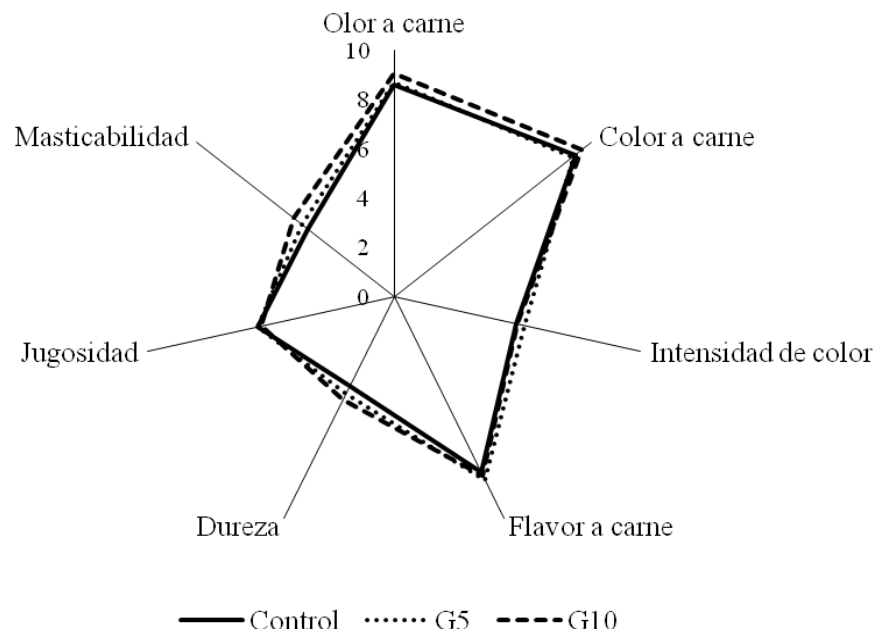
Además, los machos castrados presentaron un contenido mayor de SFA que las hembras enteras ( $P < 0,05$ ), mientras el nivel de PUFA se vio disminuido. Resultados similares fueron observados por Nürnberg et al. (1998), donde la concentración relativa de ácido linoleico y PUFA en grasa subcutánea se vio disminuida en el orden siguiente machos>hembras>machos castrados, mientras que el porcentaje de ácidos grasos saturados se vio aumentado. Por el contrario, Ramírez y Cava (2007) no encontraron efecto del sexo en la composición de ácidos grasos de la grasa intramuscular y subcutánea. Algunos estudios (Zhang et al., 2007) han sugerido que el sexo puede tener un efecto específico en la actividad de las enzimas involucradas en la elongación de las cadenas de PUFA.

### III.2.7. Análisis sensorial

Los parámetros correspondientes al análisis sensorial (QDA) de la carne de los tres tratamientos son presentados en la **Figura 19**. La inclusión de glicerina cruda en la dieta no afectó ( $P > 0.05$ ) al olor a carne, color de la carne, intensidad de color, flavor a carne, dureza o jugosidad. Hanczakowska et al. (2010) encontraron en animales alimentados con hasta un 10% de glicerina cruda una disminución significativa en los parámetros olor y sabor típico de la carne, pero no cuando se añadía la misma cantidad de glicerol puro, por lo que este descenso en la puntuación es atribuido a la presencia de algunas sustancias en la preparación, y no debido al glicerol *per se*. Por el contrario, Della Casa et al. (2009) encontraron diferencias en el color y terneza entre los grupos control y glicerina cruda en cerdos pesados alimentados con un 5% de glicerina cruda en la fase de crecimiento. Los autores indican que dichas diferencias son pequeñas dentro de la escala utilizada (0-10).

El grupo G10 tuvo valores más altos de masticabilidad ( $P < 0,01$ ), estando este parámetro correlacionado positivamente con la dureza ( $r^2=0,504$ ;  $P < 0,01$ ). La influencia del glicerol en la textura no está clara. Se debe destacar de todas formas que, estas diferencias tienen una magnitud de 0,7 unidades en un trabajo con panel entrenado. Por tanto, debe considerarse que tienen muy baja relevancia práctica, ya que se necesita por lo general mínimo una unidad de diferencia en

panel entrenado para que los consumidores puedan detectar dicha diferencia (Jeremiah et al., 1999).



**Figura 19.** Análisis sensorial (Olor a carne, flavor a carne, color a carne, intensidad de color) y perfil de textura (jugosidad, terneza y masticabilidad) en el músculo Longissimus dorsi de cerdos Ibéricos x Duroc alimentados con 0% (C, control), 5% (G5) o 10% (G10) de glicerina cruda.







### **III.3. ENSAYO III**

*Efecto de la inclusión de glicerina cruda en la dieta de toros Limousin sobre los parámetros producción, calidad de la canal y la carne*



## **Efecto de la inclusión de glicerina cruda en la dieta de toros Limousin sobre los parámetros producción, calidad de la canal y la carne**

Se llevó a cabo un estudio donde toros jóvenes de raza Limousin fueron alimentados con tres niveles de glicerina cruda 0 (control), 2 (G2) y 4% (G4) en sustitución de cebada. Se vio los efectos que esta tuvo sobre los parámetros productivos, de calidad de la canal y de la carne de los mismos. Del mismo se obtuvieron los siguientes resultados.

### **III.3.1. Parámetros de producción**

La **Tabla 17** presenta los resultados obtenidos del efecto de la inclusión de glicerina cruda sobre los parámetros de rendimiento en granja de toros Limousin. La incorporación de hasta un 4% de glicerina cruda en la dieta de los animales durante el período de finalización no afectó ( $P > 0,05$ ) al peso vivo final, GMD, IMD o el IC. La ganancia media diaria e ingestión media diaria de los animales fue 1.54 kg/d y 8.97 kg/d respectivamente. Los toros Limousin fueron criados siguiendo el sistema típico de producción de carne en el sureste de España, en el cual las dietas está compuestas de concentrado y forraje, ambos administrados *ad libitum*. El porcentaje de concentrado en la dieta fue 84, 85 y 83% para los grupos control, G2 y G4, respectivamente, pero la ingestión tanto de forraje como de concentrado no se vio afectada por la administración de glicerina cruda ( $P > 0,05$ ). Mach et al. (2009) indicaron que el consumo de pienso de toros Holstein no se vio afectada con la inclusión de hasta un 12 % de glicerina cruda en la dieta. Por el contrario, Parsons et al. (2009) encontraron que el consumo de materia seca decrecía linealmente mientras que la concentración de glicerina en la dieta aumentaba (de 0 a 16 %). Probablemente esto se deba al efecto negativo que tiene la glicerina sobre la flora ruminal (Roger et al., 1992). Los resultados del presente estudio coinciden con investigaciones previas donde la ganancia media diaria no se vio afectada por el consumo de glicerina (Bartoñ et al., 2013; Mach et al., 2009). Por el contrario, Parsons et al. (2009) obtuvo diferentes resultados en animales pesados (421 kg peso vivo inicial) alimentados con diferentes niveles de glicerina cruda en sustitución de copos de maíz durante 85 días. Cuando los animales fueron alimentados con niveles de 2, 4 y 8% de glicerina cruda, la

ganancia media diaria aumentó. Sin embargo esta disminuyó al utilizar niveles más altos de glicerina (12 y 16%). El tipo de ingrediente reemplazado puede influir en los parámetros productivos, dependiendo si éstos son más o menos energéticos. Además el contenido de glicerina, grasa, sal y metanol de la glicerina cruda utilizada puede afectar a los resultados (Hanczakowska et al., 2010; Schieck et al., 2010). El IC no se vio afectado por la adición de glicerina cruda, lo que coincide con los resultados obtenidos por Mach et al. (2009), quienes incluyeron hasta un 12% de glicerina cruda en la dieta de toros Holstein. No obstante algunos estudios han registrado una mejora del IC después de añadir glicerina en las dietas (Parsons et al., 2009).

**Tabla 17.** Efecto de la inclusión de glicerina cruda en la dieta de toros Limousin sobre el consumo de pienso, parámetros de crecimiento y medidas de ultrasonidos.

	Tratamiento <sup>1</sup>			SEM	P-value <sup>2</sup>
	Control	G2	G4		
Peso vivo inicial (kg)	282	254	283	15,1	0,814
Peso vivo final (kg)	646	637	648	9,33	0,875
GMD (kg d <sup>-1</sup> )	1,51	1,60	1,52	0,02	0,122
<i>IMD (kg MS d<sup>-1</sup>)</i>					
Concentrado	7,53	7,78	7,42	0,134	0,573
Forraje	1,39	1,36	1,44	0,028	0,550
Consumo total	8,93	9,14	8,87	0,158	0,769
IC (kg kg <sup>-1</sup> )	0,170	0,176	0,173	0,004	0,801
<i>Medidas de ultrasonidos<sup>3</sup></i>					
Área del LM (cm <sup>2</sup> )	104,3	103,1	104,3	0,77	0,743
Grosor del panículo dorsal 12 <sup>a</sup> costilla (mm)	11,0	9,54	9,94	0,31	0,215
Grosor de la grasa de grupa (mm)	9,46	8,14	8,78	0,24	0,092

<sup>1</sup> Control, G2 y G4: grupos de toros alimentados con un 0, 2 y 4% de glicerina respectivamente, en sustitución de cebada.

<sup>2</sup> Efecto tratamiento

Peso final vivo usado como covariable en el modelo estadístico (media = 650,2 kg).

SEM = Error estándar de la media

MS: materia seca; GMD: ganancia media diaria; IMD: ingesta media diaria; IC: índice de conversión.

La administración de glicerina cruda no tuvo efecto sobre los parámetros obtenidos por ultrasonidos (ETD y AL) ( $P > 0,05$ ; **Tabla 17**). Por el contrario, Parsons et al. (2009) encontraron una reducción en la grasa subcutánea de animales alimentados con glicerina cruda (hasta un 16 %). Las diferencias entre

estos resultados pueden deberse a que las dosis utilizadas de glicerol por otros autores fueron mayores. Algunos estudios con niveles altos de glicerina encontraron que dichas dosis pueden perjudicar la fermentación ruminal provocando una reducción de la digestión de la fibra y la producción de acetato (utilizada en la síntesis de grasa en rumiantes) debido a la alteración de la flora ruminal (Abo El-Nor et al., 2010).

### III.3.2. Canal y composición proximal

En el presente estudio, la inclusión de glicerina cruda en la dieta no tuvo efecto ( $P > 0,05$ ) sobre los parámetros de peso canal caliente, peso de la canal, rendimiento a la canal o longitud de la canal (**Tabla 18**). La glicerina cruda parece tener una cantidad de energía metabolizable similar a la cebada, permitiendo un crecimiento y desarrollo normal de los animales, tal como se muestra en este estudio. Esto se deba probablemente a que la glicerina cruda es convertida en ácidos grasos volátiles en rumen, los cuales proveen de energía al animal (Mach et al., 2009). Resultados similares fueron descritos en estudios previos (Mach et al., 2009; Françoze et al., 2013) en los cuales no encontraron diferencias en el peso de la canal ni en el rendimiento de la canal en toros alimentados hasta con un 12% de glicerina cruda en la dieta. Sin embargo, hay algo de controversia en este sentido, ya que Parsons et al. (2009) encontró que el peso de la canal podía verse aumentado si se alimenta a novillas durante 85 días con hasta un 8% de glicerina cruda en una dieta basada en copo de maíz, siendo el óptimo un 2%. Por el contrario, el peso de la canal se vio reducido cuando la glicerina se añadió utilizando porcentajes más elevado (entre un 12 y un 16%). Esto puede deberse a que se ha observado que el consumo de pienso se ve disminuido cuando se utilizan porcentajes por encima del 10% (Schröder y Südekum, 1999). El tratamiento no afectó ( $P > 0,05$ ) a la composición proximal del músculo *Longissimus dorsi* (humedad, proteínas y grasa; **Tabla 18**). Otros autores encontraron resultados similares (Bartoñ et al., 2013; Françoze et al., 2013; Eiras et al., 2014) utilizando la glicerina cruda en alimentación de toros. El contenido de grasa total de los tres grupos no se vio afectado, debido a que el aporte energético de los tres grupos fue similar, dado que las dietas control y tratamiento fueron calculadas para ser isoenergéticas. El balance energético y el depósito de tejido

graso son el resultado del mantenimiento de un balance apropiado entre consumo y gasto de energía (Nürnberg et al., 1998).

**Tabla 18.** Parámetros de calidad de la canal y calidad de la carne de toros Limousin alimentados con glicerina cruda (0, 2 y 4%).

	Tratamiento <sup>1</sup>			SEM	P-value <sup>2</sup>
	Control	G2	G4		
<i>Calidad de la canal</i>					
Peso de la canal caliente (kg)	400,1	404,9	403,6	2,56	0,740
Peso de la canal (kg)	392,1	396,8	395,5	2,50	0,740
Longitud de la canal (cm)	134,7	132,7	133,9	1,69	0,445
Rendimiento de la canal	61,5	62,2	62,1	0,380	0,695
<i>Composición química de la carne<sup>3</sup></i>					
Humedad (%)	72,8	72,3	72,4	0,54	0,685
Proteína (%)	21,9	22,4	22,2	0,48	0,674
Grasa intramuscular (%)	3,35	2,32	2,22	0,37	0,267
pH <sub>24</sub>	5,63	5,62	5,48	0,05	0,160
pH <sub>7</sub>	5,56	5,54	5,77	0,02	0,927
<i>Color</i>					
L*	35,4	34,0	35,2	6,59	0,805
a*	20,7	20,0	19,8	0,36	0,275
b*	6,14	5,57	5,73	0,80	0,800
H*	16,3	15,3	15,7	1,90	0,915
C*	21,6	20,8	20,8	0,54	0,336
<i>Capacidad de retención de agua</i>					
CRA (%)	73,0	72,7	70,0	2,55	0,684
PG72 (%)	1,62	1,82	1,67	0,42	0,621
PG120 (%)	2,68	2,80	2,77	0,26	0,860
PGfinal (%)	1,07	1,07	1,09	0,15	0,980
PC (%)	27,9	30,4	28,0	1,33	0,369

<sup>1</sup>Control, G2 y G4: grupos de toros alimentados con un 0, 2 y 4% de glicerina respectivamente, en sustitución de cebada.

<sup>2</sup>Efecto tratamiento

Peso final vivo usado como covariable en el modelo estadístico (media = 650,2 kg).

SEM = Error estándar de la media

pH<sub>24</sub>: medidas de pH tomadas 24 h después del sacrificio; pH<sub>7</sub>: medidas pH tomadas 7 días después del sacrificio; CRA: capacidad de retención de agua, PG: pérdidas por goteo, PC: pérdidas por cocción, L\*: brillo, a\*: verde-rojo, b\*: azul-amarillo, H\*: Hue, C\*: Chroma.

La **Tabla 18** muestra los resultados obtenidos del efecto de la inclusión de la glicerina cruda en la dieta animal sobre los parámetros de calidad de la carne. La glicerina cruda no afectó ( $P > 0,05$ ) al pH de la carne a las 24 hs y 7 días después del sacrificio ni a los parámetros de color ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  y  $H^*$ ). Estos resultados concuerdan con aquellos obtenidos por Mach et al. (2008) quienes

utilizaron glicerina cruda para alimentar toros Holstein. De manera similar Françoze et al. (2013) no encontraron diferencias en la carne de toros Nellore de los grupos control y aquellos que habían consumido glicerina cruda (5 y 12%).

No hubo un efecto de la dieta ( $P > 0,05$ ) de la inclusión de glicerina cruda sobre los parámetros de CRA, PG o PC. Por el contrario, estudios en monogástricos encontraron diferentes resultados para estos parámetros. Así, Mourot et al. (1994) encontraron una reducción en las PG y PC en cerdos alimentados con un 5% de glicerol. Esto se debe a que el glicerol aumenta la presión osmótica en las células, aumentando el contenido de agua intracelular, lo cual podría aumentar la capacidad de retención de agua. Estas diferencias entre especies pueden deberse al hecho de que el glicerol es absorbido sin ser transformado en el estómago de los cerdos, mientras que en rumiantes el 80% del glicerol es transformado en ácidos grasos volátiles (VFA) (Mach et al., 2009), por lo que probablemente haya una baja absorción de la molécula sin cambiar. En consecuencia, la capacidad de retención de agua en la carne de rumiantes puede no verse alterada por la alimentación con glicerol, tal como se demuestra en este estudio y en anteriores (Mach et al., 2008; Françoze et al., 2013).

### **III.3.3. Perfil de ácidos grasos**

La **Tabla 19** presenta el perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular de los diferentes tratamientos. Los niveles de C10:0 y t10, c12-C18:2 fueron similares para los diferentes tratamientos ( $P > 0,05$ ). Las dietas evaluadas disminuyeron el contenido de C16:0 ( $P < 0,01$ ) y C16:1 ( $P < 0,05$ ). La carne del grupo G4 mostró unos niveles más bajos de C12:0, C14:0, C17:0, C18:0, C18:1, C18:2, C18:3, c9,t11-c18:2, y C20:0 ( $P < 0,05$ ) en comparación al grupo control. En cuanto al perfil de ácidos grasos, los parámetros de SFA, MUFA, PUFA y MUFA no mostraron diferencias estadísticas entre los diferentes tratamientos. Sin embargo, ambos grupos alimentados con glicerina cruda presentaron un mayor porcentaje de DFA que el grupo control (65,3, 67,1 y 66,9%; control, G2 y G4, respectivamente;  $P < 0,05$ ). Según Rhee et al. (1996) los ácidos grasos deseables son todos los ácidos grasos insaturados más el C18:0, los cuales son considerados saludables para los seres humanos debido a su potencial habilidad para reducir los

niveles de colesterol (Scollan et al., 2006). Carvalho et al. (2014) administraron niveles más altos de glicerina cruda (12 y 18%) a toros jóvenes durante un período de tiempo más corto (84 días) encontraron un perfil de ácidos grasos más saludable en la carne debido a un mayor contenido C18:1. Por tanto, la alimentación con glicerina cruda parece mejorar las propiedades saludables de la carne. Este aumento en los DFA puede ser atribuido en parte al aumento ( $P < 0,05$ , datos no incluidos) del porcentaje de ácido araquidónico (C20:4) en el perfil de ácidos grasos en los grupos alimentados con glicerina (23 y 37% para G2 y G4, respectivamente). Al alimentar los animales con glicerol cabe esperar una reducción de la lipólisis ruminal, y por tanto una aumento de la proporción de ácidos insaturados en el músculo, debido a que los ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados sufren un proceso de biohidrogenación en el rumen, el cual es responsable de la saturación de los ácidos grasos en la dieta de los rumiantes (Edwards et al., 2012). Estos autores en un estudio in vitro demostraron que el glicerol inhibía la digestión de los lípidos. Por tanto es posible que el consumo de glicerol inhibiera la biohidrogenación del C18:2, el cual es precursor del C20:4 (Relling y Reynolds, 2007), lo que resultaría en unos niveles aumentados de estos ácidos grasos. Françoze et al. (2013) encontraron que los niveles de C14:0, C16:1 y 18:3 (n-3) fueron mayores en los músculos de toros Nellore alimentados con 12 % del glicerina. También los ácidos grasos C15:0 y C20:5 (n-3) se vieron reducidos en los grupos alimentados con glicerina. El porcentaje del resto de ácidos grasos no se vio afectado por la dieta. Estas diferencias entre estudios pueden deberse a varios factores, tal como el tipo de cereal reemplazado (cebada o maíz), los cuales pueden producir dietas con diferentes perfiles de ácidos grasos. Otro factor es la especie utilizada, (*Bos taurus* o *Bos indicus*), por ejemplo, los animales que poseen características de los Cebú poseen niveles mayores de ácidos grasos debido a las características de sus músculos (Ducatti et al., 2009; Rotta et al., 2009). Además, el aparente desacuerdo acerca del efecto que tiene el glicerol sobre el perfil de ácidos grasos puede estar originado en la composición de la glicerina cruda, pudiendo variar el contenido de grasa y perfil de ácidos grasos restantes (Lammers et al., 2008a). En el presente estudio, los niveles bajos de glicerina cruda incluidos en la dieta de los toros durante el período de engorde, aumentaron el porcentaje de C20:4 y DFA en la grasa intramuscular.



**Tabla 19.** Perfil de ácidos grasos (mg/100 g carne).de la grasa intramuscular de la carne de toros Limousin alimentados con glicerina cruda (0, 2 y 4%).

		Tratamiento <sup>1</sup>			SEM	P-value <sup>2</sup>
		Control	G2	G4		
C10:0	Ácido cáprico	2,59	3,43	2,75	1,358	0,721
C12:0	Ácido laurico	2,30 <sup>a</sup>	1,85 <sup>ab</sup>	1,33 <sup>b</sup>	0,462	0,006
C14:0	Ácido mirítico	50,6 <sup>a</sup>	38,0 <sup>ab</sup>	29,0 <sup>b</sup>	9,38	0,015
C16:0	Ácido palimítico	543,5 <sup>a</sup>	454,9 <sup>b</sup>	309,3 <sup>c</sup>	104,58	0,009
C16:1	Ácido palmitoleico	54,5 <sup>a</sup>	40,1 <sup>b</sup>	33,9 <sup>b</sup>	10,26	0,016
C17:0	Ácido margárico	18,4 <sup>a</sup>	14,4 <sup>ab</sup>	10,9 <sup>b</sup>	2,94	0,008
C18:0	Ácido esteárico	372,0 <sup>a</sup>	316,3 <sup>a</sup>	179,4 <sup>b</sup>	81,30	0,002
C18:1	Ácido oleico	685,5 <sup>a</sup>	524,5 <sup>ab</sup>	358,6 <sup>b</sup>	156,27	0,002
C18:2	Ácido linoleico	126,3 <sup>a</sup>	102,0 <sup>ab</sup>	77,4 <sup>b</sup>	20,91	0,008
C18:3	Ácido linolenico	3,08 <sup>a</sup>	2,58 <sup>a</sup>	1,61 <sup>b</sup>	0,479	0,001
c9,t11-c18:2		3,58 <sup>a</sup>	2,95 <sup>a</sup>	1,51 <sup>b</sup>	0,876	0,001
t10,c12-C18:2		0,14	0,19	0,09	0,050	0,092
C20:0	Ácido araquídico	2,31 <sup>a</sup>	2,01 <sup>a</sup>	1,08 <sup>b</sup>	0,497	0,001
C20:4	Ácido eicosatetraenoico	55,5 <sup>a</sup>	46,0 <sup>ab</sup>	36,9 <sup>b</sup>	6,79	0,028
SFA (%)		52,0	52,7	51,1	0,38	0,236
UFA (%)		36,5	35,7	36,3	1,16	0,751
PUFA (%)		10,3	11,9	12,6	1,18	0,105
TUFA (%)		46,9	47,3	48,9	0,37	0,091
UFA/SFA		0,70	0,67	0,71	0,02	0,379
PUFA/SFA		0,20	0,22	0,24	0,02	0,176
TUFA/SFA		0,90	0,90	0,96	0,01	0,160
DFA		65,3 <sup>b</sup>	67,1 <sup>a</sup>	66,9 <sup>a</sup>	0,30	0,044

<sup>1</sup> Control, G2 y G4: grupos de toros alimentados con un 0, 2 y 4% de glicerina respectivamente, en sustitución de cebada.

<sup>2</sup> Efecto tratamiento

Peso final vivo usado como covariable en el modelo estadístico (media = 650,2 kg).

SEM = Error estándar de la media

<sup>ab</sup> Media en la misma fila con diferentes letras diferencia con el test de Tukey test ( P < 0,05)

SFA: ácidos grasos saturados; TUFA: ácidos insaturados totales; MUFA: ácidos grasos monoinsaturados; PUFA: ácidos grasos poliinsaturados, DFA: ácidos grasos deseables (PUFA + C18:0)

### III.3.4. Análisis sensorial de la carne.

Los parámetros del análisis sensorial (QDA) de la carne de los tres tratamientos son presentados en la **Tabla 20**. Los atributos sensoriales intensidad de aroma, intensidad de flavor, dureza y masticabilidad no se vieron afectados por los tratamientos con glicerina ( $P > 0,05$ ). Estos resultados están de acuerdo con aquellos obtenidos por Eiras et al. (2014), quienes encontraron que no había diferencias en los parámetros de flavor o terneza de animales alimentados con hasta un 18 % de glicerina cruda. El grupo alimentado con un 4 % de glicerina cruda presentó diferencias respecto al grupo control y el grupo alimentado con un 2% de glicerina cruda en los parámetros de color de carne ( $P < 0,05$ ) e intensidad de color ( $P < 0,001$ ). Estudios previos indicaron que la glicerina cruda puede promover la reacción de Maillard (Reid et al., 2010), lo que provocaría la obtención de muestras más oscuras. La jugosidad ( $P < 0,05$ ) se vio incrementada en el grupo G4. Teniendo en cuenta que no hay diferencias en las medidas de CRA, PG y PC, es probable que las diferencias se deban al efecto conservante que tiene el glicerol durante la congelación de la carne. Estudios previos han demostrado que la glicerina proteger la integridad de la membrana de los espermatozoides durante su conservación en congelación (Silva et al., 2012). Por tanto, una posible explicación para el aumento de la jugosidad es un menor daño en la membrana celular en las células musculares en las muestras del grupo G4.

**Tabla 20.** Parámetros sensoriales del test QDA del la carne de toros Limousin alimentados con glicerina cruda (0, 2 y 4%).

	Tratamiento <sup>1</sup>			SEM	P-value <sup>2</sup>
	Control	G2	G4		
Intensidad de aroma	9,07	9,30	9,23	0,07	0,148
Color de carne	9,48 <sup>a</sup>	9,50 <sup>a</sup>	9,23 <sup>b</sup>	0,04	0,016
Intensidad de color	5,24 <sup>b</sup>	5,21 <sup>b</sup>	5,91 <sup>a</sup>	0,18	<0,001
Intensidad de flavor	8,68	8,96	8,82	0,25	0,163
Dureza	5,49	5,36	5,02	0,16	0,069
Jugosidad	5,43 <sup>b</sup>	5,40 <sup>b</sup>	5,83 <sup>a</sup>	0,14	0,013
Masticabilidad	5,52	5,39	5,20	0,15	0,097

<sup>1</sup> Control, G2 y G4: grupos de toros alimentados con un 0, 2 y 4% de glicerina respectivamente, en sustitución de cebada.

<sup>2</sup> Efecto tratamiento

Peso final vivo usado como covariable en el modelo estadístico (media = 650,2 kg).





### **III.4. ENSAYO IV**

*Inclusión de la glicerina cruda previo al sacrificio como precursor glucogénico y agente osmótico para mejorar la calidad de la canal y la carne de terneros*



### ***Inclusión de la glicerina cruda previo al sacrificio como precursor glucogénico y agente osmótico para mejorar la calidad de la canal y la carne de terneros***

Un total de 36 terneros machos raza Limousin fueron divididos de manera aleatoria en tres grupos y se les administró 24 h antes del sacrificio los siguientes tratamientos: 24 hs antes del sacrificio: sin glicerina (control), glicerina cruda (2 g kg<sup>-1</sup> peso vivo) administrada por sonda naso-gástrica (GS) o en el agua de bebida (GA). Se evaluó el efecto del transporte y de los tratamientos sobre los parámetros sanguíneos, y posteriormente su influencia sobre la calidad de la canal y de la carne. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

#### **III.4.1. Parámetros sanguíneos y contenido de glucógeno en hígado.**

La **Tabla 21** muestra los resultados de los parámetros de plasma de los toros antes del tratamiento y en el matadero antes del sacrificio. Las concentraciones de glucosa se vieron incrementadas de manera similar en todos los grupos tras el transporte ( $P < 0,001$ ). Otros estudios también hallaron un aumento de la glucosa tras el transporte (Cafazza et al., 2012; Tadich et al., 2005). Esto se debe a que, en una situación de estrés, como puede ser el transporte, la actividad del sistema simpático se ve aumentada, lo que hace que se produzca un aumento de la glucogenolisis y la gluconeogenesis en el hígado, produciendo concentraciones elevadas de glucosa en sangre, para poder proveer una fuente de energía para el trabajo celular (Sjaastad et al., 2010). Sin embargo, no hubo diferencias significativas entre los grupos tratamientos para los niveles de glucosa (128, 117, 129 mg dL<sup>-1</sup> para control, GA y GS, respectivamente). Se esperaba que los niveles de glucosa fueran más altos en aquellos animales a los cuales se les había administrado glicerina cruda, debido a que entre el 80 y el 90% del glicerol es fermentado en el rumen, convirtiéndose en propionato como precursor de la glucosa (Ramos y Kerley, 2012). El resto del glicerol es absorbido en el rumen y es transportado hacia el hígado vía porta (Krehbiel, 2008). En el hígado la enzima glicerol quinasa transforma el glicerol + ATP en glicerol-3-fosfato + ADP, el cual se convierte en dihidroxiacetona fosfato, el cual entrará en la gluconeogénesis al ser transformado en fructuosa 1,6 bisfosfato. En oposición a nuestros resultados, Parker et al. (2007), en un estudio donde administraron glicerol por sonda nasogástrica a novillos antes de un viaje largo (48h), describieron mayores niveles de glucosa en sangre 24 y 48 hs después del

transporte en los grupos que habían consumido glicerol que en los grupos control (sin transporte ni administración de glicerol). Los diferentes resultados obtenidos puede deberse a los diferentes tiempos de transporte, manejo y especies utilizadas (*Bos indicus* en el trabajo de Parker et al. (2007) vs. *Bos taurus* en nuestro estudio). Se ha demostrado previamente que el ganado *Bos indicus* depende mucho más del metabolismo de la grasa durante el ayuno en comparación con el *Bos taurus* (O'Kelly, 1985). La ingestión oral de glicerol sigue la misma vía metabólica de los carbohidratos que el glicerol endógeno que se obtiene de la rotura de los triglicéridos (Parker et al., 2007), lo que podría explicar los mayores niveles de glucosa obtenidos por Parker et al. (2007). Además, es posible que en nuestro trabajo el glicerol administrado 24 hs antes del sacrificio haya sido consumido antes de la segunda extracción sanguínea en el matadero (24 h post-administración). Ogborn (2006) estudió la influencia del glicerol administrado en el pienso y en una única mono dosis oral, sobre los parámetros metabólicos en vacas lecheras y encontró que el mayor pico de glucosa se produce justo una hora después de la administración.

En cuanto a los niveles de cortisol en plasma, no se vieron afectados ( $P > 0,05$ ) por el tratamiento con glicerol (1,87, 2,91 y 2,93  $\mu\text{g dL}^{-1}$  para control, GA y GS respectivamente) o transporte. Mormède et al. (2007) indicaron que los valores normales de cortisol para ganado vacuno está en torno a 0,54  $\mu\text{g dL}^{-1}$ , por lo que probablemente los niveles elevados en los tres grupos son debidos al estrés causado por la propia extracción sanguínea y/o el transporte, Tadich et al, (2005) indicó que el proceso relacionado con el manejo para obtener la primera muestra sanguínea es uno de los mayores factores de estrés sufridos por los animales, sugiriendo que este proceso estimula el eje hipotalámico-hipofisario-adrenal, con la subsecuente liberación de cortisol.

Hubo un aumento significativo en la proteína total y los niveles de albúmina después del transporte ( $P < 0,05$ ). La proteína total y la albúmina se han propuesto como indicadores fisiológicos de la deshidratación durante el transporte (Cafazzo et al., 2012). Los niveles en plasma de P y Ca no se vieron afectados ( $P < 0,05$ ) por el transporte o la administración de glicerol. Parker et al. (2007) encontró niveles más altos de P y Ca después de 48 h de transporte, lo que podría estar relacionado con una deshidratación de los animales. El estrés y una ingesta inadecuada de minerales se han visto asociados con



episodios de la tetania del transporte, pero en nuestro caso el tiempo de privación de agua fue corto.

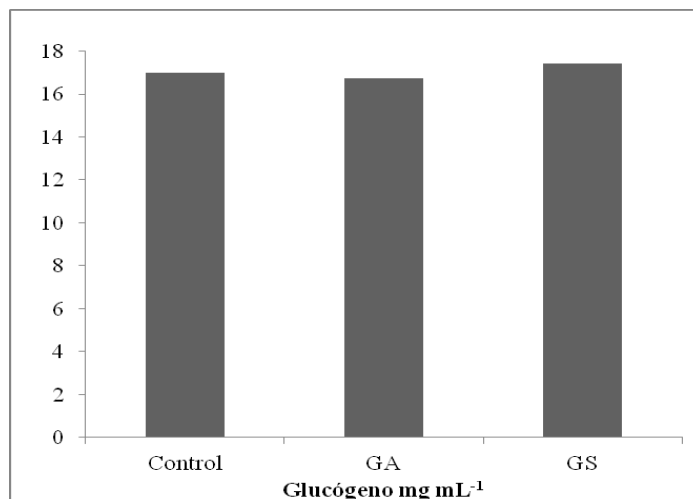
El transporte al matadero aumentó las concentraciones de Na ( $P < 0,01$ ), K ( $P < 0,001$ ) y Cl ( $P < 0,001$ ) en todos los grupos, aunque los valores se mantuvieron dentro de los rangos considerados normales: siendo Na 135-148 mmol L<sup>-1</sup>; K 4-5,8 mmol L<sup>-1</sup>; Cl 96-106 mmol L<sup>-1</sup>(Kahn, 2005). En este sentido, Parker et al. (2007) no encontró diferencias entre grupos para los niveles en plasma de Na o K, y todos los grupos mostraron valores normales para ganado vacuno. En su estudio ellos también encontraron un efecto del tiempo sobre la concentración de Cl. El aumento observado tal vez comenzó como resultado de una pérdida de agua extracelular.

**Tabla 21.** Parámetros de plasma de toros sometidos a tratamientos con glicerol previo al sacrificio.

	Antes del tratamiento con glicerol			Ates del sacrificio, en el matadero			SEM	P-value		
	Control	GA	GS	Control	GA	GS		Time	Tratamiento	TxT <sup>2</sup>
Proteína total (g l <sup>-1</sup> )	7,36	7,02	7,16	7,99	7,95	7,65	0,164	0,011	0,801	0,638
Albumina (g l <sup>-1</sup> )	3,41	3,10	3,25	3,47	3,66	3,69	0,072	0,010	0,862	0,164
Glucosa (mg dl <sup>-1</sup> )	70,4	90,3	80,3	128	117	129	5,10	<0,001	0,894	0,200
Cortisol (µg dl <sup>-1</sup> )	2,53	3,77	3,24	1,87	2,91	2,93	0,460	0,194	0,592	0,864
Ca (mg dl <sup>-1</sup> )	9,60	9,20	9,40	10,1	9,93	9,79	0,161	0,023	0,666	0,797
P (mg dl <sup>-1</sup> )	8,35	6,66	7,50	7,43	6,74	7,55	0,173	0,423	0,047	0,360
Na (mmol l <sup>-1</sup> )	137	138	138	146	144	1,44	0,533	0,002	0,964	0,781
K (mmol l <sup>-1</sup> )	4,20	4,02	4,10	5,76	5,47	6,33	0,123	0,000	0,341	0,460
Cl (mmol l <sup>-1</sup> )	98,6	98,7	98,7	103	103	105	0,45	<0,001	0,663	0,507
Lactato (mmol l <sup>-1</sup> )	2,20	2,77	2,52	9,93	7,17	6,83	0,543	0,001	0,593	0,368

<sup>1</sup>Tratamientos: no suplementado con glicerol (Control); glicerol administrado en el agua de bebida en una proporción de 2 g kg<sup>-1</sup> peso vivo (GA); glicerol administrado oralmente por una sonda nasogástrica en una proporción de 2 g kg<sup>-1</sup> peso vivo (GS).

<sup>2</sup>Interacción tiempo x tipo de tratamiento.



**Figura 20.** Niveles de glucógeno en el momento del sacrificio de ganado vacuno de los diferentes tratamientos: Control: Sin glicerol; GA: glicerol administrado en agua de bebida en una proporción 2 g.kg<sup>-1</sup> peso vivo; GS: glicerol administrado oralmente por sonda nasogástrica en una proporción 2 g.kg<sup>-1</sup> peso vivo.

#### III.4.2. Calidad de la canal y composición proximal

La **Tabla 22** muestra los parámetros de calidad de la canal peso vivo, RC, PCF, LC y composición proximal de la carne. No se encontraron diferencias significativas para ninguno de estos parámetros en los diferentes tratamientos. Estos resultados coinciden con aquellos obtenidos por Parker et al. (2007), quienes administraron glicerol (2 g kg<sup>-1</sup> peso vivo) a novillos 48 h antes del sacrificio para prevenir la deshidratación durante el transporte (48 h).

En lo que respecta a la composición proximal de la carne, no se vieron diferencias significativas entre los tres grupos (control, GA y GS). Otros autores, como Mach et al., (2009) no encontraron efecto del glicerol sobre el contenido de grasa intramuscular (3,8±0,4%) cuando se le añadía hasta un 12% durante 91 días en la dieta. Por el contrario, Parsons et al. (2009) obtuvieron valores más bajos de veteados y grosor del panículo dorsal en novillas alimentadas con hasta un 16 % del glicerol durante 85 días. Los autores explican que el glicerol reduce el grosor de la grasa subcutánea, por tanto la deposición de grasa se puede ver alterada, lo que podría explicar las reducciones encontradas en el veteados. En todos estos estudios, el glicerol fue administrado durante más tiempo que en nuestro, por lo

que no hubo tiempo suficiente para tener alguna repercusión en la composición proximal.

**Tabla 22.** Peso vivo, parámetros de la canal y composición proximal de la carne de toros sometidos a los diferentes tratamientos.

	Tratamiento <sup>1</sup>			SEM	P-value
	Control	GA	GS		
Peso vivo (kg)	620	620	636	10,2	0,299
<i>Parámetros de la canal</i>					
PCF (kg)	385	389	378	5,90	0,324
RC (%)	62,1	61,2	61,0	0,29	0,254
LC (mm)	132	131	131	0,50	0,753
<i>Composición proximal</i>					
Humedad (%)	74,4	74,2	74,2	0,28	0,921
Proteínas (%)	22,8	23,1	23,0	0,11	0,541
Grasa (%)	2,0	1,8	1,7	0,25	0,603

<sup>1</sup> Tratamientos: no suplementado con glicerol (Control); glicerol administrado en el agua de bebida en una proporción de 2 g kg<sup>-1</sup> peso vivo (GA); glicerol administrado oralmente por una sonda nasogástrica en una proporción de 2 g kg<sup>-1</sup> peso vivo (GS).

SEM: error estándar de la media.

PCF: peso de la canal frío; RC: rendimiento de la canal; LC: longitud de la canal.

### III.4.3. Calidad de la carne

La **Tabla 23** presenta los datos obtenidos de los parámetros de calidad de la carne de los tres grupos tratamiento (Control, GA y GS). Como se puede observar, no hubo diferencias significativas para los valores de pH tomados 24 h y 7 días después del sacrificio. Sin embargo, el 75% de la carne de los animales que recibieron glicerol por el agua, presentaron valores de pH<5,8 mientras que los que tomaron glicerol por una sonda nasogástrica y el grupo control sólo el 50% de los animales tuvo un pH por debajo de ese valor, aunque no hubo diferencias estadísticas. Esto concuerda con los resultados obtenidos por otros autores (Mach et al., 2008b) quienes encontraron que el glicerol (0, 4, 8, y 12% de material seca) administrada durante 91 días no tuvo efecto sobre el pH último de la carne de

toros alojados mezclados durante 3 horas antes del sacrificio. Antes de observar esta ausencia del efecto, los autores habían planteado como hipótesis inicial que el glicerol podría reducir el pH de la carne, dado que este depende del ácido láctico producido en el músculo en el momento del sacrificio (Wulf et al., 2002). La mayor parte del glicerol es convertida en propionato (Mach et al., 2009), el cual es transformado en glucosa y luego en glucógeno. El glucógeno es utilizado como sustrato para la producción de ácido láctico *pos mortem* y en consecuencia, la caída del pH (Immonen y Puolanne, 2000). Por el contrario, Gardner y Pethick (2003) quienes incluyeron 24 horas antes del sacrificio 1,5% de propileno glicol y 3,5% de glicerol en el agua de bebida de vacas durante el periodo de reposo en el matadero, observaron una disminución del pH de la carne. Los autores encontraron que el 22,6% de las canales de los grupos de glicerol tenían un pH >5,7 comparado con 58,1% de las canales del grupo control (total n=62). Quizás el glicerol debería ser suministrado más cercano al tiempo de sacrificio para poder ver más claramente sus efectos.

Los resultados de CRA, PG y PC están recogidos en la **Tabla 23**. Como se puede ver el tratamiento con glicerol afectó a la CRA ( $P=0,023$ ), obteniendo valores de 75,0 y 75,9 % para GA y GS respectivamente, comparados con el 72% del grupo control. Este aumento puede estar relacionado con las propiedades osmóticas del glicerol. De hecho, según Wagner (1999), la inclusión de glicerol en agua o bebidas para deportistas de alto rendimiento previene las pérdidas de agua de las células. En este sentido, en un estudio con cerdos alimentados con hasta un 10% de glicerina cruda y refinada, Hanzakowska et al. (2010) también encontraron valores más altos de capacidad de retención de agua en las muestras de músculo *Longissimus dorsi* de los grupos alimentado con glicerol. Ellos atribuyen estos hallazgos a las propiedades osmóticas del glicerol, ya que, especialmente en cerdos, el glicerol es absorbido sin ser transformado en el estómago. Aunque no hay diferencias estadísticas en las PG y PC, hay una correlación negativa entre estos parámetros y la CRA (-0,528 y -0,406 respectivamente,  $P < 0,01$ ). El grupo de animales a los cuales se les administró glicerol en el agua de bebida presentaron una tendencia ( $P = 0,09$ ) a reducir las CL. Una reducción en las PC en cerdos blancos que habían consumido un 5% de

glicerol fue demostrado por Mourot et al. (1993) quienes también registraron una reducción en las PG. Si las fibras musculares están hiperhidratadas, como resultado de un aumento del contenido intracelular de agua, el músculo estaría sujeto a una menor desnaturalización proteica, y por tanto, a unas menores PC también (Mourot et al., 1993).

**Tabla 23.** Parámetros de calidad de la carne de toros sometidos a los diferentes tratamientos.

	Tratamiento <sup>1</sup>			SEM	P-value
	Control	GA	GS		
pH <sub>24</sub>	5,77	5,71	5,78	0,017	0,192
pH <sub>7</sub>	5,55	5,56	5,52	0,015	0,530
<i>Color</i>					
<i>L*</i>	32,7	32,2	33,4	0,36	0,427
<i>a*</i>	14,0	14,00	13,7	0,22	0,785
<i>b*</i>	2,20	2,33	2,19	0,448	0,901
<i>Capacidad de retención de agua</i>					
CRA (%)	72,0 <sup>b</sup>	75,0 <sup>a</sup>	75,9 <sup>a</sup>	3,09	0,023
PG 72h (%)	2,31	2,30	2,38	0,119	0,903
PG 120h (%)	3,61	3,58	3,51	0,312	0,910
PG finales (%)	1,30	1,28	1,13	0,302	0,491
PC (%)	30,8 <sup>a</sup>	27,2 <sup>b</sup>	29,5 <sup>ab</sup>	3,89	0,097

<sup>1</sup> Tratamientos: no suplementado con glicerol (Control); glicerol administrado en el agua de bebida en una proporción de 2 g kg<sup>-1</sup> peso vivo (GA); glicerol administrado oralmente por una sonda nasogástrica en una proporción de 2 g kg<sup>-1</sup> peso vivo (GS).

SEM: error estándar de la media.

<sup>a,b</sup> Medias con diferentes superíndices son significativamente diferentes (P<0,05)

pH<sub>24</sub>: medidas de pH tomadas 24 h después del sacrificio; pH<sub>7</sub>: medidas pH tomadas 7 días después del sacrificio; *L\**: brillo, *a\**: verde-rojo, *b\**: azul-amarillo; CRA: capacidad de retención de agua; PG: pérdidas por goteo; PC: pérdidas por cocción.

La bibliografía recoge una gran variabilidad en los resultados respecto al efecto que produce el glicerol sobre la capacidad de retención de agua. Algunos autores, como Schieck et al. (2010) sugirieron que el contenido en NaCl del pienso y/o la glicerina cruda, como el mayor factor implicado en estas grandes diferencias observadas. El sodio es frecuentemente añadido como catalizador en la producción de biodiesel, dando como resultado cloruro de sodio en la etapa de purificación. La cantidad de cloruro de sodio en el glicerol depende de la técnica de refinado usada y debe tenerse en cuenta la hora de formular la dieta (Kerr et al., 2007a). Un aumento en el consumo de NaCl podría desembocar en un mayor contenido de sal en el músculo, resultando en una mayor capacidad de retención

de agua debido al edema en las miofibrillas. Estudios previos (Schaefer et al., 2001, 2006) han demostrado que el tratamiento con electrolitos previo al sacrificio puede mejorar la hidratación animal, resultando en una mejor carne con pérdidas por goteo menores (Arp et al., 2011). En nuestro experimento hubo un consumo más alto de electrolitos por parte de los grupos con glicerol (aproximadamente 29,85 g cloro, 0,51 g potasio, 19,51 g sodio y 0,04 g calcio) que el grupo control, lo que podría explicar la mayor cantidad de CRA encontrada. Otras causas para unas menores pérdidas por goteo fue propuesta por Parker et al. (2007) quienes sugirieron que la administración profiláctica del glicerol puede antagonizar el efecto del cortisol en el pool glucogénico y cetogénico del cuerpo. El glicerol podría ser una alternativa y un precursor preferencial en la producción de glucosa, disminuyendo la degradación proteica y por tanto minimizando las pérdidas por goteo. Sin embargo, este punto debería ser estudiado en profundidad, para clarificar el efecto del glicerol sobre la CRA.

Las coordenadas de color no se vieron afectadas por la adición de glicerol en la dieta (**Tabla 23**;  $P > 0,05$ ). Esto coincide con estudios previos acerca del glicerol añadido en la dieta de toros (Mach et al., 2008b; Eiras et al., 2013). Mach et al. (2008b) y Eiras et al. (2013) tomaron las medidas de color a las 24 y 48 h post-mortem, respectivamente. En el presente estudio, las medidas de color se tomaron a los siete días, por tanto la inclusión de glicerol no afectó el color tras el proceso de madurado. Además el tratamiento no cambió el pH de las muestras, por tanto los valores de color de la carne de los toros de GS y GA fueron similares a los del control.

#### **III.4. Análisis sensorial**

La **Tabla 24** presenta los resultados del test triangular, como se puede ver se detectaron algunas diferencias entre el grupo control y los grupos con glicerina GA y GS ( $P < 0,05$ ). El test triangular es utilizado para determinar diferencias inespecíficas entre dos productos y la naturaleza de esta diferencia no puede ser determinada utilizando este test (BSI, 1984). Estos resultados pueden estar relacionados con las diferencias observadas en la CRA, ya que este parámetro está relacionado con el color, sabor, textura y jugosidad de la carne (Warris, 2000). El

test descriptivo (QDA) fue llevado a cabo para entender estas diferencias, ya que éste provee de una descripción completa de las propiedades sensoriales del producto.

**Tabla 24.** Test triangular de la carne de ternero de toros sometidos a los diferente tratamiento con glicerol.<sup>1</sup>

Tratamientos <sup>1</sup>		n	Respuestas correctas	P-value
Control	GA	16	9	P<0,05
Control	GS	16	10	P<0,05
GA	GS	16	2	P>0,05

<sup>1</sup> Tratamientos: no suplementado con glicerol (Control); glicerol administrado en el agua de bebida en una proporción de 2 g kg<sup>-1</sup> peso vivo (GA); glicerol administrado oralmente por una sonda nasogástrica en una proporción de 2 g kg<sup>-1</sup> peso vivo (GS).

Los resultados del QDA para los tres tratamientos son presentados en la **Tabla 25**. No hubo diferencias significativas entre la carne de los toros que recibieron los diferentes tratamientos para ninguno de los parámetros sensoriales estudiados, olor a carne, color de la carne, intensidad de color, flavor a carne, dureza, jugosidad y masticabilidad. Estos resultados son similares a los obtenidos por Eiras et al., (2013) quienes no encontraron diferencias en la evaluación sensorial de carne de toros alimentados con hasta un 18% de glicerol. Es escasa la bibliografía sobre el efecto de la inclusión de glicerol sobre los parámetros sensoriales de la carne de ternera, la mayoría se centran en carne de cerdo, donde los resultados fueron similares a los de este estudio (Lammers et al., 2008a; Hanczakowska et al., 2010; Schieck et al., 2010). Por el contrario, Della Casa et al. (2009), utilizando un 10% del glicerol en la dieta en cerdos durante la etapa de cebo-finalización, encontraron diferencias entre el color, veteado, sabor a mantequilla y terneza de la carne.

La diferencia de resultados entre el test triangular y el análisis QDA puede estar relaciona con el objeto de estudio de cada uno. El test triangular busca diferencias entre las muestras, todos los parámetros son analizados a la vez. En el test triangular, la suma de todos los parámetros fue suficiente para que el panel pudiera detectar diferencias. Cuando cada uno de los parámetros se estudió de manera individual en el QDA, las diferencias no fueron suficientes para verse reflejadas en estos resultados, haciendo probablemente que las diferencias no se vean tan marcadas.



**Tabla 25.** Análisis sensorial (QDA, escala no estructurada 10 cm) de la carne de toros sometidos a los diferentes tratamientos con glicerol<sup>1</sup>.

	Tratamiento			SEM	P-value
	Control	GA	GS		
Olor a carne	8,73	8,54	8,77	0,152	0,323
Color a carne	8,89	8,77	8,77	0,087	0,583
Intensidad de color	5,89	5,67	5,61	0,240	0,918
Flavor a carne	6,99	7,21	7,14	0,170	0,809
Dureza	5,45	5,58	5,76	0,177	0,409
Jugosidad	5,60	5,57	5,62	0,187	0,961
Masticabilidad	5,45	5,55	5,56	0,205	0,760

<sup>1</sup> Tratamientos: no suplementado con glicerol (Control); glicerol administrado en el agua de bebida en una proporción de 2 g kg<sup>-1</sup> peso vivo (GA); glicerol administrado oralmente por una sonda nasogástrica en una proporción de 2 g kg<sup>-1</sup> peso vivo (GS).

SEM: error estándar de la media.

<sup>a,b</sup> Medias con diferentes superíndices son significativamente diferentes (P<0,05)



## *Capítulo IV*

---

### **Conclusiones**



### **Primera**

La glicerina cruda proveniente de la producción de biodiesel puede ser utilizada para reemplazar el maíz hasta un 5%, en la dieta de finalización de cerdos sin afectar a la calidad de la canal ni a las características físico-químicas y organolépticas de la carne.

### **Segunda**

La medida del espesor del tocino dorsal tomado por ultrasonidos se correlaciona positivamente con el ETD2 y ETD3 tomados 24 hs *posmortem* con regla milimetrada, por lo que podría ser viable la validación del uso de los ultrasonidos a tiempo real en animales antes del sacrificio para desarrollar ecuaciones capaces de predecir el grosor de la grasa dorsal.

### **Tercera**

La inclusión del 10 % de glicerina cruda redujo las pérdidas por cocción. La alimentación de cerdos cruce Ibérico x Duroc con hasta un 10 % de glicerina cruda en sustitución del trigo no afectó a la calidad de la canal y ni a la composición de la carne.

### **Cuarta**

Se ve un descenso lineal de los PUFA en la grasa subcutánea cuando los animales son alimentados con glicerina cruda. Los cerdos Ibéricos x Duroc pueden ser alimentados con hasta un 10 % de glicerina cruda sin presentar grandes cambios en el perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular del músculo *Longissimus dorsi*.

### **Quinta**

En el estudio con cerdos cruce Ibérico x Duroc los machos castrados presentaron mayor grosor del ETD y contenido de grasa intramuscular, además de un perfil de ácidos grasos más saturado de la grasa subcutánea que las hembras enteras.

### **Sexta**

La glicerina cruda es un posible sustituto de la cebada en la dieta de toros Limousin utilizada hasta en un 4% durante el período de engorde (240 días), sin afectar negativamente los parámetros productivos, de canal o calidad de la carne.

### **Séptima**

La glicerina cruda utilizada en un 2 y 4% parece mejorar el perfil de ácidos grasos de la grasa de la carne de vacuno debido a un aumento del Ácido Araquidónico y de los DFA. Además, la jugosidad de la carne de ternera congelada fue mejorada cuando la glicerina cruda fue utilizada en un 4 %.

### **Octava**

El transporte de toros jóvenes Limousin tuvo un efecto significativo sobre los parámetros plasmáticos, aumentado los niveles de glucosa, proteína total, albúmina, sodio, potasio, cloro y lactato.

### **Novena**

La administración de glicerol 24 h antes del sacrificio a toros jóvenes de raza Limousin, tanto por sonda nasogástrica como en el agua de bebida, no afectó a los parámetros de sangre, la calidad de la canal, el pH o la calidad sensorial de la carne cocinada. Sin embargo, la capacidad de retención de agua fue ligeramente mejorada, por lo que podría ser interesante estudiar en profundidad el efecto del glicerol sobre este parámetro.

### **Décima**

La administración del glicerol por agua de bebida sería una forma viable de administración del glicerol, con efectos similares a los encontrados al ser administrado con sonda nasogástrica, proceso que es más difícil de aplicar en granja.





## *Capítulo V*

---

### **Discusión general**



El uso de la glicerina cruda en alimentación animal surge como consecuencia de un excedente de este producto, originada en la búsqueda de alternativas de fuente de energía renovables, tal como es el biodiesel. Este subproducto, abrió las expectativas de su uso como una alternativa más barata a los cereales, reduciendo así costes de producción. Hoy en día esta premisa no siempre se cumple, debido a la variabilidad en la producción de biodiesel en España, lo que hace que no haya un suministro continuo de glicerina cruda. Por otro lado, en los ensayos de esta Tesis se ha tenido otro limitante: las características tecnológicas a la hora de la fabricación del pienso. El glicerol es un producto similar a una melaza, lo que hizo que los porcentajes se vieran limitados a la capacidad de la fábrica de piensos.

En líneas generales, los estudios realizados en diferentes especies, han comprobado que el glicerol puede ser utilizado en la alimentación animal, al obtener resultados similares en los parámetros de producción animal a los de los lotes control. Además el glicerol tiene la ventaja de que es bien aceptado por los animales, por lo que mantiene unos niveles de ingesta similares a los piensos sin glicerina cruda. Los resultados observados en nuestros ensayos reflejan un desarrollo normal de los animales que han consumido glicerina cruda.

Pero además de mantener buenos parámetros productivos, es necesario que la inclusión del glicerol no afecte de manera negativa al producto final. Por ello, fue necesario plantear un estudio sobre los parámetros de calidad de la canal y la carne. Para ello se utilizaron dos especies: cerdo y vacuno. En ambos casos el glicerol no afectó a la calidad de la canal, (longitud, peso y grosor del panículo dorsal).

Sin embargo, cabe destacar que estamos comparando monogástricos y rumiantes, por lo que la digestión de uno y de otros es completamente diferente, tal como sucede con el glicerol. Mientras que en el cerdo la molécula de glicerol se absorbe prácticamente si ser modificada, en los rumiantes esta molécula es transformada en su mayor parte en AVG. En ambos casos el producto final será la glucosa, la cual será utilizada como fuente de energía. Gracias a esto, se han obtenido resultados similares en parámetros como son la composición proximal

(porcentaje de humedad proteína, y grasa). Así también, parece que el consumo de glicerol, no afecta a parámetros tal como el color.

Sin embargo, en cuanto a la capacidad de retención de agua, los resultados han sido ligeramente más variables. En el ensayo de cerdo blanco no se ha observado ninguna variación en estos parámetros, sin embargo en el caso de los cerdos Ibéricos, se ha visto una reducción de las pérdidas por cocción en los animales alimentados con un 10% de glicerina cruda. Así también, en el ensayo de ternera donde se incluyó glicerina cruda durante el cebo, los parámetros de capacidad de retención de agua no se vieron afectados. Sin embargo, sin tener valores de grasa diferentes, el panel detectó una mayor jugosidad en los animales que habían consumido glicerol. Por otro lado, en el ensayo IV, cuando el glicerol se le da a los terneros 24 h antes del sacrificio, sí se obtienen valores más elevados en la capacidad de retención de agua. En este sentido, este es uno de los puntos más controvertidos en cuanto al efecto del glicerol sobre la calidad de la carne. Aunque se sabe que el glicerol es una molécula con propiedades osmóticas, y que por tanto podría aumentar el contenido de agua intracelular, al haber tanta variabilidad en los resultados no está claro que sea esta sea la causa. Se proponen así varias hipótesis, siendo una de ellas, el contenido de sales de la glicerina cruda. En el proceso de producción de biodiesel se utilizan sales como catalizadores de la reacción, por lo que en ocasiones puede haber un contenido alto en sales en el producto crudo. Aunque en líneas generales en nuestros estudios se ha tenido en cuenta el contenido en sal a la hora de la formulación de las dietas, no siempre es así en todos los estudios, por lo cual, la comparación entre estudios es difícil. A la hora de llevar esta práctica a la granja es un punto importante que debería tenerse en cuenta.

Muchos estudios han querido focalizar el uso del glicerol como precursor de la glucosa, y con ello crear buenas reservas de glucógeno, y así asegurar niveles óptimos de ácido láctico para un pH correcto en el proceso de maduración de la carne. Aunque esta línea va más encaminada a terneros que a cerdos, en nuestros ensayos no hemos visto variaciones en el pH de la carne en ninguna de las dos especies. Hay que tener en cuenta que todos los animales han pasado un período de ayuno previo al sacrificio, por lo que es probable que, aunque el

glicerol se hubiera transformado en reservas de glucógeno, al llegar al matadero éstas se hayan consumido. En el caso concreto de los terneros del ensayo IV, se realizó un análisis de la glucosa y ácido láctico antes de consumir el glicerol y 24 h después una vez que llegaron al matadero, no se vieron diferencias respecto al grupo control. Tampoco se vieron diferencias en el contenido de glucógeno en hígado entre el grupo control y aquellos a los que se les había administrado glicerol.

En cuanto a las diferencias entre especies a la hora del uso del glicerol, quizás donde más se refleja es en el perfil de ácidos grasos de la carne, como consecuencia de las diferentes rutas que lleva la molécula una vez que llega al aparato digestivo. En el caso de los monogástricos, puede ocurrir dos cosas: o que se una ésta tal cual para formar de triglicéridos o que a partir de las reservas de glucosa creada pase a formar parte de la ruta metabólica de los ácidos grasos, creando cadena de ácidos grasos *de novo*. Esto significaría un perfil de ácidos grasos más saturado, teniendo en cuenta que hemos sustituido cereales, que son ricos en ácidos grasos insaturados, los cuales a diferencia del glicerol, se absorberían y pasarían directamente a formar parte del tejido.

En el caso de los rumiantes el proceso es totalmente diferente. El glicerol aparentemente puede tener un efecto inhibitorio de la biohidrogenación en rumen, lo que haría que los ácidos grasos insaturados consumidos en la dieta permanecieran prácticamente intactos, y así poder ser incorporados a la grasa intramuscular del animal. Por tanto, el consumo de glicerol en el caso de los rumiantes parece propiciar un perfil de ácidos grasos más insaturado, al contrario que en los monogástricos. En este sentido, nuestro estudio refleja este suceso.

Sin embargo, probablemente, este funcionamiento no sea tan sencillo, De hecho se refleja claramente en los diversos resultados encontrados para este parámetros en los diferente estudios que involucran a ambas especies. En este sentido hay que tener en cuenta dos factores muy importantes: por un lado, no estamos utilizando una molécula de glicerol pura. En la mayoría de los casos se usa glicerina cruda, que muchas veces proviene de algún aceite vegetal, con lo cual es probable que haya un componente graso residual en la glicerina que

estemos utilizando. Por otro lado, habrá que tener en cuenta el perfil de ácidos grasos de la dieta inicial y qué cereal estamos sustituyendo. No es sólo la producción de ácidos grasos a partir de la molécula de glicerol, sino aquellos ácidos grasos que no estamos aportando a la dieta por su sustitución. Esto sin tener en cuenta lo que se ha comentado antes, del efecto inhibitorio que pueda tener en rumiantes, cuya digestión es bastante más compleja que en monogástricos.

En cuanto al análisis sensorial de la carne, ni el olor ni el flavor de la misma se ha visto afectados en ninguna de las dos especies. En líneas generales, el glicerol no parece modificar estos parámetros, sin embargo si se ha visto en algún estudio en cerdo, donde autores describen un cambio en el sabor de la carne. En este sentido los sabores extraños que podamos encontrar en la carne se deban más a los residuos provenientes de la producción de biodiesel que por la molécula de glicerol. El resto de parámetros no parece estar muy influenciados por el consumo de glicerol, salvo la jugosidad como se ha comentado antes. Aun así, teniendo en cuenta que las diferencias encontradas no exceden en ningún caso la unidad en una escala de 10 cm, podemos decir que el uso de la glicerina cruda es viable sin afectar a la calidad sensorial de la carne.

Así, en resumen, podríamos decir que la glicerina cruda podría ser utilizada en la alimentación animal, tanto de cerdos como de ganado vacuno, obteniendo un producto de características similares a las obtenidas con las dietas estándar. Aún así, sería interesante estudiar más en profundidad su uso para mejorar ciertos parámetros, aunque teniendo en cuenta factores como el cereal a sustituir, la composición del subproducto y los tiempos de administración.







## *Capítulo VI*

---

### **Resumen**



En la presente Tesis Doctoral se estudió el efecto de la inclusión de glicerina cruda en la dieta de cerdos y terneros sobre parámetros de calidad de la canal y la carne, así como su efecto profiláctico en su administración antes del sacrificio.

Para ello se llevó a cabo cuatro experiencias: (1) 60 cerdos castrados Large White x Landrace fueron divididos en tres grupos y alimentados con 0 (control), 2,5 (G2,5) o 5% (G5) de glicerina cruda en sustitución de maíz, (2) 90 cerdos (45 hembras y 45 machos castrados, 95 kg peso vivo inicial) cruce Ibérico con Duroc fueron divididos en tres grupos para recibir tres dietas diferentes: 0 (control), 5 (G5) o 10% (G10) de glicerina cruda en sustitución de trigo (160 kg peso vivo final), (3) 306 toros jóvenes (7 meses, 273 kg) de raza Limousin fueron divididos en tres grupos y alimentados con 0 (control), 2 (G2) o un 4% (G4) de glicerina en sustitución de cebada durante 240 días (peso final 644 kg), (4) 36 toros jóvenes de raza Limousin fueron divididos en tres grupos de manera aleatoria y se les administró uno de los siguientes tratamientos 24 hs antes del sacrificio: sin glicerina (control), glicerina cruda ( $2 \text{ g kg}^{-1}$  peso vivo) administrada por sonda naso-gástrica (GS) o en el agua de bebida (GA).

La inclusión de glicerina cruda en la alimentación de los animales no tuvo efecto sobre las medidas realizadas con ultrasonidos ni en ninguno de los parámetros de calidad de la canal estudiados. Tampoco se vieron afectados el contenido de humedad, proteína, pH, pérdidas por goteo por la adición de glicerina cruda. Los resultados de calidad del músculo *Longissimus dorsi* de los cerdos Large White x Landrace alimentados con hasta un 4 % de glicerina cruda fue similar en todos los grupos (experiencia I). En la experiencia II, la inclusión de un 10% de glicerina cruda en la dieta de cerdos Ibérico x Duroc disminuyó las pérdidas por cocción y aumentó los valores de  $a^*$  y  $C^*$ . Hubo un descenso del contenido de C18:2 y un aumento de C20:0 y de ácidos grasos saturados (SFA) en la grasa subcutánea del grupo G10. Los machos castrados presentaron valores más altos del espesor de tocino dorsal y contenido grasa, además de un contenido mayor en SFA en la grasa subcutánea en comparación con las hembras enteras. La experiencia III, se obtuvieron resultados similares para los datos productivos y de calidad de carne de los tres grupos de toros jóvenes (control, G2 y G4). La adición

de glicerina cruda modificó ligeramente el perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular, aumentando el porcentaje de ácidos grasos deseables. Además, en el análisis sensorial, las muestras de carne del grupo G4 presentaron valores más altos de jugosidad. Finalmente, en la experiencia IV, el transporte tuvo un efecto significativo sobre los parámetros plasmáticos (proteína total, albúmina, glucosa, sodio, potasio, cloro y lactato). Los parámetros plasmáticos, el glucógeno en hígado, la composición proximal, pH, color y parámetros sensoriales no se vieron afectadas por el glicerol, mientras que la CRA se vio aumentada en los grupos que se les administró glicerina curda antes del sacrificio.





## *Capítulo VII*

---

### **Summary**





In the present Thesis the effect of crude glycerine inclusion in pigs and young bulls diet on carcass and meat parameters was studied. In addition, the effect of the pre-slaughter administration of glycerol as carbohydrate precursor and osmotic agent to improve carcass and beef quality.

For this purpose the following research works were carried out: (1) Sixty crossbreed (Large White x Landrace) barrows were subdivided into three groups according to the crude glycerine concentration administered in feed: C, control diet, no crude glycerine; G2.5 and G5 with 2.5 and 5% added crude glycerine, respectively; (2) Ninety (45 barrows and 45 gilts) Iberian x Duroc pigs (95kg initial body weight) were divided in three groups and received 0 (control), 5 (G5) or 10% (G10) of crude glycerine in replacement for wheat (160 kg slaughter body weight); (3) Three hundred and six Limousin young bulls (7±1 months of age, initial bodyweight 273±43 kg) were assigned to three different diets: Control (0% of crude glycerine), G2 and G4 (2 and 4% of crude glycerine, respectively) in replacement for barley for 240 days (final body weight 644 ± 24 kg); (4) thirty six young bulls were divided into three groups and were randomly assigned to one treatment: no crude glycerine administration (control) or administering crude glycerine (2 g kg<sup>-1</sup> body weight) via nasogastric tube (GS) or in drinking water (GA) 24 h prior to the slaughter.

The inclusion of crude glycerine in animals diet had no effect on ultrasound measurements or carcass parameter studied in any of the four experimental works. Neither moisture, protein content, pH nor DL were affected by crude glycerine inclusion in all studies. The meat quality parameters of Large White x Landrace pigs fed crude glycerine up to 4% was similar for all groups (experimental I). In experimental II, the inclusion up to 10% of crude glycerine in Iberian x Duroc pigs decreased the cooking losses and increased *a*\* and *C*\* when animals were fed 10% crude glycerine. There was a decrease in C18:2 and an increase in C20:0 and saturated fatty acid (SFA) in subcutaneous fat of G10. Castrated males presented higher back fat thickness and fat content. Castrated males had higher SFA content in subcutaneous fat than intact females. In experimental III performance and meat quality from young bulls were not affected by diets. Crude glycerine addition modifies slightly fatty acid profile of

intramuscular fat, increasing desirable fatty acid percentages. In addition, samples from G4 group presented higher values of juiciness. Finally, in experimental IV, transport had a significant effect of on total protein, albumin, glucose, sodium, potassium, chloride, and lactate plasma levels. The plasma parameters, liver glycogen, proximal composition, pH, colour and sensory attributes were not affected by glycerol treatment, only WHC was increased by glycerine treatment.





## *Capítulo VIII*

---

### **Bibliografía**



**A**

- Abo El-Nor, S., AbuGhazaleh, A. A., Potu, R. B., Hastings, D., & Khattab, M. S. A. (2010). Effects of differing levels of glycerol on rumen fermentation and bacteria. *Ani. Feed Sci. Tech.* 162(3), 99-105.
- Adams, J. R., y Huffman, D. L. (1972). Effect of controlled gas atmospheres and temperature on quality packaged pork. *J. Food Sci.* 37, 869-375.
- Airhart, J. C., Bidner, T. D., & Southern, L. L. (2002). Effect of oral glycerol administration with and without betaine on carcass composition and meat quality of late-finishing barrows. *J. Anim. Sci.* 80(Suppl.2), 71.
- Albertí, P., Panea, B., Sañudo, C., Olleta, J. L., Ripoll, G., Ertbjerg, P., Christensen, M., Gigli, S., Failla, S., Concetti, S., Hocquette, s J.F. Jailler, R. Rudel, S. Renand, G. Nute, G.R. Richardson, R.I., & Williams, J. L. (2008). Live weight, body size and carcass characteristics of young bulls of fifteen European breeds. *Livest. Sci.* 114(1), 19-30.
- Albertí, P., Ripoll, G., Goyache, F., Lahoz, F., Olleta, J. L., Panea, B., & Sañudo, C. (2005). Carcass characterisation of seven Spanish beef breeds slaughtered at two commercial weights. *Meat Sci.* 71(3), 514-521.
- Albertí, P., Ripoll, G., Panea, B., Casasús, I., Joy, M., Congost, S., & Vallés, M. (2010). Utilización de sistemas de cebo basados en ensilados y forrajes unifeed como alternativa al sistema de cebo a pienso; efecto en los parámetros productivos y en la calidad de la carne. *Informaciones Técnicas, Centro de Transferencia Agroalimentaria, Gobierno de Aragón.* 215, 1-16.
- Albrecht, E., Teuscher, F., Ender, K., & Wegner, J. (2006). Growth-and breed-related changes of marbling characteristics in cattle. *J. Anim. Sci.* 84(5), 1067-1075.
- Alonso, V., Campo, M. D. M., Español, S., Roncalés, P., & Beltrán, J. A. (2009). Effect of crossbreeding and gender on meat quality and fatty acid composition in pork. *Meat Sci.* 81(1), 209-217.
- Alonso, V., Campo, M. M., Español, S., Roncalés, P., & Beltrán, J. A. (2009). Effect of crossbreeding and gender on meat quality and fatty acid composition in pork. *Meat Sci.* 81, 209–217.
- Álvarez Álvarez, D. (2002). Tesis. Influencia de las condiciones ante mortem y la tecnología del sacrificio sobre la calidad de la carne porcina. Universidad de Murcia. Murcia. pp. 337
- Alzón, M., Mendizabal, J. A., Arana, A., Albertí, P., & Purroy, A. (2007). Adipocyte cellularity in different adipose depots in bulls of seven Spanish breeds slaughtered at two body weights. *Cambrige University Press.* 261-267.
- AOAC (1990). Association of Official Analytical Chemists. (15th ed.) Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA (1990)

- AOAC (1999). Official method 950.46 moisture in meat; Official method 991.36 fat (crude) in meat and meat products; Official method 981.10 crude protein in meat; Official method 920.153 ash in meat. In P. Cunniff (Ed.), *Meat and Meat Products*, vol. II. 16th ed., Official methods of analysis of the AOAC International, Gaithersburg, MD, USA. 39, 1-15.
- AOAC. (2006). Association of Official Analytical Chemists (14th Ed.). Inc., Arlington, VA, U.S.A.
- Arp, T. S., Carr, C. C., Johnson, D. D., Thrift, T. A., Warnock, T. M., & Schaefer, A. L., (2011). Effects of preslaughter electrolyte supplementation on the hydration and meat quality of cull dairy cows. *Prof. Anim. Scien.* 27, 43–51.
- Asenjo, B., Miguel, J. A., Ciria, J., & Calvo, J. L. (2005). Factores que influyen en la calidad de la canal. In *Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (Animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes*. Instituto de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria. Madrid. pp 24-35.
- Asghar, A., Lin, C. F., Gray, J. I., Buckley, D. J., Booren, A. M., & Flegal, C. J. (1990). Effects of dietary oils and  $\alpha$ -tocopherol supplementation on membranal lipid oxidation in broiler meat. *J. Food Sci.* 55(1), 46-50.
- Ashes, J. R., Siebert, B. D., Gulati, S. K., Cuthbertson, A. Z., & Scott, T. W. (1992). Incorporation of n-3 fatty acids of fish oil into tissue and serum lipids of ruminants. *Lipids.* 27(8), 629-631.
- ASICI (2013). Información sectorial porcino ibérico. <http://www.iberico.com/uploads/documentos/P%20LARA%20ZAFRAABRIL2013.pdf>

## B

- Bartoň, L., Bureš, D., Homolka, P., Jančík, F., Marounek, M., & Řehák, D. (2013). Effects of long-term feeding of crude glycerine on performance, carcass traits, meat quality, and blood and rumen metabolites of finishing bulls. *Livest. Sci.* 155(1), 53-59.
- Basso, L., Pereyra, A. M., & Cossu, M. E. (2009). Evaluación sensorial de carne porcina: sistemas de producción y castración inmunológica. *Veterinaria cuyana.* 4(1).
- Bendall, J. R., & Restall, D. J. (1983). The cooking of single myofibres, small myofibre bundles and muscle strips from beef *M. psoas* and *M. sternomandibularis* muscles at varying heating rates and temperatures. *Meat Sci.* 8(2), 93-117.
- Berenchtein, B., Batista Costa, L., Barbosa Braz, D., Vezzoni de Almeida, V., Panhoza Tse, M. L. & Shigueru Miyada, V. (2010). Utilização de glicerol na dieta de suínos em crescimento e terminação. *Rev. Bras. Zootec.* 39(7), 1491-1496.
- Berg, R. T., & L. E. Walters. (1983). The meat Animal: Changes and challenges. *J. Him. Sci.* 57(2), 133



- Bertram, H. C., Oksbjerg, N., & Young, J. F. (2010). NMR-based metabonomics reveals relationship between pre-slaughter exercise stress, the plasma metabolite profile at time of slaughter, and water-holding capacity in pigs. *Meat Sci.* 84(1), 108-113.
- Boccard, R., & Dumont, B. L. (1970) Étude de l'accroissement relatif de la musculature en fonction de la vitesse de croissance corporelle chez le agneau (Ovisaries). *CR. Séances Soc. Biol.* 164, 1251-1253.
- Bosch, L., Tor, M., Reixach, J., & Estany, J. (2009). Estimating intramuscular fat content and fatty acid composition in live and post-mortem samples in pigs. *Meat science.* 82(4), 432-437.
- Bourne, M. (2002). Food texture and viscosity. Concept and measurement. Academic Press, London. pp 427.
- Brewer, M.S., Jensen, J., Sosnicki, A.A., Fields, B., Wilson, E., & McKeith, F.K. (2002) The effect of pig genetics on palatability, color and physical characteristics of fresh pork loin chops. *Meat Sci.* 61(3), 249-256.
- Brewer, S. (2004) Irradiation effects on meat color - a review. *Meat Sci.* 68, 1-17.
- BSI (1984). Sensory analyses of food. Part 3. Triangular test. BS5929. London, BSI.

## C

- Cafazzo, S., Magnani, D., Calá, P., Razzuoli, E., Gerardi, G., Bernardini, D., Amadori, M., & Costa, L.N. (2012). Effect of short road journeys on behaviour and some blood variables related to welfare in young bulls. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 139 (1), 26–34.
- Caine, W. R., Aalhus, J. L., Best, D. R., Dugan, M. E. R., & Jeremiah, L. E. (2003). Relationship of texture profile analysis and Warner-Bratzler shear force with sensory characteristics of beef rib steaks. *Meat Sci.* 64, 333–339
- Campion, B., Keane, M. G., Kenny, D. A., & Berry, D. P. (2009). Evaluation of estimated genetic merit for carcass weight in beef cattle: Blood metabolites, carcass measurements, carcass composition and selected non-carcass components. *Livest. Sci.* 126(1), 100-111.
- Campo, M. M., Sañudo, C., Panea, B., Albertó, P., & Santolaria, P. (1999). Breed type and ageing time effects on sensory characteristics of beef strip loin steaks. *Meat Sci.* 54(4), 383-390.
- Čandek-Potokar, M., Monin, G., & Žlender, B. (2002). Pork quality, processing, and sensory characteristics of dry-cured hams as influenced by Duroc crossing and sex. *J. Anim. Sci.* 80(4), 988–996.
- Cañeque, V. & Sañudo C. (2005). Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (Animales vivo, canal, carne y grasa en los rumiantes). *Frayssse YL, Darré A,* 58-95.
- Cañeque, V. (2005). Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (Animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes. INIA.

- Carballo, B. & López de la Torre, G. (1991). Manual de bioquímica y tecnología de la carne. Ed.AMV, Madrid.
- Carballo, J.A., Cabrero, M., Monserrat, L., Sanchez, L., & Sueiro, R. (1995). Producción de ternero Rubio Gallego acogible a las primas de la PAC en rebaños de vacas nodrizas. II. Determinación objetiva de las características de la canal. ITEA. 16, 603-605
- Cerneau, P., Mourot, J. & Peyronnet, C. (1994). Effect du glycérol alimentaire sur la qualité de la viande de porc et le rendement technologique du jambon cuit. Journées de la Recherche Porcine en France. 26, 193–198.
- Chambaz, A., Scheeder, M. R. L., Kreuzer, M., & Dufey, P. A. (2003). Meat quality of Angus, Simmental, Charolais and Limousin steers compared at the same intramuscular fat content. Meat Sci. 63(4), 491-500.
- Chamorro, A., Miranda, F. J., Rubio, S., & Valero, V. (2012). Innovations and trends in meat consumption: An application of the Delphi method in Spain. Meat Sci. 92(4), 816-822.
- Cherel P., Glénisson, J., Figwer, P., Pires, J., Damon, M., Franck, M. & Le Roy, P. (2010). Updated estimates of HAL n and RN-effects on pork quality: fresh and processed loin and ham. Meat Sci. 86, 949–954.
- Chilliard, Y. (1993). Dietary fat and adipose tissue metabolism in ruminants, pigs, and rodents: a review. J. Dairy Sci. 76, 3897-3931
- Chiloane, E. K., Kanengoni, A.T., & Siebrits, F.K. (2013). Effect of crude glycerol from South African biodiesel production on growth, carcass characteristics and pork quality of pigs. The South African J. Anim. Sci. 43 (2), 159-166
- Ciriá, J. & Garcés, C. (1995). El cebo intensivo en ganado porcino. En: Zootecnia. Bases de producción animal. Buxadé, C. Ed.Mudi-prensa. Madrid. Tomo VI. pp 180-197.
- Cisneros, F., Ellis, M., McKeith, F. K., McCaw, J., & Fernando., R. (1996). Influence of slaughter weight on growth and carcass characteristics, commercial cutting and curing yields, and meat quality of barrows and gilts from two genotypes. J. Anim. Sci. 74, 925–933.
- Clarke, A. M., Drennan, M. J., McGee, M., Kenny, D. A., Evans, R. D., & Berry, D. P. (2009). Intake, live Anim. scores/measurements and carcass composition and value of late-maturing beef and dairy breeds. Livest. Sci. 126(1), 57-68.
- Clemente López, I. (2012). Caracterización de la diversidad genética del cerdo ibérico a través del estudio de las diferencias fisicoquímicas de piezas cárnicas para consumo en fresco (*illiopsoas y psoas menor*) reguladas por su norma de calidad.
- Coma, J. & Piquer, J. (1999). Calidad de carne en porcino: efecto de la nutrición. XV Curso de Especialización FEDNA, avances en nutrición y alimentación animal. Madrid

Cornforth, D. P., A. L. Hecker, D. A. Cramer, A. A. Spindler, & M. M. Mathias. (1980). Maturity and its relationship to muscle characteristics of cattle. *J. Anim. Sci.* 50:75–80

Cruz, J. (2013). La caída del consumo y los altos costes de producción protagonizan la marcha del sector vacuno. *Eurocarne: La revista internacional del sector cárnico.* 214, 33-48.

## D

Daza, A., Mateos, A., López Carrasco, C., Rey, A., Ovejero, I., & López-Bote, C. J. (2006). Effect of feeding system on the growth and carcass characteristics of Iberian pigs, and the use of ultrasound to estimate yields of joints. *Meat Sci.* 72, 1-8.

DeFrain J.M., Hippen, A.R., Kalscheur, K.F., & Jardon, P.W. (2004). Feeding glycerol to transition dairy cows: effects on blood metabolites and lactation performance. *J. Dairy Sci.* 87, 4195-206.

Della Casa, G., Bochicchio, D., Faeti, V., Marchetto, G., Poletti, E., Garavaldi, A., Panciroli, A. & Brogna, N. (2009). Use of pure glycerol in fattening heavy pigs. *Meat Sci.* 81, 238-244.

Destefanis, G., Brugiapaglia, A., Barge, M. T., & Lazzaroni, C. (2003). Effect of castration on meat quality in Piemontese cattle. *Meat Sci.* 64(2), 215-218.

Dikeman, M. E. (2007). Effects of metabolic modifiers on carcass traits and meat quality. *Meat Sci.* 77(1), 121-135.

Directiva 2003/65/CE. Directiva del Parlamento Europeo y del Consejo, de 22 de julio de 2003, por la que se modifica la Directiva 86/609/CEE del Consejo relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas de los Estados miembros respecto a la protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos. *DOU* núm. 230, de 16 de septiembre de 2003, 32-33

Directiva 86/609/CEE. Directiva del Consejo, de 24 de noviembre de 1986, relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas de los Estados miembros respecto a la protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos. *DOUE* núm. 358, de 18 de diciembre de 1986, 1-28.

Dorman, D. C., Dye, J. A., Nassise, M. P., Ekuta, J., Bolon, B., & Medinsky, M. A. (1993). Acute methanol toxicity in minipigs. *Fundamental and Applied Toxicology*, 20(3), 341-347.

Dreiling, C. E., Brown, D. E., Casale, L., & Kelly, L. (1987). Muscle glycogen: comparison of iodine binding and enzyme digestion assays and application to meat samples. *Meat Sci.* 20, 167-177.

Ducatti, T., Prado, I. N., Rotta, P. P., Prado, R. M., Perotto, D., Maggioni, D., & Visentainer, J. V. (2009). Chemical composition and fatty acid profile in crossbred (*Bos taurus* vs. *Bos indicus*) young bulls finished in a feedlot. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.* 22(3), 433-439.

- Dunne, P. G., Keane, M. G., O'Mara, F. P., Monahan, F. J., & Moloney, A. P. (2004). Colour of subcutaneous adipose tissue and M. longissimus dorsi of high index dairy and beef× dairy cattle slaughtered at two liveweights as bulls and steers. *Meat Sci.* 68(1), 97-106.
- Duttlinger W., Tokach, M. D., Dritz, S. S., Derouchey, J. M., Nelssen, J. L., Goodband, R. D., & Prusa, K. J., (2008). Effects of increasing dietary glycerol and dried distillers grains with solubles on growth performance of finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 86(2), 607. (Abstr.)
- Duttlinger, A. J., DeRouchey, M. D., Tokach, M. D., Dritz, S. S., Goodband, R. D., Nelssen, J. L., Houser, T. A & Sulabo, R. C. (2012). Effects of increasing crude glycerol and dried distillers grains with soluble on growth performance, carcass characteristics and carcass fat quality of finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 90, 840-852.

## E

- Edwards S.A. (2005). Product quality attributes associated with outdoor pig production. *Livest. Prod. Sci.* 94, 5-14.
- Edwards, H., Anderson, R., Miller, R., Taylor, T., Hardin, M., Smith, S., Krueger, N., & Nisbet, D. (2012). Glycerol inhibition of ruminal lipolysis in vitro. *J. Dairy Sci.* 95(9), 5176-5181.
- Eikelenboom G., Hoving-Bolink A.H. (1994) The effect of ultimate pH on eating quality of pork. 40th Int. Con. of Meat. Sci. and Tech. 28th August – 2nd September 1994; The Hague, The Netherlands, Proceedings S-IV B.29.
- Eiras, C. E., Marques, J. A., Prado, R. M., Valero, M. V., Bonafé, E. G., Zawadzki, F., Perotto, D., & Prado, I. N. (2014). Glycerin levels in the diets of crossbred bulls finished in feedlot: Carcass characteristics and meat quality. *Meat Sci.* 96, 930-936.
- Enser, M., Hallett, K., Hewitt, B., Fursey, G. A. J., & Wood, J. D. (1996). Fatty acid content and composition of English beef, lamb and pork at retail. *Meat Sci.* 42(4), 443-456.
- Ensminger, A. H., Ensminger, M. E, Konlande, J. E., & Robson, J. R. K. (1995) *The concise encyclopedia of Foods & Nutrition.* Boca Ratón Londres: CRC Press. 297-305.
- Espejo, M., S. García, M.M. López, M. Izquierdo & A. Costela A. (1998). The influence of genotype and feeding systems in meat quality parameters of pure Retinto, Charolais x Retinto and Limusin x Retinto male calves. *Proc. 44th ICOMST,* 302-303.
- Estévez, M., Morcuende, D., & Cava, R. (2006). Extensively reared Iberian pigs versus intensively reared white pigs for the manufacture of frankfurters. *Meat Sci.* 72(2), 356-364.

## F

- FAO (2011). World agriculture: towards 2015/2030. <http://www.fao.org/docrep/005/y4252e/y4252e05c.htm#TopOfPage>
- Faucitano, L. & Wegner, J (2007) El veteado y la calidad de la carne de cerdo. *Albéitar*. 103(marzo), 58-61.
- Faucitano, L., Saucier, L., Correa, J. A., Méthot, S., Giguère, A., Foury, A., Morméde, P., & Bergeron, R. (2006). Effect of feed texture, meal frequency and pre-slaughter fasting on carcass and meat quality, and urinary cortisol in pigs. *Meat Sci.* 74(4), 697-703.
- FEDNA (2003). Fundación Española Desarrollo Nutrición Animal . Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos, 2º Ed. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, Madrid, Spain.
- FEDNA (2006). Necesidades nutricionales para ganado porcino: Normas FEDNA. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. Madrid, Spain. fabricación de piensos compuestos (3º Ed.). Madrid, Spain: FEDNA
- FEDNA (2010). Fundación Española Desarrollo Nutrición Animal. In C. De Blas, G. G. Mateos, & P. G. Rebollar (Ed.), Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos (3º Ed.). Madrid, Spain: FEDNA.
- Fernández, F.P. (1991). Calidad de carne de vacuno: concepto en España. *Mundo Ganadero*. 5 (marzo), 35-39
- Fischer, K., Lindler, J.P., Judas, M. & Höreth, R. (2006). Schlachtkörperzusammensetzung und Gewebebeschaffenheit von schweren Schweinen. II. Mitteilung: Merkmale der Fleisch- und Fettqualität. *Arch. Tierz. Dummerstorf*. 49(3), 279-292.
- Fischer, C., & Hamm, R. (1980). Biochemical studies on fast glycolysing bovine muscle. *Meat Sci.* 4(1), 41-49.
- Fisher, A. (1994). Tecnología de elaboración y producción de productos cárnicos. *Tecnología e Higiene de la Carne*, 511-625.
- Folch, J., Lees, M., & Sloane-Stanley, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from Anim. tissues. *J. Biolog. Chem.* 226(1), 497-509.
- Franci, O., Bozzi, R., Pugliese, C., Acciaioli, A., Campodoni, G. & Gandini G. (2005). Performance of Cinta Senese pigs and their crosses with Large White .I. Muscle and subcutaneous fat characteristics. *Meat Sci.* 69, 545-550
- Françoço, M. C., Prado, I. N., Cecato, U., Valero, M. V., Zawadzki, F., Ribeiro, O. L., Prado, R. M., & Visentainer, J. V. (2013). Growth performance, carcass characteristics and meat quality of finishing bulls fed crude glycerine-supplemented diets. *Braz. Arch. Biol. Techn.* 56(2), 327-336.

## G

- Gajana, C. S., Nkukwana, T. T., Marume, U., & Muchenje, V. (2013). Effects of transportation time, distance, stocking density, temperature and lairage time on incidences of pale soft exudative (PSE) and the physico-chemical characteristics of pork. *Meat Sci.* 95(3), 520-525.
- Galián, M. (2007). Características de la canal y calidad de la carne, composición mineral y lipídica del cerdo Chato Murciano y su cruce con Ibérico. Efecto del sistema de manejo. Tesis. Universidad de Murcia. Spain.
- Gamba, R. M., Sosa, F. S., & Alcántar, M. L. (2006). Estimated heritability and comparison of pure genotypes in pigs of Duroc, Landrace and Yorkshire breeds and reciprocal crosses of Landrace and Yorkshire breeds for back fat and weight to 154 days. *Rev. Cient. Facul. Cienc. V. de la Universidad del Zulia.* 16(2), 142-148.
- Gardner, G., & Pethick, D. (2003). Dark cutting beef and strategies to reduce it. *Armidale Feeder Steer School.* 90-94.
- Garrido, M. D., Bañón, S., & Álvarez, D. (2005). Medida del pH. En: Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (Animal vivo, canal, carne y grasa) Editorial Cañeque V. y Sañudo C. INIA. pp 206-215.
- Garrido M.D. y S Bañón. (2000). Medidas del pH. En: Metodología para el estudio de la calidad de la canal y de la carne en rumiantes. Ministerio de Ciencia y Tecnología-INIA. Madrid, España. pp 147-155.
- Garton, G. A., Lough, A. K., & Vioque, E. (1961). Glyceride hydrolysis and glycerol fermentation by sheep rumen contents. *J. Gen. Microbiol.* 25, 215-225
- Geay, I. (1978). Dressing percentage in relation to weight, sex and breed. E.E.C. Seminar on "Patterns of growth and development", Ghent, EUR 6007. En Martinus Nijhof, The Hague, 35-46.
- Gipe, A. (2008). Effects of dried distillers grains with soluble on pork loin quality and sow fat quality . Thesis, Kansas State University. pp 72.
- Girard, J. P. (1984). Les composantes de la qualité de la viande, du tissu adipeux, et des produits carnés. *Bull. Tech. C.R.Z.V.* 56, 59
- Gispert, M., Oliver, M. A., Velarde, A., Suarez, P., Pérez, J., & Font i Furnols, M. (2010). Carcass and meat quality characteristics of immunocastrated male, surgically castrated male, entire male and female pigs. *Meat Sci.* 85, 664-670.
- Gómez-Fernández, J., Horcajada, S., Tomás, C., Gómez-Izquierdo, E., & De Mercado, E. (2013). Efecto de la inmunocastración y de la castración quirúrgica sobre los rendimientos productivos y la calidad de la canal en cerdas Ibéricas de cebo. *ITEA.* 109(1), 33-48.
- Granados, M. V. (2001). Influencia del genotipo y la dieta sobre calidad de la canal y de la carne porcina. Efecto del  $\alpha$ -tocoferol acetato sobre la estabilidad de la oxidación de la carne. Thesis. Universidad de Murcia, Murcia. 248 pp.

- Grau, R., & Hamm, R. (1953). Eine einfache Methode zur Bestimmung der Wasserbindung im Mukel. *Naturwissenschaften*. 40, 29-30.
- Greiner, S., Rouse, G., Wilson, D., Cundiff, L., & Wheeler, T. (2003). Prediction of retail product weight and percentage using ultrasound and carcass measurements in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 81(7), 1736–1742.
- Guerrero, L., & Guàrdia, M. D. (1999). Evaluación de la terneza en carne de ternera: relación entre las medidas sensorial e instrumental según la dirección de las fibras musculares. ITEA.

## **H**

- Hamm, R. (1986). Functional properties of the myofibrillar system and their measurements. [www.fao.es](http://www.fao.es)
- Hammond, J. (1955). Quality meat production. *J. of Yorkshire Agriculture Society*. 1, 19–32
- Hanczakowska, E., Węglarz, K., Szymczyky, B. & Hanczakowski, P. (2010). Effect of adding crude or refined glycerol to pig diets on fattening performance, nutrient digestibility and carcass evaluation. *Anim. Sci.* 10(1), 67–73.
- Hansen, C. F., Hernandez, A., Mullan, B. P., Moore, K., Trezona-Murray, M., King, R. H. & Pluske, J. R. (2009). A chemical analysis of samples of crude glycerol from the production of biodiesel in Australia, and the effects of feeding crude glycerol to growing-finishing pigs on performance, plasma metabolites and meat quality at slaughter. *Anim. Prod. Sci.* 49, 154-161.
- Hiner, R.L.; Bond, J. (1971). Growth of muscle and fat in beef steers from 6 to 36 months of age. *J. Anim. Sci.* 32: 225-232.
- Honikel, K. O. (1998). Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. *Meat Sci.* 49(4), 447-457.
- Hopkins, D. L. (1994). Predicting the weight of lean meat in lamb carcasses and the suitability of this characteristic as a basis for valuing carcasses. *Meat Sci.* 38(2), 235-241.

## **I**

- Immonen, K., Puolanne, E. (2000). Variation of residual glycogen–glucose concentration at ultimate pH values below 5.75. *Meat Sci.* 55, 279–283.
- INE (2010). *Industria Alimentaria en 2009-2010*. Instituto Nacional de Estadística de España.
- INE (2011). *Proyección de la Población de España a Corto Plazo*. Instituto Nacional de Estadística de España.

INE (2012): Encuesta sobre innovación en las empresas 2010. Instituto Nacional de Estadística de España.

Insausti, K., Beriain, M. J., Alzueta, M. J., Carr, T. R., & Purroy, A. (2004). Lipid composition of the intramuscular fat of beef from Spanish cattle breeds stored under modified atmosphere. *Meat Sci.* 66(3), 639-646.

Insausti, K., Beriain, M. J., Lizaso, G., Carr, T. R. y Purroy, A. 2008. Multivariate study of different beef quality traits from local Spanish cattle breeds. *Anim.* 2(3), 447-458.

Insausti, K., Beriain, M. J., Purroy, A., Alberti, P., Gorraiz, C., & Alzueta, M. J. (2001). Shelf life of beef from local Spanish cattle breeds stored under modified atmosphere. *Meat Sci.* 57(3), 273-281.

Instituto de Promoción de la Carne Vacuna Argentina (2012) Informe de mercados internacionales de carne bovina. [http://www.ipcva.com.ar/documentos/1124\\_informedemercadosmundiales2012.pdf](http://www.ipcva.com.ar/documentos/1124_informedemercadosmundiales2012.pdf)

Instituto de Promoción de la Carne Vacuna Argentina (2014) Informe de Mercados Internacionales de Carne Bovina. [http://www.ipcva.com.ar/documentos/1309\\_1402323969\\_informedemercadosinternacionalesdecarnenovina2013.pdf](http://www.ipcva.com.ar/documentos/1309_1402323969_informedemercadosinternacionalesdecarnenovina2013.pdf)

ISO (International Organization for Standardization) 2917 (1999). Meat and meat products. Determination for pH.

ISO (International Organization for Standardization) 4121 (2003). Sensory analysis. Guidelines for the use of quantitative response scales.

ISO (International Organization for Standardization) 8586-2 (2012). Sensory analysis. General guidance for the selection, training and monitoring of assessors-Part 2. Expert sensory assessors.

## **J**

Jeremiah, L. E., Gibson, J. P., Gibson, L. L., Ball, R. O., Aker, C., & Fortin, A. (1999). The influence of breed, gender, and PSS (halothane) genotype on meat quality, cooking loss, and palatability of pork. *Food Res. Inter.* 32, 59-71.

Johns, A. T. (1953). Fermentation of glycerol in the rumen of sheep. *New Zealand J. Sci. Technol.* 35, 262-269.

Jurie, C., Picard, B., Gigli, S., Alberti, P., Sañudo, C., Levéziel, H., Williams, J., & Hocquette J. F. (2004) - Metabolic and contractile characteristics of Longissimus thoracis muscle of young bulls from 8 European breeds. *Rencontres Recherches Ruminants.* 11, 121.

## **K**



- Kahn, C. M. (2005). The Merck Veterinary Manual. (9° Ed.) Whitehouse Station: Merck and Co. pp 991–993.
- Kato, A., & Groisman, E. A. (2004). Connecting two-component regulatory systems by a protein that protects a response regulator from dephosphorylation by its cognate sensor. *Genes & development*. 18(18), 2302-2313.
- Kempster, A. J., Cuthbertson, A., & Harrington, G. (1976). Fat distribution in steer carcasses of different breeds and crosses. I. Distribution between depots. *Anita. Prod.* 23, 25.
- Kerr, B. J., Dozier, W. A. y Bregendahl, K. (2007a). Nutritional value of crude glycerin for nonruminants. 23rd Annual Carolina Swine Nutrition Conference, November 13, 2007, Raleigh, North Carolina. pp 6-18.
- Kerr, B. J., Honeyman, M., Lammers, P. y Hoyer, S. (2007b). Feeding bioenergy coproducts to swine. Crude glycerol. Iowa State University Extension. IPIC 11b. [http://www.ipic.iastate.edu/publications/IPIC\\_11b.pdf](http://www.ipic.iastate.edu/publications/IPIC_11b.pdf)
- Kijora, C. & Kupsch, R. D. (1996). Evaluation of technical glycerols from “biodiesel” production as a feed component in fattening pigs. *Lipid/Fett*. 98, 240-245.
- Kijora, C., Bergner, H., Kupsch, R. D. & Hageman, L. (1995). Glycerol as feed component in diets of fattening pigs. *Arch. Anim. Nut.* 47, 345-360.
- Kijora, C., Kupsch, R. D., Bergner, H., Wenk, C. & Prabucki, A. L. (1997). Comparative investigations on the utilization of glycerol, free fatty acids, free fatty acids in combination with glycerol and vegetable oil in fattening pigs. *J. Anim. Physio. Anim. Nut.* 77, 127-138.
- King, D. A., Morgan, W. W., Miller, R. K., Sanders, J. O., Lunt, D. K., Taylor, J. F., Gill, C. A., & Savell, J. W. (2006). Carcass merit between and among family groups of *Bos indicus* crossbred steers and heifers. *Meat Sci.* 72(3), 496-502.
- Krehbiel, C. R. (2008). Ruminal and physiological metabolism of glycerin. *J. Anim. Sci.* 86(2), 392. (Abstr.).

## L

- Lammers, P. J., Kerr, B. J., Weber, T. E., Bregendahl, K., Lonergan, S. M, Prusa, K. J., Ahn, D. U., Stoffregen, W. C, Dozier, W. A. & Honeyman, M. S. (2008a). Growth performance, carcass characteristics, meat quality, and tissue histology of growing pigs fed crude glycerin-supplemented diets. *J. Anim. Sci.* 86, 2962-2970.
- Lammers, P. J., Kerr, B. J., Weber, T. E., Dozier, W. A., Kidd, M. T., Bregendahl, K. & Honeyman, M. S. (2008b). Digestible and metabolizable energy of crude glycerol for growing pigs. *J. Anim. Sci.* 86, 3, 602-608.

- Latorre, M. A., Lizaro, R., Valencia, D. G., Medel, P., & Mateos, G. G. (2004). The effects of gender and slaughter weight on the growth performance, carcass traits, and meat quality characteristics of heavy pigs. *J. Anim. Sci.* 82, 526-533.
- Lawrie R.A. (1991). *Meat Sci* 5th edition, Pergamon Press, Oxford.
- Lawrie, R. A. (1998) Glucolisis post mortem. *Ciencia de la carne*. Editorial Acribia S. A. Zaragoza. España. 77-79.
- Lebret, B., Massabie, P., Granier, R., Juin, H., Mourot, J., & Chevillon, P. (2002). Influence of outdoor rearing and indoor temperature on growth performance, carcass, adipose tissue and muscle traits in pigs, and on the technological and eating quality of dry-cured hams. *Meat Sci.* 62(4), 447-455.
- Lee, Y. B., Kauffman, R. G., & Grummer, R. H. (1973) Effect of early nutrition of the development of adipose tissue in the pig. I. Age constant basis. *J. Anim. Sci.* 37, 1312-1318
- Ley 32/2007, de 7 de noviembre, para el cuidado de los Anim.es, en su explotación, transporte, experimentación y sacrificio. BOE núm. 268, de 8 de noviembre de 2007, 45914-45920
- Linares, M.B. (2007). Factores que afectan a la calidad de la carne de cordero de raza Manchega. Relación con el bienestar animal. Tesis. Universidad de Castilla la Mancha. España. pp 168.
- López, I. (2012). Caracterización de la diversidad genética del cerdo ibérico a través del estudio de las diferencias fisicoquímicas de piezas cárnicas para consumo en fresco (*Illiopsoas* y *Psoas menor*) reguladas por su norma de calidad. Tesis. Universidad de Córdoba. España. pp 228.

## M

- Ma, F., & Hanna, M. a. (1999). Biodiesel production: A review. *Bioresource Technology.* 70(1), 1-15
- Macfie, H. J., Bratchell, N., Greehoff, K., & Vallis, L. V. (1989). Designs to balance the effect of order of presentation and first order carry over effect in hall tests. *J. of Sensory Studies*, 4(2), 129-148.
- Mach, N., Bach, A. & Devant, M. (2008b). Effects of glycerin supplementation on meat pH of young Holstein bulls mixed at the slaughterhouse. *International Congress of Meat Sci. and Technology, ICOMST 7(11)*, 1-3.
- Mach, N., Bach, A., & Devant, M. (2008a). Effects of crude glycerin supplementation on performance and meat quality of Holstein bulls fed high-concentrate diets. *J. Anim. Sci.* 87, 632-638.
- MAGRAMA (2013a). Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio. El sector vacuno en cifras [http://www.magrama.gob.es/app/vocwai/documentos/Adjuntos\\_AreaPubli](http://www.magrama.gob.es/app/vocwai/documentos/Adjuntos_AreaPubli)

ca/INDICADORES%20ECONOMICOS%20CARNE%20DE%20VACU  
NO%202012..pdf

MAGRAMA (2013b) Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio. Caracterización del sector porcino español. Año 2012. [http://www.magrama.gob.es/es/ganaderia/temas/produccion-y-mercados-ganaderos/Caracterizaci%C3%B3n\\_del\\_sector\\_porcino\\_2012\\_tcm7-310559.pdf](http://www.magrama.gob.es/es/ganaderia/temas/produccion-y-mercados-ganaderos/Caracterizaci%C3%B3n_del_sector_porcino_2012_tcm7-310559.pdf)

MAGRAMA (2014a). Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio. Datos de consumo alimentario en España 2013. [http://www.magrama.gob.es/es/alimentacion/temas/consumo-y-comercializacion-y-distribucion-alimentaria/PRESENTACION\\_DATOS\\_CONSUMO\\_2013\\_tcm7-321988.pdf](http://www.magrama.gob.es/es/alimentacion/temas/consumo-y-comercializacion-y-distribucion-alimentaria/PRESENTACION_DATOS_CONSUMO_2013_tcm7-321988.pdf)

MAGRAMA (2014b). Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio. Industria alimentaria en 2012-2013. [http://www.magrama.gob.es/es/alimentacion/temas/industria-agroalimentaria/INFORME\\_INDUSTRIA\\_ALIMENTARIA\\_2012-2013\\_tcm7-8208.pdf](http://www.magrama.gob.es/es/alimentacion/temas/industria-agroalimentaria/INFORME_INDUSTRIA_ALIMENTARIA_2012-2013_tcm7-8208.pdf)

MAGRAMA (2014c). Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio. La alimentación mes a mes. [http://www.magrama.gob.es/es/alimentacion/temas/consumo-y-comercializacion-y-distribucion-alimentaria/Informe\\_Mes\\_a\\_Mes\\_Agosto\\_2014\\_tcm7-347809.pdf](http://www.magrama.gob.es/es/alimentacion/temas/consumo-y-comercializacion-y-distribucion-alimentaria/Informe_Mes_a_Mes_Agosto_2014_tcm7-347809.pdf)

Mamaqui, E.N. (1996). Influencia de la raza de terneros y del tipo de pienso en los parámetros productivos y en la calidad de la carne. Master of Science. CIHEAM. Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza. España.

Martin, L. C., Brinks, J. S., Bourdon, R. M., & Cundiff, L. V. (1992). Genetic effects on beef heifer puberty and subsequent reproduction. *J. Anim. Sci.* 70(12), 4006-4017.

Mateos, G. G. (2007). Producción de biocarburantes: nuevas materias primas en alimentación animal. Jornadas Muriscade. Universidad Politécnica de Madrid. [http://www.mouriscade.com/doc\\_ponencias/oct-2007/Biocarburantes\\_y\\_Nuevas\\_M\\_Primas\\_G\\_Mateos\\_Mouriscade\\_2007.pdf](http://www.mouriscade.com/doc_ponencias/oct-2007/Biocarburantes_y_Nuevas_M_Primas_G_Mateos_Mouriscade_2007.pdf)

Mayoral, A. I. (1994) El crecimiento de la canal porcina ibérica: estudio anatomodescriptivo y consideraciones aplicadas. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad de Extremadura.

McCormick, R. J. (1994). Structure and Properties of Tissues. *Muscle Foods*. Springer US. pp 25-62.

Mendoza, O. F., Ellis, M., McKeith, F. K & Gaines, A. M. (2010). Metabolizable energy content of refined glycerin and its effects on growth performance

- and carcass and pork quality characteristics of finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 88, 3887-3895.
- Miller, M. F., Shackelford, S. D., Hayden, K. D., & 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. *J. Anim. Sci.* 68(6), 1624-1631.
- Mitchaonthai J, Yuangklang C, Wittayakun S, Vasupen K, Wongsutthavas S, Srenanul P, Hovenier R, Everts H, Beynen A C. 2007. Effect of dietary fat type on meat quality and fatty acid composition of various tissues in growing-finishing swine. *Meat Sci.* 76, 95-101.
- MITYC (2009). Ministerio de Industria, Turismo y Comercio. La energía en España 2009. [http://www.mityc.es/energia/balances/LibrosEnergia/Energia\\_2009.pdf](http://www.mityc.es/energia/balances/LibrosEnergia/Energia_2009.pdf)
- Monin, G., & Ouali, A. (1991). Muscle differentiation and meat quality. In "Development in meat Sci. - 5" (Lawrie R.A., ed.), Elsevier applied Sci. publisher, London and New York.
- Mooney, J. W., E. M. Hirschler, A. K. Kennedy, A. R. Sams, & M.E. Van Elswyk. (1998). Lipid and flavour quality of stored breast meat from broilers fed marine algae. *J. Sci. Food Agric.* 78, 134-140
- Morand, C., Redon, C., Remesy, C., & Demigne, C. (1990). Non-hormonal and hormonal control of glycogen metabolism in isolated sheep liver cells. *Int. J. Biochem.* 22, 873-881.
- Morgan, J. B., Wheeler, T. L., Koohmaraie, M., Savell, J. W., & Crouse, J. D. (1993). Meat tenderness and the calpain proteolytic system in longissimus muscle of young bulls and steers. *J. Anim. Sci.* 71(6), 1471-1476.
- Mormède, P., Andanson, S., Auperin, B., Beerda, B., Guemene, D., Malmkvist, J., Manteca, X., Manteuffel, G., Prunet, P., Van Reenen, C.G., Richard, S., & Veissier, I. (2007). Exploration of the hypothalamic-pituitary-adrenal function as a tool to evaluate Anim. welfare. *Physiol. Behav.* 92, 317-339.
- Mourot, J., Aumaitre, A., Mounier, A., Peiniau, P. A., Fracois, A., Peyronnet, C. & Jamet, J. P. (1993). Effect of glycerol in the diet on growth performances and on meat quality in The Large White Pig. *Journées de la Recherche Porcine en France.* 25, 29-36.
- Mourot, J., Aumaitre, A., Mounier, A., Peiniau, P. & François, A. C. (1994). Nutritional and physiological effects of dietary glycerol in the growing pig. Consequences on fatty tissues and post mortem muscular parameters. *Livest. Prod. Sci.* 38, 237-244.
- Muñoz, A. M., & Civille, G. V. (1998). Universal, product and attribute specific scaling and the development of common lexicons in descriptive analysis. *J. Sens. Stud.* 13(1), 57-75.

Muriel, E., Ruiz, J., Ventanas, J. s., Petró, M. J., & Antequera, T. (2004). Meat quality characteristics in different lines of Iberian pigs. *Meat Sci.* 67, 299-307

Muriel, E., Ruiz, J., Ventanas, J., & Antequera, T. (2002). Free-range rearing increases (n-3) polyunsaturated fatty acids of neutral and polar lipids in swine muscles. *Food Chemistry.* 78(2), 219-225.

## N

Nafikov, R. A., & Beitz, D. C. (2007). Carbohydrate and lipid metabolism in farm animals. *J. Nutr.* 137(3), 702-705.

Nelson, M. L., Marks, D. J., Busboom, J. R., Cronrath, J. D., & Falen, L. (2004). Effects of supplemental fat on growth performance and quality of beef from steers fed barley-potato product finishing diets: I. Feedlot performance, carcass traits, appearance, water binding, retail storage, and palatability attributes. *J. Anim. Sci.* 82(12), 3600-3610.

Nieto, G. (2009). Efecto de la alimentación de ovejas gestantes con romero (*rosmarinus officinalis, L.*) y tomillo (*thymus zygis subsp. gracilis*) sobre calidad de la carne de cordero. Universidad de Murcia. Murcia. Tesis

NPPC (1991). Procedures to evaluate market hogs, 3rd Ed. National Pork Producer Council. Des Moines, IA, USA.

Nuernberg, K., Fischer, K., Nuernberg, G., Kuechenmeister, U., Klosowska, D., Eliminowska-Wenda, G., Fiedler, I., & Ender, K. (2005). Effects of dietary olive and linseed oil on lipid composition, meat quality, sensory characteristics and muscle structure in pigs. *Meat Sci.* 70(1), 63-74.

Nürnberg, K., Wegner, J., & Ender, K., (1998). Factors influencing fat composition in muscle and adipose tissue of farm Anim.s. *Livest. Prod. Sci.* 56(2), 145-156

## O

Offer G. y Knight P. (1988). The structural basis of water-holding in meat; Part 2: Drip Losses. En: *Developments in Meat Sci.* 4, Ed.R. Lawrie, Elsevier, Oxford: 173-241.

Ogborn, K. L. (2006). Effects of method of delivery of glycerol on performance and metabolism of dairy cows during the transition period. Cornell University. Thesis. pp 75.

O'Kelly, J.C. (1985). Influence of dietary fat on some metabolic responses of cattle to fasting. *Research in Veterinary Sci.* 39(2), 254.

Oliver, M. A., Gispert, M., Tibau, J. y Diestre, A. (1991). The measurement of light scattering and electrical conductivity for the prediction of pig meat at various times *postmortem*. *Meat Sci.* 29, 141-151.

Onega Pagador, M. E. (2003). Evaluación de la calidad: aplicación de técnicas analíticas, instrumentales y sensoriales. Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid.

Otto G., Roehe R., Looft H., Thoelking L., Knap P.W., Rothschild M.F., Plastow G.S. & Kalm E. (2007). Associations of DNA markers with meat quality traits in pigs with emphasis on drip loss. *Meat Sci.* 77, 185-195.

## P

Page, J. K., Wulf, D. M., & Schwotzer, T. R. (2001). A survey of beef muscle color and pH. *J. Anim. Sci.* 79(3), 678-687.

Panea, B., Sañudo, C., Olleta, J. L. & Sierra, I. (2010). Caracterización de la canal y la carne de la raza bovina Menorquina. *Archivos de Zootecnia.* 59, 467-470.

Parker, A. J., Dobson, G. P., & Fitzpartrick, L. A. (2007). Physiological and metabolic effects of prophylactic treatment with the osmolytes glycerol and betaine on *Bos indicus* steers during long duration transportation. *J. Anim. Sci.* 85, 2916-2923.

Parsons, G. L., Shelor, M. K., & Drouillard, J. S. (2009). Performance and carcass traits of finishing heifers fed crude glycerin. *J. Anim. Sci.* 87(2), 653-657.

Pedauy , J., Ba on, S., Quiñonero, M., López, M. B., & Garrido, M. D. (1994). Calidad de la carne de cerdo: Influencia del espesor del p nculo graso dorsal, el grado de infiltración grasa muscular y del sexo. *Anales de Veterinaria.* 9 (10), 17-24.

Peinado B., Poto A., Gil F. y López G. (2004). Characteristics of the carcass and meat of the Chato Murciano pig. *Livest. Prod. Sci.* 90. pp.285-292.

Peinado, B., Almela, L., Duchi, N., & Poto, A. (2009). Parámetros de calidad en la canal y en la carne de cerdo Chato Murciano. *Eurocarne.* 173, 64-80.

Peinado, J., Serrano, M. P., Nieto, M., Sánchez, J., Medel, P., & Mateos, G.G. (2012). The effects of gender and castration of females on performance and carcass and meat quality of heavy pigs destined to the dry-cured industry. *Meat Sci.* 90, 715-720

Pérez, B. (2011). Suplementación de raciones para cebo intensivo de terneros con aceites vegetales: rendimientos productivos, calidad de la canal, de la grasa y de la carne. Universidad Complutense de Madrid. Madrid. Tesis. pp 317.

Pineiro, C., Lorenzo, E., Pineiro, A., & Mateos., G. G. (2001). Effects of induced stresses on productive performance and serum concentration of acute phase proteins in growing-finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 79(1), 211. (Abstr.)

- Pla Torres, M. (2005). Determinación de la textura. En: Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (Anim. vivo, canal, carne y grasa), editado por Cañeque V. Y Sañudo C. INIA. pp 243-250.
- Pluske, J. (2007). Evaluation of glycerine as a coproduct of biodiesel production for the pig industry. Subiaco: Pork Co-operative Research Center. 1, 1-47.
- Poto, A. (2003). Estudio de la calidad de la canal y de la carne del cerdo Chato Murciano. Tesis Doctoral, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, España.
- Prieto, N. (2006). Aplicación de la tecnología NIRS para estimar parámetros indicativos de la calidad de la carne de vacuno. Universidad de León. León. 278
- Puolanne, M. H. (2010). Theoretical aspects of water-holding in meat. *Meat Sci.* 86, 151-165.

## R

- Ramírez, J. A. (2004). Características bioquímicas del músculo, calidad de la carne y de la grasa de conejos seleccionados por velocidad de crecimiento. Universidad autónoma de Barcelona. Bellaterra, Barcelona, España. Tesis. pp 179.
- Ramos, H. M., & Kerley, M. S. (2012). Effect of dietary crude glycerol level on ruminal fermentation in continuous culture and growth performance of beef calves. *J. Anim. Sci.* 90, 892–899.
- Real Decreto 54/1995, de 20 de enero, sobre protección de los Anim.es en el momento de su sacrificio o matanza BOE núm. 39, de 15 de febrero de 1995, 5146-5153.
- Real Decreto 640/2006, de 26 de mayo, por el que se regulan determinadas condiciones de aplicación de las disposiciones comunitarias en materia de higiene, de la producción y comercialización de los productos alimenticios. BOE núm. 126, de 27 de mayo de 2006, 19999-20002.
- Real Decreto 731/2007, de 8 de junio, por el que se modifican determinadas disposiciones para su adaptación a la normativa comunitaria sobre piensos, alimentos y sanidad de los Anim.es. BOE núm. 147, de 20 de junio de 2007, 26819-26822.
- Realini, C. E., Duckett, S. K., Brito, G. W., Dalla Rizza, M., & De Mattos, D. (2004). Effect of pasture vs. concentrate feeding with or without antioxidants on carcass characteristics, fatty acid composition, and quality of Uruguayan beef. *Meat Sci.* 66(3), 567-577.
- Reglamento (CEE) nº 2967/85 de la Comisión, de 24 de octubre de 1985, por el que se establecen las modalidades de aplicación del modelo comunitario de clasificación de las canales de cerdo. DOUE núm. 285, de 25 de octubre de 1985, 39-40.
- Reglamento (UE) No 257/2010 DE LA COMISIÓN de 25 de marzo 2010 por el que se establece un programa para la reevaluación de aditivos alimentarios autorizados

de conformidad con el Reglamento (CE) no 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo sobre aditivos alimentarios. [www.boe.es](http://www.boe.es)

Reglamento (CE) n° 3127/94 de la Comisión, de 20 de diciembre de 1994, que modifica el Reglamento (CEE) n° 2967/85 por el que se establecen las modalidades de aplicación del modelo comunitario de clasificación de las canales de cerdo. DOUE. núm. 330, de 21 de diciembre de 1994, 43-44.

Reid, D. S., Sajjaanantakul, T., Lillford, P. J., & Charoenrein, S. (2010). Water properties in food, health, pharmaceutical, and biological systems: ISOPOW 10. Wiley-Blackwell: USA. pp 616.

Relling, A. E., & Reynolds, C. K. (2007). Feeding rumen-inert fats differing in their degree of saturation decreases intake and increases plasma concentrations of gut peptides in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90(3), 1506-1515.

Rémond, B., E. Souday, & J. P. Jouany. (1993). In vitro and in vivo fermentation of glycerol by rumen microbes. *Anim. Feed Sci. Technol.* 41, 121–132.

Renaudeau, D., & Mourot, J. (2007). A comparison of carcass and meat quality characteristics of Creole and Large White pigs slaughtered at 90 kg BW. *Meat Sci.* 76, 165-171.

Rhee, K. S., Anderson, L. M., & Sams, A. R. (1996). Lipid oxidation potential of beef, chicken, and pork. *J. of Food Sci.* 61(1), 8-12.

Robelin, J., & Daenicke, R. (1980). Variation of net requirements for cattle growth with liveweight, liveweight gain, breed and sex. *Ann. Zootech.*, 29, 15-30.

Roger, V., Fonty, G., Andre, C., & Gouet, P. (1992). Effects of glycerol on the growth, adhesion, and cellulolytic activity of rumen cellulolytic bacteria and anaerobic fungi. *Current Microbiology*, 25(4), 197-201.

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

Rosenvold, K. & Andersen, H. J. (2003). The significance of pre-slaughter stress and diet on colour and colour stability. *Meat Sci.* 63, 199-209. (Abstr).

Rotta, P. P., Prado, R. M., Prado, I. N., Valero, M. V., Visentainer, J. V., & Silva, R. R. (2009). The effects of genetic groups, nutrition, finishing systems and gender of Brazilian cattle on carcass characteristics and beef composition and appearance: a review. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.* 22(12), 1718-1734.

## S

Salgueiro, J. Z. (2005). Alimentación y calidad de la carne en terneros: influencia del sistema productivo. In *Avances en nutrición y alimentación animal.* (pp. 83-109). Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal.



- Sami, A. S., Augustini, C., & Schwarz, F. J. (2004). Effects of feeding intensity and time on feed on performance, carcass characteristics and meat quality of Simmental bulls. *Meat Sci.* 67(2), 195-201.
- Sanchez, B.; Sanchez, L.; De La Calle, B.; & Monserrat, L. (1997). Influencia de factores de variación en los valores de pH y color de la ternera gallega. VII Jornadas sobre Producción Animal. ITEA. 766-768.
- Sañudo, C., Sánchez, A., & Alfonso, M. (1998). Small ruminant production systems and factors affecting lamb meat quality. 44<sup>th</sup> International Congress of Meat Sci. and Technology. Barcelona, Spain. *Meat Sci* 49(1): 29-64.
- Sañudo, C., Campo, M.M., Sierra, I., María, G.A., Olleta, J.L., & Santolaria, P. (1997). Breed effect on carcass and meat quality of suckling lambs. *Meat Sci.* 4: 357-365.
- Sañudo, C., Olleta, J.L., Campos, M.M., Alfonso, M. y Panea, B. (2000). Propuesta de muestreo. En metodología para el estudio de la calidad de la canal y de la carne en rumiantes. Ministerio de ciencia y tecnología, monografías INIA:ganadera.
- Schaefer, P. L., Dubeski, J. L., Aalhus, A. & Tong, K. W. (2001) Role of nutrition in reducing *antemortem* stress and meat quality aberrations. *J. Anim. Sci.* 79, 91–101.
- Schaefer, A. L., Stanley, R. W., Tong, A. K. W., Dubeski, P., Robinson, B., Aalhus, J. L., & Roberston, W. M. (2006). The impact of antemortem nutrition in beef cattle on carcass yield and quality grade. *Can. J. Anim. Sci.* 86, 317.
- Schieck, G. C., Shurson, B. J., Kerr, B. J. & Johnston, L. J. (2010). Evaluation of glycerol, a biodiesel co-product, in grow-finish pig diets to support growth and pork quality. *J. Anim. Sci.* 88, 3927-393
- Schröder, A., & Südekum, K. H. (1999). Glycerol as a by-product of biodiesel production in diets for ruminants. In Wratten, N., Salisbury, PA (Eds.), *New Horizons for an Old Crop. Proc. 10th Int. Rapeseed Congr.*, Canberra, Australia. Paper no. 241. The Regional Institute Ltd., Gosford, New South Wales, Canberra, Australia. 1, 1-10.
- Schwartzkopf-Genswein, K. S., Faucitano, L., Dadgar, S., Shand, P., González, L. A., & Crowe, T. G. (2012). Road transport of cattle, swine and poultry in North America and its impact on Anim. welfare, carcass and meat quality: A review. *Meat Sci.* 92(3), 227-243.
- Scollan, N., Hocquette, J. F., Nuernberg, K., Dannenberger, D., Richardson, I., & Moloney, A. (2006). Innovations in beef production systems that enhance the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. *Meat Sci.* 74(1), 17-33.
- Serra, X., Gil, F., Pérez-Enciso, J., Oliver, M. A., Vázquez, J. M., Gispert M., Díaz, I., Moreno F., Latorre, R. & Noguera, J. L. (1998). A comparison of carcass, meat quality and histological characteristics of Iberian (Guadyrbas line) and Landrace pigs. *Livest. Prod. Sci.* 56, 215-223.

- Serra, X., Guerrero, L., Guàrdia, M. D., Gil, M., Sañudo, C., Panea, B., Campo, M. M., Olleta, J. L., García-Cachán, M. D., Piedrafita, J. & Oliver, M. A. (2008). Eating quality of young bulls from three Spanish beef breed-production systems and its relationships with chemical and instrumental meat quality. *Meat Sci.* 79(1), 98-104.
- Serrano, M. P., Valencia, D. G., Fuentetaja, A., Lázaro, R., & Mateos, G. G., (2009). Influence of feed restriction and sex on growth performance and carcass and meat quality of Iberian pigs reared indoors. *J. Anim. Sci.* 87, 1676-1685.
- Serrano, M. P., Valencia, D. G., Fuentetaja, A., Lázaro, R., & Mateos, G. G. (2008a). Effect of gender and castration of females and slaughter weight on performance and carcass and meat quality of Iberian pigs reared under intensive management systems. *Meat Sci.* 80, 1122–1128.
- Serrano, M. P., Valencia, D. G., Nieto, M., Lázaro, R., & Mateos, G. G. (2008b). Effect of sex and terminal sire line on performance and carcass and meat quality traits of Iberian pigs reared under intensive production systems. *Meat Sci.* 78, 420–428.
- Shields, M. C. (2009). Evaluation of the nutritional value of glycerol, a byproduct of biodiesel production, for swine. NC State University. Raleigh. USA. <http://repository.lib.ncsu.edu/ir/bitstream/1840.16/1976/1/etd.pdf>
- Silva, E., Cajueiro, J., Silva, S., Vidal, A., Soares, P., & Guerra, M. (2012). In vitro evaluation of ram sperm frozen with glycerol, ethylene glycol or acetamide. *Anim. Reprod. Sci.* 132(3), 155-158.
- Sjaastad, O. V., Hove, K., & Sand, O. (2010). *Physiology of Domestic Anim.* (2nd Ed.). Oslo: Scandinavian veterinary.
- Soto, S., Fernández-Diez, A., Caro, I., Humada, M., Cimadevilla, C., Mateo, J., & Serrano, E. (2014) Efecto del sistema de producción sobre las características de la canal, de la carne y de la grasa de terneros de raza tudanca. *Pastos y PAC 2014-2020. 53ª Reunión Científica de la SEEP.* 437-444
- SPSS. (2005). *Statistical package for the social Sci. for windows user'guide realese 11.5*, IL, USA, SPSS Inc., 44aN, Michigan Avenue, Chicago.
- Stevens, J. A., Schinckel, M., Latour, D., Kelly, D., Sholly, B., Legan, B. & Richert, B. (2008). Effects of feeding increasing levels of glycerol with or without distillers dried grains with solubles in the diet on grow-finish pig growth performance and carcass quality. *J. Anim. Sci.* 86(2), 606
- Suzuki, K., Shibata, T., Kadowaki, H., Abe, H., & Toyoshima, T. (2003). Meat quality comparison of Berkshire, Duroc and crossbred pigs sired by Berkshire and Duroc. *Meat Science.* 64(1), 35-42.

**T**

- Tadich, N., Gallo, C., Bustamante, H., Schwerter, M., & van Schaik, G. (2005). Effects of transport and lairage time on some blood constituents of Friesian-cross steers in Chile. *Livest. Prod. Sci.* 93, 223–233.
- Tadich, N., Gallo, C., Knowles, T., & Aranís, A. (2002). Blood concentration of some variables indicator of stress before and during exsanguination, in cattle. XII Congress of Veterinary Medicine. Chillán, Chile.
- Teixeira A, & Rodrigues, S. (2013). Pork meat quality of Preto Alentejano and commercial Largewhite Landrace cross. *J. Integrat. Agri.* 12(11), 1961-1971.
- Tejerina, D., García-Torres, S., de Vaca, M. C., Vázquez, F. M., & Cava, R. (2012). Study of variability in antioxidant composition and fatty acids profile of *Longissimus dorsi* and *Serratus ventralis* muscles from Iberian pigs reared in two different Montanera seasons. *Meat Sci.* 90(2), 414-419.
- Teruel, M. R. (2011). Efecto de glicerol sobre cerdo blanco criado en intensivo. Universidad de Murcia. Murcia. Tesina.
- Teye, G. A., Sheard, P. R., Whittington, F. M., Nute, G. R., Stewart, A., & Wood, J. D. (2006). Influence of dietary oils and protein level on pork quality. 1. Effects on muscle fatty acid composition, carcass, meat and eating quality. *Meat Sci.* 73(1), 157-165.
- Tibau J., Puigvert X., Soler J., Trilla N., Diestre A., Gispert M., Fernández J. & Manteca X. 1997. Incidencia de factores genéticos y de comportamiento en la eficiencia del crecimiento, la composición y la calidad de la canal y de la canre en distintas razas porcinas. *Anaporc*, 171, pp. 74-91.
- Trabue, S., K. Scoggin, S. Tjandrakusuma, M. A. Rasmussen, & P. J. Reilly. (2007). Ruminant fermentation of propylene glycol and glycerol. *J. Agric. Food Chem.* 55, 7043–7051.
- Trujillo, R. L., Elizondo, R. G., Bosque, M. M., & Ortiz, J. A. (2002). Crecimiento y características de la canal de bovinos Charolais y Beefmaster alimentados con dos fuentes de proteína y do Crecimiento y características de la canal de bovinos Charolais y Beefmaster alimentados con dos fuentes de proteína y dos niveles de grasa sobrepasante s niveles de grasa sobrepasante. *Técnica Pecuaria en México.* 40(3), 291-298.

**U**

- UNE-EN ISO 4120 (2008). Análisis sensorial. Metodología. Prueba triangular (ISO 4120:2004). [www.aenor.es](http://www.aenor.es)
- UNE-EN ISO 5508 (1996) .Aceites y grasas de origen animal y vegetal. Análisis por cromatografía en fase gaseosa de los ésteres metílicos de ácidos grasos. (ISO 5508:1990). [www.aenor.es](http://www.aenor.es)

UNE-EN ISO 8589 (2010). Análisis sensorial. Guía general para el diseño de una sala de cata. (ISO 8589:2007). [www.aenor.es](http://www.aenor.es)

USDA (2013). Livestock and Poultry: World Markets and Trade [http://www.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock\\_poultry.pdf](http://www.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock_poultry.pdf)

## V

Van de Perre, V., Permentier, L., De Bie, S., Verbeke, G., & Geers, R. (2010). Effect of unloading, lairage, pig handling, stunning and season on pH of pork. *Meat Sci.* 86(4), 931-937.

Velásquez, J. C., & Ríos, M. (2010). Relationship of body composition measures assessed in vivo ultrasound with carcass weight in Zebu culling cows. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias.* 23(1), 99-105.

Velásquez, A. L. D. J. S. (2008). Medición del espesor de grasa dorsal y área del ojo del lomo en canales de jabalí (*Sus scrofa L*): su relación con la cantidad de grasa y músculo Universidad Austral de Chile Facultad de Ciencias Agrarias. Escuela de Agronomía. Tesis. pp 57.

Velázquez, P. A. (2000). Predicción del contenido de cortes primarios en canales porcinos y en cerdos vivos. [http://www.disa.bi.ehu.es/spanish/asignaturas/17223/Alimentacion\\_Corte\\_Carne.pdf](http://www.disa.bi.ehu.es/spanish/asignaturas/17223/Alimentacion_Corte_Carne.pdf)

Vergara, H., Gallego, L., García, A., & Landete-Castillejos, T. (2003). Conservation of *Cervus elaphus* meat in modified atmospheres. *Meat Sci.* 65, 779-783

## W

Wagner, D.R., 1999. Hyperhydrating with glycerol: implications for athletic performance. *J. American Diet Assoc.* 99(2), 207–212.

Walsh, K., O'Kiely, P., Moloney, A. P., & Boland, T. M. (2008). Intake, performance and carcass characteristics of beef cattle offered diets based on whole-crop wheat or forage maize relative to grass silage or *ad libitum* concentrates. *Livest. Sci.* 116(1), 223-236.

Wang, C., Lui, Q., Huo, W.J., Yang, W.Z., Dong, K.H., Huang, X.Y., & Guo, G. (2009) Effects of feeding glycerol on rumen fermentation, urinary excretion of purine derivatives and feed digestibility in steers. *Livest. Sci.* 121, 15–20

Warner, R. D., Kauffman, R. G., & Greaser, M. L. (1997). Muscle protein changes post mortem in relation to pork quality traits. *Meat Sci.* 45(3), 339-352.

Warren, H. E., Scollan, N. D., Enser, M., Hughes, S. I., Richardson, R. I., & Wood, J. D. (2008). Effects of breed and a concentrate or grass silage diet on beef quality in cattle of 3 ages. I: Animal performance, carcass quality and muscle fatty acid composition. *Meat Sci.* 78(3), 256-269.

- Wegner, J., Albrecht, E., Fiedler, I., Teuscher, F., Papstein, H. J. & Ender, K. (2000). Growth- and breed-related changes of muscle fiber characteristics in cattle. *J. Anim. Sci.* 78(6), 1485-1496.
- Westad, F., Hersletha, M., Lea, P., & Martens, H. (2003). Variable selection in PCA in sensory descriptive and consumer data. *Food Qual. Prefer.* 14(10), 463-472.
- White, A., Handler, P., & Smith, E. (1973). *Principles of Biochemistry* (5th Ed.). Tokyo: McGraw Hill.
- Wild, J. J. (1950). The use of ultrasonic pulses for the measurement of biologic tissues and the detection of tissue density changes. *Surgery.* 27(2), 183-188.
- Wood, J. D., Nute, G. R., Richardson, R. I., Whittington, F. M., Southwood, O., Plastow, G., Mansbridge, R., da Costa, N. & Chang, K. C. (2004). Effects of breed, diet and muscle on fat deposition and eating quality in pigs. *Meat Sci.* 67, 651-667.
- Wood, J. D. (1984). Fat deposition and the quality of fat tissue in meat Anim.s. In J. Wiseman (Ed.), *Fats in Anim. Nutrition*. London: Butterworths. pp 407–435.
- Wood, J. D., Enser, M., Fisher, A. V., Nute, G. R., Sheard, P. R., Richardson, R. I., ... & Whittington, F. M. (2008). Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Sci.* 78(4), 343-358.
- Wood, J. D., Richardson, R. I., Nute, G. R., Fisher, A. V., Campo, M. M., Kasapidou, E., Sheard, P. R., & Enser, M. (2003). Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat Sci.* 66, 21–32.
- Wulf, D. M., Emmett, R. S., Leheska, J. M., & Moeller, S. J. (2002). Relationships among glycolytic potential, dark cutting (dark, firm, and dry) beef, and cooked beef palatability. *J. Anim. Sci.* 80, 1895–1903.

## **Z**

- Zea Salgueiro, J.; Diaz Diaz, M. D., & Carballo Santaolalla, J. A. (2009) Efecto del acabado sobre la calidad de la canal de terneros y terneras alimentados con ensilados. *Arch. Zootec.* 58(221), 11-22.
- Zhang, S., Knight, T. J., Stalder, K. J., Goodwin, R. N., Lonergan, S. M., & Beitz, D. C. (2007). Effect of breed, sex and halothane genotype on fatty acid composition of pork Longissimus muscle. *J. of Anim. Sci.* 85, 583–591.



---

# **ANEXOS**





RESEARCH ARTICLE

OPEN ACCESS

## Fat, meat quality and sensory attributes of Large White × Landrace barrows fed with crude glycerine

M. Belen Linares<sup>1\*</sup>, M. Rocio Teruel<sup>1</sup>, Macarena Egea<sup>1</sup>, Carmen M. Villodre<sup>2</sup>, Fuensanta Hernandez-Ruiperez<sup>2</sup>, Josefa Madrid<sup>2</sup> and M. Dolores Garrido<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Food Sciences and Technology. <sup>2</sup> Department of Animal Nutrition. Veterinary Faculty. University of Murcia. 30071 Espinardo (Murcia), Spain

### Abstract

The use of alternative raw materials like crude glycerine in animal feed to reduce final costs could be of interest as the sector seeks to increase its competitiveness. The aims of the present work were to evaluate the effect of crude glycerine on back-fat thickness and the proximate composition of pork and to examine the effect on pork quality of using growing-finishing feeds with different percentages of crude glycerine added. For this purpose 60 crossbreed (Large White × Landrace) barrows were subdivided into three groups according to the crude glycerine concentration administered in feed: C, control diet, no crude glycerine; and G2.5 and G5 with 2.5% and 5% added crude glycerine, respectively. This study evaluated proximate composition, pH, cooking losses, texture, colour coordinates, fatty acid profile, and sensorial analysis. No differences were found in any of the three groups studied (C, G2.5, G5) for measurements performed both before (with ultrasound equipment) and after slaughter (millimetre ruler). The proximate composition and the physical-chemical parameters of *longissimus dorsi* were similar between groups. There were no differences detected ( $p > 0.05$ ) between the three groups as regards the CIELab coordinates, textural profile and sensory attributes. Therefore, 5% crude glycerine to replace corn could be used as an ingredient in pig feed without appreciably affecting the back-fat and meat quality characteristics.

**Additional key words:** pig; pork quality; glycerol; by-product; stearic acid.

### Introduction

In recent years the decreased availability of the raw materials traditionally used in feed production (cereals, soybean, etc) and their high prices have had a substantial impact on the animal production sector where feeding accounts for about 70% of total costs (Tible *et al.*, 2007). It is for this reason that the use of alternative raw materials in animal feed to reduce final costs could be of interest as the sector seeks to increase its competitiveness. Among such alternatives, crude glycerine, a by-product of biodiesel production, might be considered a useful source of energy. The global annual biodiesel production is projected to be about 41 billion litres in 2019 according to report by the

OECD-FAO (2012). Furthermore it seems that biodiesel production capacities are growing all over the world (Kovacs *et al.*, 2011). For example, the European Union produced 5,140 million liters in 2005 and its production capacity was close to 10,850 million liters in 2012 (USDA, 2012). Biodiesel can be produced from different seeds (*e.g.* rapeseed, soybean, sunflowers, canola), palm oil, frying oils and fat. The esterification process produces glycerol as subproduct. One tonne of biodiesel gives about 100 kg of crude glycerine, which can be used as an energy source under oxidizing conditions since one mol glycerol yields 22 moles of ATP. Despite the fact that this by-product is extensively used in the food, cosmetic and pharmaceutical industries, its generalised use is limited due

\* Corresponding author: blinares@um.es

Received: 10-04-14. Accepted: 23-07-14.

Abbreviations used: AI (aroma intensity); ATP (adenosine triphosphate); BFT (back-fat thickness); C (control); CL (cooking losses); CHE (chewiness); DFD (dark firmness and dry FI (flavour intensity); FIB (fibrousnesses); G2.5 (2.5% glycerol); G5 (5% glycerol); JUI (juiciness); LT (loin thickness); MC (meat colour); ME (metabolizable energy); OO (off-odour); PER (persistence); TEN (tenderness); TPA (texture profile analysis); WHC (water holding capacity).

to the possible presence of impurities (*e.g.* methanol, salts, fatty acids), so that the development of other uses, as in animal feed, could be important for the sustainability of biodiesel industries (Nitayavardhana & Khanal, 2011). In this respect some authors (Alexandre *et al.*, 2012; Quispe *et al.*, 2013) have confirmed the economic advantages of using crude glycerine, obtained from biodiesel, as a component of animal feed, since any reduction in feeding costs should lead to a reduction in meat and meat product prices.

Glycerol is a sweet-tasting product and so it is well-accepted by animals (Kerr *et al.*, 2007). In addition, it can be converted into glucose in the liver and provide energy through the gluconeogenic pathway. It also has osmotic properties that can affect muscle quality (Parker *et al.*, 2007). While some authors (Cerneau *et al.*, 1994; Mouroto *et al.*, 1994; Airhart *et al.*, 2002; Hanczakowska *et al.*, 2010) reported that meat from pigs fed with crude glycerine showed some changes in their quality characteristics, others (Kijora & Kupsch, 1996; Hansen *et al.*, 2009; Mendoza *et al.*, 2010) did not describe any effect of this compound on pork quality. Many of these studies were carried out to ascertain the viability of using crude glycerine in pig nutrition, but few have focused on the effect of crude glycerine on pork quality aspects such as its sensory or textural profile. Due to the great variability in results concerning pork quality when a given percentage of crude glycerine is included in the feed formulation (Schieck *et al.*, 2010) or drinking water (Della Casa *et al.*, 2009) and the potential economic profits of using this renewable by-product as a substitute for more expensive raw materials, further research in this area is required.

The objectives of the present work were: (1) to evaluate the effect of crude glycerine on back-fat thickness and the proximate composition of pork and (2) to examine the effect on pork quality (pH, water losses, textural profile, colour, fatty acid profile and sensorial attributes) of using growing-finishing feeds with different percentages of crude glycerine added.

## Material and methods

### Animals and diets

All procedures involving animals were approved by the Ethics Committee of the University of Murcia, according to EU Directive 86/609 (OJEU, 1986) as mo-

dified by Directive 2003/65 (OJEU, 2003), which regulates the welfare of animals used in research and for scientific purposes. Sixty castrated crossbreed males (Large White  $\times$  Landrace) were blocked by initial body weight (BW) ( $30.7 \pm 0.02$  kg;  $80 \pm 3.5$  days of age) and assigned to 12 pen (5 pigs per pen, 1.5 m<sup>2</sup> space per pig) to evaluate the crude glycerine inclusion (Abengoa Bioenergía San Roque Cádiz, Spain) in the pig's diet on fat and loin thickness (LT), proximal composition, pH, water holding capacity (WHC), cooking losses (CL), texture, colour and sensory quality. All piglets were castrated before weaning.

The trial lasted 82 days and was conducted from October to December. Three experimental treatments were established according to the crude glycerine concentrations administered in the growing and finishing feed: C, control diet (no crude glycerine), G2.5 and G5 with 2.5% and 5% of crude glycerine, respectively. Twenty animals per treatment were used (four pen per treatment). The maximum crude glycerine levels included (5%) were established considering the manufacture feed technology capacity. The crude glycerine partially replaced corn in the diets which were formulated to be isoenergetic. The digestible lysine and the metabolizable energy (ME) ratio was similar in all the diets, for each phase. The amino acid diets were formulated according to ideal protein concept according to the recommendations of FEDNA (2006). The composition of the diet and the crude glycerine is summarized in Table 1.

Grower diet was fed from 30.7 to 64.2 kg BW (80 to 125 days of age) and finisher diet from 64.2 to 97.3 kg BW (125 to 162 days of age). Feeds and water were provided *ad libitum*.

The day before slaughter, the back-fat thickness (BFT) was measured by ultrasound (Prosound 2) using a 172 mm linear probe applied between the 10<sup>th</sup> and 11<sup>th</sup> ribs; the image site was determined by palpation. In order to establish a correct contact between animal hide and transducer, the area was thoroughly clipped and oiled. The following measurements were made: BFT and LT.

Two batches of 30 animals (10 per treatment each one) were randomly selected to be slaughtered in two consecutive days. The transport from the farm to the slaughter-house was approximately half an hour (20 km located in Lorca, Murcia, Spain). Pigs were slaughtered according to Directive 1009/2009 (OJEU, 2009). The carcasses were chilled at 4°C for 24 h, and then *longissimus dorsi* muscle was obtained.

**Table 1.** Composition of the diets used in the experiment

Feed	Grower diet <sup>a</sup>			Finisher diet <sup>b</sup>		
	Crude glycerine, %			Crude glycerine, %		
	0	2.5	5	0	2.5	5
<i>Ingredients (g/100 g as feed)</i>						
Barley	30.8	30.8	30.5	38.5	38.1	37.4
Wheat	30.0	30.0	30.0	25.0	25.0	25.0
Soybean meal, 47% CP <sup>c</sup>	17.0	17.4	18.1	15.0	15.5	16.1
Corn	15.0	12.5	10.0	15.0	12.5	10.0
Lard	3.70	3.59	3.51	3.02	3.05	3.10
Crude glycerine <sup>d</sup>	—	2.50	5.00	—	2.50	5.00
Calcium carbonate	1.16	1.15	1.15	1.31	1.55	1.54
Monocalcium phosphate	0.46	0.46	0.46	0.49	0.49	0.49
Sodium bicarbonate	0.39	0.20	—	0.38	0.18	—
Sodium chloride	0.30	0.20	0.15	0.40	0.20	0.40
VTM premix <sup>e</sup>	1.10	1.10	0.11	0.90	0.90	0.90
<i>Calculated composition (g/100 g as feed)<sup>f</sup></i>						
ME <sup>g</sup> , MJ kg <sup>-1</sup>	13.5	13.5	13.5	13.5	13.5	13.5
Dry matter	88.6	88.7	88.8	89.0	89.1	89.2
Ash	4.68	4.63	4.62	4.92	5.01	5.24
Ether extract	5.75	5.56	5.39	5.00	5.00	5.00
Neutral detergent fiber	11.7	11.5	11.3	12.0	11.8	11.5
Linoleic acid	1.24	1.18	1.13	1.14	1.10	1.06
Ileal digestible Lys, g kg <sup>-1</sup>	0.95	0.95	0.95	0.79	0.79	0.79

<sup>a</sup> Grower diet: 80-125 d. <sup>b</sup> Finisher diet: 125-162 d. <sup>c</sup> CP: crude protein. <sup>d</sup> Chemical composition: total glycerol, 86.66%; methanol, 0.0038%; moisture, 7.50%; ash, 5.88%; chloride, 3.06%; calcium, 0.0040%; sodium, 2.005%; potassium, 0.0526%. <sup>e</sup> VTM: vitamin and trace mineral; Provided (per kg of complete diet): 6.0 and 4.9 g of L-lysine 50, 0.9 and 0.2 g of L-threonine and 0.7 and 0.3 g of DL-methionine for growing and finishing feed, respectively; 8,000 IU of vitamin A; 1,100 IU of vitamin D<sub>3</sub>; 20 IU of vitamin E; 1 mg of vitamin K<sub>3</sub>; 1 mg of vitamin B<sub>1</sub>; 3 mg of vitamin B<sub>2</sub>; 1 mg of vitamin B<sub>6</sub>; 0.015 mg of vitamin B<sub>12</sub>; 17 mg of niacin; 10 mg of pantothenic acid; 0.08 mg of biotin; 0.02 mg of folic acid; 50 mg of choline; 50 mg of Mn; 0.5 mg of I; 90 mg of Zn; 10 mg of Cu; 90 mg of Fe; and 0.3 mg of Se; 10 IU of endo-1,4-beta-xylanase (CE 3.2.1.8) from *Bacillus subtilis* (LMG s-15136). <sup>f</sup> According to FEDNA (2003). <sup>g</sup> ME: metabolizable energy.

### Back-fat thickness

At 24 h post-mortem, the BFT was measured in the carcasses in three points using a millimetre ruler: BFT<sub>1</sub> (measured in the back, at the first rib), BFT<sub>2</sub> (measured between the 9<sup>th</sup> and 10<sup>th</sup> ribs) and BFT<sub>3</sub> (measured in the thinnest layer of the *gluteus medius* muscle).

### Sampling and physico-chemical analyses

Instrumental meat quality was assessed in the *longissimus dorsi* muscle. Each loin was then cut into different pieces to evaluate the following meat quality parameters:

— Proximate composition (moisture, total protein, intramuscular fat content) was assessed by AOAC (1990) procedures.

— The pH was measured using a portable Crison GLP21 equipment with a penetrating electrode (ISO 2917:1999). It was calibrated using two different potassium chloride standard (pH 4 and 7). The meat pH measurements were taken at 45 minutes (pH 45) and 24 hours (pH 24) post-mortem.

— Water-holding capacity (WHC) was expressed in percentage (Grau & Hamm, 1953). To determine CL, each sample (fillet 50 g weight, 20 mm thickness) was placed in polyethylene bag and cooked in a water bath at 75°C for 15 min until an internal temperature of 72°C. The differences in the weight of raw and cooked samples were used to calculate percentage of cooking losses (Honikel, 1998). These cooked meat samples were cut into 20 × 20 mm cubes, using a stainless steel cutter. A texture profile analysis (TPA) was made using a QTS-25 texture analyzer (Brookfield

CNS Farnell, Borehamwood, Hertfordshire, England) equipped with a load cell of 25 kg and Texture Pro V. 2.1 software. Two consecutive cycles of 50% compression, with the cross-head moved at a constant speed of 30 mm min<sup>-1</sup> were carried out. Texture variables, hardness (expressed as N), cohesiveness (no units), springiness (expressed as mm), gumminess (expressed as N) and chewiness (expressed as N-mm) were calculated as described by Bourne (2002). Six measurements per sample were made.

— Colour measurements ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  coordinates) were made using a Minolta CR400 colorimeter calibrated against a standard white tile. Measurements were taken on the surface of the *longissimus dorsi* (8-mm-diameter aperture, d/0 illumination system, D65 illuminant and a 2° standard observer). Chroma and hue value were calculated as  $C^* = (a^2 + b^2)^{1/2}$  and  $H = (\arctg b^*/a^*) * 57.32$ .

— Fatty acid profile in intramuscular fat was analyzed according to Granados (2001). Methylated samples were injected in an Agilent 6890N Network GC System equipped with a flame ionisation detector and a phenyl-methyl-xyloxane capillary column (HP5), 30 m long and with an interior diameter of 0.32 mm and 0.25 m film thickness. The detector and injector were maintained at a temperature of 300°C and 280°C, respectively. Helium was used as carrier gas, at a flow of 3.2 mL min<sup>-1</sup> and a division ratio of 1:50. The methyl esters of fatty acids were quantified using undecanoic acid methyl ester as an internal standard.

All these analyses mentioned above (pH, proximate composition, WHC, colour coordinates and CL) were evaluated by duplicate at 24 h post-mortem. For the rest of the meat quality parameters (protein content, TPA, fatty acid profile and sensory analysis) the samples were frozen at -18°C until further analysis.

### Sensorial evaluation

For the sensory analysis the pork loins were thawed in a conventional chiller at 4°C overnight. For cooking, the samples were placed between two heating plates covered with aluminium foil (Silanos, Liscia Average, Lavastoviglie Industriali, Italy) at 150°C for 6 min to reach an internal temperature of 72°C, as measured by a portable T200 thermometer (Digitron Instrumentation Ltd., Merd Lane, Hertford, UK). Rectangular pieces of approximately 15 × 20 mm from the loin centre

were obtained and covered instantly with aluminium foil. Samples were kept at 60°C in sand baths (Braun, Espluges de Llobregat, Barcelona, Spain) until they were presented to the panellists in a balanced order (Macfie *et al.*, 1989). The panel was formed of eight assessors chosen from the staff of the University of Murcia with ages ranging between 24 and 45 years; five women and three men; all experienced in the profile assessment of different meat products and trained according to ISO 8586-2 (2008). Seven training sessions were carried out: in the first three, descriptors of raw/cooked pork loins were studied and the following four sessions were concerned with identifying, selecting and quantifying attributes to evaluate the meat. In both the training and assessment sessions, the samples were coded with random three digit numbers. Mineral water was provided for rinsing between samples. Sensorial analysis was carried out according to ISO 4121 (2003) using an unstructured scale of 10 cm. The descriptors used were: aroma intensity (AI), off-odour (OO), flavour intensity (FI), persistence (PER), meat colour (MC), juiciness (JUI), tenderness (TEN), chewiness (CHE) and fibrousnesses (FIB).

The standard National Pork Producer Council (NPPC, 1991) scale was used to determine the marbling (1 minimal infiltration, up to 6, maximal infiltration).

### Statistical analysis

Data were analyzed with the statistical package SPSS 15.0 (Statistical Package for the Social Science). Animal was used as experimental unit. The effect of the different dietary treatments on meat quality was analysed using an analysis of variance (ANOVA). When the differences among groups were significant ( $p < 0.05$ ), Tukey's test at a significance level of  $p < 0.05$  was carried out to evaluate the differences between the treatments. Pearson correlation coefficients were evaluated for the back-fat and LT.

## Results

### Back-fat and loin thickness

Table 2 shows that back-fat and LT measurements by ultrasound and with a millimeter ruler (BTF1, BF2

**Table 2.** Back-fat thickness (mean in mm) measured with millimetre ruler (BFT<sub>1</sub>, BFT<sub>2</sub> and BFT<sub>3</sub>) and ultrasound (BFT and LT) in pigs fed with 0, 2.5 or 5% of crude glycerine

Item <sup>a</sup>	Treatment <sup>b</sup>			SE <sup>c</sup>	Significance <sup>d</sup>
	Control	G2.5	G5		
<i>n</i>	20	20	20		
BFT <sub>1</sub>	39.6	43.9	40.5	0.06	ns
BFT <sub>2</sub>	26.4	26.8	26.2	0.05	ns
BFT <sub>3</sub>	23.1	26.3	25.8	0.08	ns
BFT	18.2	19.2	19.0	0.57	ns
LT	41.6	39.7	41.9	0.84	ns

<sup>a</sup> Back-fat thickness: 1 (BFT<sub>1</sub>), measured at the first rib with the millimetre ruler; 2 (BFT<sub>2</sub>), measured between the 9<sup>th</sup> and 10<sup>th</sup> ribs with the millimetre ruler; 3 (BFT<sub>3</sub>), measured in the *Gluteus medius* muscle, at the lowest fat thickness area with the millimetre ruler; BFT, measured from the first hyperecogenic layer (skin) to the hyperecogenic layer above muscle (hypoeecogenic); Loin thickness (LT), measured from where the back-fat terminates to the bottom of the muscle (end of the hypoeecogenic layer). <sup>b</sup> Control, G2.5, G5: pigs fed with 0%, 2.5%, 5% crude glycerine in diet, respectively. <sup>c</sup> SE: standard error of the mean. <sup>d</sup> ns: non-significant ( $p > 0.05$ ).

and BTF 3). No differences were found in any of the three groups studied (C, G2.5, G5) for measurements performed both before (with ultrasound equipment) and after slaughter (millimetre ruler). Significant Pearson correlation between BFT with BFT<sub>2</sub> and BFT<sub>3</sub> were found ( $R^2 = 0.487$  and  $0.581$ ;  $p < 0.05$ ).

## Meat quality

*Proximate composition, pH and water content.* Table 3 shows meat proximate composition, pH, WHC and CL from pigs fed different crude glycerine levels. These parameters did not vary by effect of crude glycerine inclusion in diets ( $p > 0.05$ ).

*Texture (textural profile analysis), colour coordinates ( $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$ ) and marbling.* Meat texture results are shown in Table 4. The inclusion of crude glycerine in the feed did not have any effect ( $p > 0.05$ ) on the meat texture parameters. Table 4 also shows the results of the objective instrumental evaluation of colour ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  and  $H^*$  and  $C^*$ ). The coordinate means values were 49.85, 10.3 and  $-1.8$  for  $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$  respectively, with no treatment effects ( $p > 0.05$ ).

*Fatty acid profile.* Table 5 shows the fatty acid profile of intramuscular fat obtained from the *longissimus dorsi* muscle. No significant differences were observed in the pork fatty acid composition when crude glycerine was added in growing and finishing feeds.

**Table 3.** Proximate composition (%) (mean), pH (at 45 minutes and 24 hours post-mortem), water holding capacity (WHC, % free water) and cooking losses (CL, %) in *longissimus dorsi* from pigs fed with 0, 2.5 or 5% of crude glycerine

Item	Treatment <sup>a</sup>			SE <sup>b</sup>	Significance <sup>c</sup>
	Control	G2.5	G5		
Fat	3.45	4.30	3.80	0.246	ns
Moisture	73.24	72.26	72.65	0.492	ns
Protein	23.00	22.86	22.74	0.882	ns
Ash	1.45	1.46	1.40	0.130	ns
pH 45	6.09	6.11	6.17	0.042	ns
pH 24	5.35	5.31	5.39	0.020	ns
WHC <sup>d</sup>	71.46	73.70	72.45	0.508	ns
Cooking loss	26.49	27.12	25.86	0.442	ns

<sup>a</sup> Control, G2.5, G5: pigs fed with 0%, 2.5%, 5% crude glycerine in diet, respectively. <sup>b</sup> SE: standard error of the mean. <sup>c</sup> ns: non-significant ( $p > 0.05$ ). <sup>d</sup> WHC: water holding capacity.

**Table 4.** Texture profile analysis, colour coordinates ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $H^*$ ,  $C^*$ ) and marbling in *longissimus dorsi* from pigs fed with 0, 2.5 or 5% of crude glycerine

Item	Treatment <sup>a</sup>			SE <sup>b</sup>	Significance <sup>c</sup>
	Control	G2.5	G5		
<i>Texture</i>					
Gumminess	23.51	23.58	22.49	1.257	ns
Adhesiveness	-0.20	-0.27	-0.17	0.014	ns
Cohesiveness	0.55	0.54	0.56	0.005	ns
Chewiness	99.44	90.38	80.55	4.942	ns
Springiness	4.20	3.95	3.55	0.066	ns
Hardness	41.72	43.30	40.12	1.788	ns
<i>Colour</i>					
$L^*$	50.25	50.20	49.11	0.570	ns
$a^*$	10.51	9.97	10.38	0.166	ns
$b^*$	-1.73	-1.73	-2.01	0.120	ns
$H^*$	-9.78	-10.32	-11.30	0.717	ns
$C^*$	10.17	10.16	10.61	0.154	ns
Marbling <sup>d</sup>	1.22	1.28	1.16	0.053	ns

<sup>a</sup> Control, G2.5, G5: pigs fed with 0%, 2.5%, 5% crude glycerine in diet, respectively. <sup>b</sup> SE: standard error of the mean. <sup>c</sup> ns, non-significant ( $p > 0.05$ ). <sup>d</sup> Standard National Pork Producer Council (1991).

*Sensory analysis.* Fig. 1 shows the sensory attributes of meat from pigs fed different crude glycerine levels. There were no differences among treatments groups for AI, OO, FI, PER, MC, JUI, TEN, CHE and FIB.

## Discussion

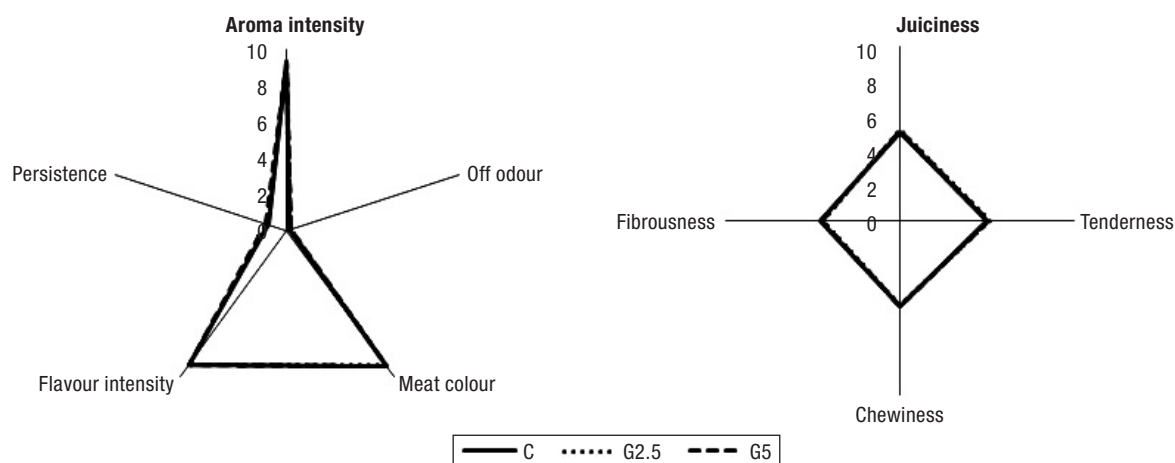
### Back-fat and loin thickness

In this work, crude glycerine had no effect on BFT, as confirm Lammers *et al.* (2008b), Hansen *et al.* (2009),

**Table 5.** Fatty acid composition (g/100 g) (mean) of intramuscular fat from pigs fed with 0, 2.5 or 5% of crude glycerine

Fatty acid <sup>a</sup>	Treatment <sup>b</sup>			SE <sup>c</sup>	Significance <sup>d</sup>
	Control	G2.5	G5		
10:0	0.09	0.09	0.10	0.003	ns
12:0	1.38	1.14	1.36	0.095	ns
14:0	1.30	1.41	1.34	0.023	ns
16:0	24.56	24.75	24.59	0.326	ns
16:1	2.08	2.16	2.26	0.052	ns
18:0	11.84	10.88	11.56	0.166	ns
18:1	40.45	41.06	41.16	0.338	ns
18:2	17.08	17.51	17.28	0.263	ns
18:3	0.16	0.08	0.10	0.027	ns
20:0	0.70	0.72	0.66	0.012	ns
SFA	38.78	36.13	39.43	0.631	ns
TUFA	61.22	63.87	60.58	0.631	ns
MUFA	43.98	46.28	43.19	0.736	ns
PUFA	17.24	17.59	17.38	0.263	ns

<sup>a</sup> SFA: saturated fatty acid; TUFA: total unsaturated fatty acid. MUFA: monounsaturated fatty acid; PUFA: polyunsaturated fatty acid. <sup>b</sup> Control, G2.5, G5: pigs fed with 0%, 2.5%, and 5% crude glycerine in diet, respectively. <sup>c</sup> SE: standard error of the mean. <sup>d</sup> ns, non-significant ( $p > 0.05$ ).



**Figure 1.** Sensory analysis (aroma intensity, off odour, flavour intensity, persistence, meat colour) and texture profile (juiciness, tenderness, chewiness and fibrousness) in *longissimus dorsi* from pigs fed with 0% (C, control), 2.5% (G2.5) or 5% (G5) of crude glycerine.

and Schieck *et al.* (2010), that found no significant differences in the meat from pigs fed with less than 15% crude glycerine added. In contrast, some authors like Hanczakowska *et al.* (2010) reported a decrease in adipose fat in animals (110 kg slaughter BW) fed with 10% crude glycerine (19.2 mm) compared with control pigs (21.6 mm) and those fed with 10% refined crude glycerine (20.9 mm). It seems that more than 15% crude glycerine in the diet leads to a linear increase of fat depth at point BFT<sub>2</sub> (tenth costal vertebra) and a lower percentage of fat free lean (Stevens *et al.*, 2008).

Significant Pearson correlation between BFT with BFT<sub>2</sub> and BFT<sub>3</sub> may be suitable the validity of using real-time ultrasound in animals before slaughter to develop equations to predict the thickness of back-fat in the carcasses pigs as reported Velázquez (2000) for pigs body weighing between 80 and 120 kg.

## Meat quality

### *Proximate composition, pH and water content*

The mean values obtained were 3.8% fat, 72.7% moisture, 22.8% crude protein and 1.4% ash, which are similar to those reported by Della Casa *et al.* (2009) in Italian Duroc and Italian Large White cross heavy pigs fed with different crude glycerine percentages. Teixeira & Rodrigues (2013) found similar levels of fat in Large White and Landrace cross pigs, with a slaughter weight between 80 and 100 kg.

Crude glycerine did not affect pH of meat, which agrees with other researches (Della Casa *et al.*, 2009;

Hansen *et al.*, 2009; Berenchein *et al.*, 2010; Mendoza *et al.*, 2010; Schieck *et al.*, 2010). In contrast, Lammers *et al.* (2008b) observed a slight trend for the loins of Cambrough 22 and L337 cross pigs fed 5% and 10% crude glycerine to have a higher final pH than the loins from control animals.

Similar results were found for WHC and CL in previous studies (Kijora & Kupsch, 1996; Lammers *et al.*, 2008b; Hansen *et al.*, 2009; Berenchein *et al.*, 2010; Mendoza *et al.*, 2010; Schieck *et al.*, 2010). However, Mouro *et al.* (1993) emphasized a reduction in water losses and CL in Large White animals fed 5% crude glycerine from 30 to 100 kg of live weight. This was attributed to its action on cell osmotic pressure, what would increase the water content, and then, the WHC. The muscle fibers would be hyperhydrated, due to the increased water content of cells subjected to a lower degree of protein denaturation, especially during heat treatment. Similar results were described by Aihart *et al.* (2002), who found a trend towards a reduction in these parameters in meat from pigs fed glycerol. In addition, in a study with pigs fed 10% crude or refined glycerine, Hanczakowska *et al.* (2010) also found a higher WHC. The data regarding water losses in the literature vary substantially and Schieck *et al.* (2010) identified the NaCl content of feed as the main factor causing differences between groups. Sodium is often added as a catalyst in biodiesel production, which turns into NaCl after purification. The amount of NaCl in crude glycerine depends on the refining technique used, and should be taken into account when formulating diets (Kerr *et al.*, 2007). An increased intake of NaCl would result in a higher salt content in the mus-

cle, which would result an increased WHC of meat due to myofibril edema. In our experiment, the Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> content of the crude glycerine used in feed was considered and similar electrolytic balance was formulated in feed for each phase.

#### *Texture (Textural Profile Analysis), colour coordinates (L\*, a\* and b\*) and marbling*

Glycerine addition seems no affect meat texture. Similar results were found by other authors as Duttlinger *et al.* (2008), Della Casa *et al.* (2009), Hansen *et al.* (2009) and Berenchtain *et al.* (2010) who evaluated the meat texture with a Warner-Bratzler cell (WB). Although different methodology was used (WB vs. TPA), Caine *et al.* (2003) found a positive correlation between the maximum force parameter obtained by the WB method and hardness (maximum force obtained during the first compression cycle) resulting from a TPA analysis. Others, including Gipe (2008), noted a tendency to greater hardness in the meat from pigs fed 2.5% crude glycerine than meat from a control group and a group fed 5% crude glycerine, which was attributed to the more apparent connective tissue in the meat samples. In the present study the absence of significant differences in texture parameters between the 2.5% and 5% crude glycerine groups suggests that about 5% crude glycerine could be included in pig diet without affecting meat tenderness.

There were no differences between treatments for the CIELab coordinates nor for the C\* and H\*, which agrees with the results obtained by other authors (Della Casa *et al.*, 2009; Hanczakowska *et al.*, 2010; Schieck *et al.*, 2010). These values could be affected by numerous intrinsic and extrinsic factors that affect meat colour (Sañudo *et al.*, 1998). Marbling, based on a subjective standard scale (NPPC, 1991), showed no significant differences between the different groups, as reported by Gipe (2008), Mendoza *et al.* (2010) and Schieck *et al.* (2010), in meat of pig fed glycerine.

#### *Fatty acid profile*

The fatty acid profile of intramuscular fat obtained from the *longissimus dorsi* muscle was not affected when crude glycerine was added in growing and finishing feeds. These results agree with the reports of other authors in pigs fed glycerine (Cerneau *et al.*, 1994;

Mourot *et al.*, 1994; Kijora *et al.*, 1997; Lammers *et al.*, 2008c; Della Casa *et al.*, 2009).

Other authors have found effects of glycerine in feeds on fatty acid profile. Thus, linoleic acid (18:2) remained unchanged by the effect of crude glycerine addition, in contrast to the findings of Mourot *et al.* (1993), Cerneau *et al.* (1994), Kijora *et al.* (1997), Lammers *et al.* (2008b) and Della Casa *et al.* (2009), who found this fatty acid to be reduced in pigs fed crude glycerine. Mourot *et al.* (1993) suggested that this change in the fatty acid profile could be related to a lower consumption of corn in the pig diet, which is rich in linoleic acid (FEDNA, 2003). In our study, the linoleic acid content in diet was also reduced by glycerol incorporation but differences between dietary treatments were very low (Table 1). The fact that linoleic acid is the most variable fatty acid as regards its concentration in meat is perhaps due to its being an essential fatty acid that cannot be synthesized *de novo* by animals, so that it must be taken from the diet (Granados, 2001). In addition, since fat composition closely depends on the fatty acid profile of the diet, the feed ingredients added will determine the fat quality, glycerol is an important structural component of triglycerides and phospholipids that can act as an intermediate in the lipogenesis pathway and yield energy through the citric acid cycle (Duttlinger *et al.*, 2012). On the other hand, crude glycerine could also been source of fatty acid *per se*, as previous studies found that crude glycerine could contain 56% of fatty acids, mainly unsaturated (Chiloane *et al.*, 2013). So the meat fatty acid profile could be influenced by a remainder of fatty acid in crude glycerine. In the present study, the crude glycerine fat content was negligible.

#### *Sensory analysis*

Crude glycerine included in feed had no effect on the sensory quality of pork. These results agree with those observed by Lammers *et al.* (2008a) and Schieck *et al.* (2010). In addition, Hanczakowska *et al.* (2010) found no significant differences in tenderness or juiciness, but a significant decrease in odour and taste-related parameters in pigs fed crude crude glycerine, that were attributed to the effect of certain substances present in the crude preparation rather than glycerol *per se*.

In conclusion, the crude glycerine from the elaboration of biodiesel can be used at up to 5% in growing-



finishing feed for pigs to replace corn without affecting pork meat quality, including the sensory characteristics of cooked pork.

## Acknowledgements

The authors thank the Centre for Industrial Technological Development (CDTI, project No. 11614) and the Company SAT ALIA N° 2436 (Lorca, Spain) for their financial support and technical assistance, respectively.

## References

- Airhart JC, Bidner TD, Southern LL, 2002. Effect of oral glycerol administration with and without betaine on carcass composition and meat quality of late-finishing barrows. *J Anim Sci* 80: 71 [Abstr].
- Alexandre L, Aragao-Leoneti V, Borges SVW, 2012. Glycerol as a byproduct of biodiesel production in Brazil: alternatives for the use of unrefined glycerol. *Renew Energy* 45: 138-145.
- AOAC, 1990. Official methods of analysis, 15<sup>th</sup> ed. Association of Official Agricultural Chemists. Washington DC, USA.
- Berenchtein B, Batista Costa L, Barbosa Braz D, Vezzoni de Almeida V, Panhoza Tse ML, Shiguera Miyada V, 2010. Utilização de glicerol na dieta de suínos em crescimento e terminação. *Rev Bras Zootecn* 39(7): 1491-1496.
- Bourne M, 2002. Food texture and viscosity. Concept and measurement. Academic Press, London. 427 pp.
- Caine WR, Aalhus JL, Best DR, Dugan MER, Jeremiah LE, 2003. Relationship of texture profile analysis and Warner-Bratzler shear force with sensory characteristics of beef rib steaks. *Meat Sci* 64: 333-339.
- Cerneau P, Mouro J, Peyronnet C, 1994. Effect du glycérol alimentaire sur la qualité de la viande de porc et le rendement technologique du jambon cuit. *Journées de la Recherche Porcine en France* 26: 193-198. [In French, English abstract].
- Chiloane EK, Kanengoni AT, Siebrits FK, 2013. Effect of crude glycerol from South African biodiesel production on growth, carcass characteristics and pork quality of pigs. *South Afr J Anim Sci* 43(2): 159-166.
- Della Casa G, Bochicchio D, Faeti V, Marchetto G, Poletti E, Garavaldi A, Panciroli A, Brogna N, 2009. Use of pure glycerol in fattening heavy pigs. *Meat Sci* 81: 238-244.
- Duttlinger AJ, DeRouchey, MD, Tokach MD, Dritz SS, Goodband RD, Nelssen JL, Houser TA, Sulabo RC, 2012. Effects of increasing crude glycerol and dried distillers grains with soluble on growth performance, carcass characteristics and carcass fat quality of finishing pigs. *J Anim Sci* 90: 840-852.
- Duttlinger W, Tokach MD, Dritz SS, Derouchey JM, Nelssen JL, Goodband RD, Prusa KJ, 2008. Effects of increasing dietary glycerol and dried distillers grains with solubles on growth performance of finishing pigs. *J Anim Sci* 86(2): 607. [Abstr].
- FEDNA, 2003. Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos, 2<sup>nd</sup> ed. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, Madrid, Spain.
- FEDNA, 2006. Necesidades nutricionales para ganado porcino: Normas FEDNA. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, Madrid, Spain.
- Gipe A, 2008. Effects of dried distillers grains with soluble on pork loin quality and sow fat quality. Thesis, Kansas State University. 72 pp.
- Granados MV, 2001. Influencia del genotipo y la dieta sobre calidad de la canal y de la carne porcina. Efecto del  $\alpha$ -tocoferol acetato sobre la estabilidad de la oxidación de la carne. Thesis. Universidad de Murcia, Murcia. 248 pp.
- Grau R, Hamm R, 1953. Eine einfache Methode zur Bestimmung der Wasserbindung im Mukel. *Natuwissenschaften* 40: 29-30.
- Hanczakowska E, W'glarz K, Szymczyky B, Hanczakowski P, 2010. Effect of adding crude or refined glycerol to pig diets on fattening performance, nutrient digestibility and carcass evaluation. *Anim Sci* 10(1): 67-73.
- Hansen CF, Hernández A, Mullan BP, Moore K, Trezona-Murray M, King RH, Pluske JR, 2009. A chemical analysis of samples of crude glycerol from the production of biodiesel in Australia, and the effects of feeding crude glycerol to growing-finishing pigs on performance, plasma metabolites and meat quality at slaughter. *Anim Prod Sci* 49: 154-161.
- Honikel KO, 1998. Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. *Meat Sci* 49: 447-457.
- ISO, 1999. Meat and meat products. Determination for pH. International Organization for Standardization 2917.
- ISO, 2003. Sensory analysis. Guidelines for the use of quantitative response scales. International Organization for Standardization 4121.
- ISO, 2008. Sensory analysis. General guidance for the selection, training and monitoring of assessors, Part 2. Expert sensory assessors. International Organization for Standardization 8586-2.
- Kerr BJ, Dozier WA, Bregendahl K, 2007. Nutritional value of crude glycerin for nonruminants. Proc 23<sup>rd</sup> Annual Carolina Swine Nutrition Conference, November 13, Raleigh, NC, USA. pp: 6-18.
- Kijora C, Kupsch RD, BergnerH, Wenk C, Prabucki AL, 1997. Comparative investigations on the utilization of glycerol, free fatty acids, free fatty acids in combination with glycerol and vegetable oil in fattening pigs. *J Anim Physiol Anim Nutr* 77: 127-138.
- Kijora C, Kupsch RD. 1996. Evaluation of technical glycerols from "biodiesel" production as a feed component in fattening pigs. *Lipid/Fett* 98: 240-245.

- Kovacs P, Zsedely E, Kovacs A, Virag G, Schmidt J, 2011. Apparent digestible and metabolizable energy content of glycerol in feed of growing pigs. *Livest Sci* 142: 229-234.
- Lammers PJ, Kerr BJ, Honeyman MS, Stalder K, Dozier WA, Weber TE, Kidd MT, Bregendahl K, 2008c. Nitrogen-corrected apparent metabolizable energy value of crude glycerol for laying hens. *Poultry Sci* 87: 104-107.
- Lammers PJ, Kerr BJ, Weber TE, Bregendahl K, Lonergan SM, Prusa KJ, Ahn DU, Stoffregen WC, Dozier WA, Honeyman, MS, 2008b. Growth performance, carcass characteristics, meat quality, and tissue histology of growing pigs fed crude glycerin-supplemented diets. *J Anim Sci* 86: 2962-2970.
- Lammers PJ, Kerr BJ, Weber TE, Dozier WA, Kidd MT, Bregendahl K, Honeyman MS, 2008a. Digestible and metabolizable energy of crude glycerol for growing pigs. *J Anim Sci* 86(3): 602-608.
- Macfie HJ, Bratchell N, Greenhoff K, Vallis LV, 1989. Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in hall tests. *J Sens Stud* 4: 129-148.
- Mendoza OF, Ellis M, McKeith FK, Gaines AM, 2010. Metabolizable energy content of refined glycerin and its effects on growth performance and carcass and pork quality characteristics of finishing pigs. *J Anim Sci* 88: 3887-3895.
- Mourot J, Aumaitre A, Mounier A, Peiniau PA, Fracois A, Peyronnet C, Jamet JP, 1993. Effect of glycerol in the diet on growth performances and on meat quality in The Large White Pig. *Journées de la Recherche Porcine en France* 25: 29-36.
- Mourot J, Aumaitre A, Mounier A, Peiniau P, François AC, 1994. Nutritional and physiological effects of dietary glycerol in the growing pig. Consequences on fatty tissues and post mortem muscular parameters. *Livest Prod Sci* 38: 237-244.
- Nitayavardhana S, Khanal SK, 2011. Biodiesel-derived crude glycerol bioconversion to animal feed: a sustainable option for a biodiesel refinery. *Bioresour Technol* 102: 5808-5814.
- NPPC, 1991. Procedures to evaluate market hogs, 3<sup>rd</sup> ed. National Pork Producer Council. Des Moines, IA, USA.
- OECD-FAO, 2012. OECD-FAO agricultural outlook 2010-2019. Coed. Organisation for Economic Co-operation and Development and Food and Agriculture Organization. Available in <http://www.agri-outlook.org/dataoecd/13/13/45438527.pdf>.
- OJEU, 1986. Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes. *Official Journal of the European Communities L* 358: 1-29.
- OJEU, 2003. Directive 2003/65/EC of the European Parliament and of the Council of 22 July 2003 amending Council Directive 86/609/EEC on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes. *Official Journal of the European Communities L* 230: 32-33.
- OJEU, 2009. Council Directive 1009/2009/EC, on the protection of animals at the time of slaughter or killing. *Official Journal of the European Communities L* 303: 1-30.
- Parker AJ, Dobson GP, Fitzpatrick LA, 2007. Physiological and metabolic effects of prophylactic treatment with the osmolytes glycerol and betaine on *Bos indicus* steers during long duration transportation. *J Anim Sci* 85: 2916-2923.
- Quispe CsAG, Coronado CJR, Carvalho J, 2013. Glycerol: production, consumption, prices, characterization and new trends in combustion. *Renew Sust Energy Rev* 27: 475-493.
- Sañudo C, Sánchez A, Alfonso M, 1998. Small ruminant production systems and factors affecting lamb meat quality. *Meat Sci* 49(1): 29-64.
- Schieck GC, Shurson BJ, Kerr BJ, Johnston LJ, 2010. Evaluation of glycerol, a biodiesel co-product, in grow-finish pig diets to support growth and pork quality. *J Anim Sci* 88: 3927-3935.
- Stevens JA, Schinckel M, Latour D, Kelly D, Sholly B, Legan B, Richert B, 2008. Effects of feeding increasing levels of glycerol with or without distillers dried grains with solubles in the diet on grow-finish pig growth performance and carcass quality. *J Anim Sci* 86: 606. [Abstr].
- Teixeira A, Rodrigues, 2013. Pork meat quality of Preto Alentejano and Commercial Largewhite landrace cross. *J Integrat Agr* 12: 1961-1971.
- Tible SJ, Cook DR, Balfagon A, Van Kempen T, 2007. Novedades en la alimentación de lechones. XXIII Curso de Especialización FEDNA, Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, Madrid.
- USDA, 2012. EU Biofuels Annual 2012. United States Department of Agriculture. Available in [http://www.usda-france.fr/media/Biofuels%20Annual\\_The%20Hague\\_EU-27\\_6-25-2012.pdf](http://www.usda-france.fr/media/Biofuels%20Annual_The%20Hague_EU-27_6-25-2012.pdf).
- Velázquez PA, 2000. Predicción del contenido de cortes primarios en canales porcinas y en cerdos vivos. Available in [http://www.disa.bi.ehu.es/spanish/asignaturas/17223/Alimentacion\\_Corte\\_Carne.pdf](http://www.disa.bi.ehu.es/spanish/asignaturas/17223/Alimentacion_Corte_Carne.pdf).

Manuscript Number:

Title: FEEDING IBERIAN x DUROC CROSS PIGS WITH CRUDE GLYCERINE: EFFECTS OF DIET AND GENDER ON CARCASS AND MEAT QUALITY

Article Type: Research Article

Keywords: Crude glycerine, Iberian pig, Meat quality, Carcass, Ultrasound

Corresponding Author: Prof. Maria Dolores Garrido, PhD

Corresponding Author's Institution: University of Murcia

First Author: Macarena Egea

Order of Authors: Macarena Egea; María Belén Linares; Maria Dolores Garrido, PhD; Josefa Madrid; Fuensanta Hernández

Abstract: Ninety (45 barrows and 45 gilts) Iberian x Duroc pigs were used in this trial. During finishing period (95-160 kg body weight) animals received conventional feed (control G0) or the same feed plus 5 % (G5) or 10% (G10) of crude glycerine, respectively, in replacement for wheat. In general, neither the diet nor gender affected on ultrasound, carcass or meat quality parameters. Cooking losses were lower and a\* and C\* higher in G10 group. The fatty acids C10:0, C12:0 and C18:3 (intramuscular fat) were lower in both glycerine groups. There was a decrease in C18:2 and polyunsaturated fatty acids and an increase in C20:0 in subcutaneous fat of G10. Castrated males presented higher back fat thickness and fat content. Castrated males had a higher SFA content in subcutaneous fat than intact females. In conclusion, up to 10 % crude glycerine could be used in Iberian x Duroc diet.

Suggested Reviewers: Juan Florencio Tejada

University of Extremadura

jftejada@unex.es

Dr. Tejada has extensive experience in meat quality of Iberian Pig

Carmen García

Animal Production and Food Science, Universidad de Extremadura

cgarciag@unex.es

Dr. García González has extensive experience in the study of carcass, meat and meat products quality from Iberian pigs



UNIVERSIDAD DE  
**MURCIA**

Murcia 08 October 2014

Dear Editor:

I submit you the article titled FEEDING IBERIAN X DUROC CROSS PIGS WITH CRUDE GLYCERINE: EFFECTS OF DIET AND GENDER ON CARCASS AND MEAT QUALITY, to be considered for the publication in Meat Science. Authors: Egea, M. <sup>1</sup>; Linares, M. B. <sup>1</sup>; Garrido, M. D. <sup>1,\*</sup>; Madrid, J. <sup>2</sup>; Hernández., F. <sup>2</sup>

\*Corresponding author: mgarrido@um.es.

Telephone: +0034 868 88 36 94. Fax number: +0034 968 367167. Department of Food Science and Technology, Veterinary Faculty, University of Murcia, Campus Universitario Espinardo s/n. 30100 Espinardo Murcia SPAIN.

Thanks so much in advance,

Looking for your answer,

Yours sincerely

Dr. Garrido.

**Facultad de Veterinaria**  
**Departamento de Tecnología de los Alimentos**  
**Nutrición y Bromatología**

Campus Universitario de Espinardo. 30100 Murcia  
T. 868 88 87 67 – F. 868 88 71 67 – [www.um.es](http://www.um.es)

1 FEEDING IBERIAN x DUROC CROSS PIGS WITH CRUDE GLYCERINE:  
2 EFFECTS OF DIET AND GENDER ON CARCASS AND MEAT QUALITY

3 Authors: Egea, M. <sup>1</sup>; Linares, M. B. <sup>1</sup>; Garrido, M. D. <sup>1,\*</sup>; Madrid, J. <sup>2</sup>; Hernández, F. <sup>2</sup>

4 \*Corresponding author: mgarrido@um.es.

5 Telephone: +0034 868 88 36 94. Fax number: +0034 968 367167. Department of Food  
6 Science and Technology, Veterinary Faculty, University of Murcia, Campus  
7 Universitario Espinardo s/n. 30100 Espinardo Murcia SPAIN.

8

9 1Department of Food Science and Technology, Veterinary Faculty, University of  
10 Murcia, Espinardo, 30071, Murcia, Spain

11 2Department of Animal Production, Veterinary Faculty, University of Murcia,  
12 Espinardo, 30071, Murcia, Spain

13

14 **Abstract**

15 Ninety (45 barrows and 45 gilts) Iberian x Duroc pigs were used in this trial. During  
16 finishing period (95–160 kg body weight) animals received conventional feed (control  
17 G0) or the same feed plus 5 % (G5) or 10% (G10) of crude glycerine, respectively, in  
18 replacement for wheat. In general, neither the diet nor gender affected on ultrasound,  
19 carcass or meat quality parameters. Cooking losses were lower and *a\** and *C\** higher in  
20 G10 group. The fatty acids C10:0, C12:0 and C18:3 (intramuscular fat) were lower in  
21 both glycerine groups. There was a decrease in C18:2 and polyunsaturated fatty acids  
22 and an increase in C20:0 in subcutaneous fat of G10. Castrated males presented higher  
23 back fat thickness and fat content. Castrated males had a higher SFA content in  
24 subcutaneous fat than intact females. In conclusion, up to 10 % crude glycerine could be  
25 used in Iberian x Duroc diet.

26

27 **Keywords**

28 Crude glycerine, Iberian pig, Meat quality, Carcass, Ultrasound

29 **1. Introduction**

30 Biodiesel production entails the production of crude glycerine as co-product which in  
31 recent years has come to be regard as a new and cheap source of animal feed and  
32 explains why severed authors have looked at carcass and meat quality from animals fed  
33 this co-product (Kerr, Weber, Dozier, & Kidd, 2009, Lammers et al., 2008). The  
34 characteristics of the crude glycerine depends upon many factors, such as the feedstock,  
35 type of catalyst, transesterification efficiency, recovery efficiency of the biodiesel, other  
36 impurities in the feedstock, and whether the methanol and catalysts were recovered  
37 (Yang, Hanna, & Sun et al., 2012). This has led to great variability in the results  
38 obtained from different meat studies (Lammers *et al.*, 2008, Della Casa et al., 2009,  
39 Hanczakowska, Węglarz, Szymczyky, & Hanczakowski, 2010), most of which have  
40 focused on the use of crude glycerine to feed commercial crosses as Large White,  
41 Yorkshire or Landrace, with a slaughter weight bellow 110 kg (Cernau, Mourrot, &  
42 Peyronnet, 1994, Schiek, Shurson, Kerr, & Johnston, 2010, Berenchein *et al.*, 2010).  
43 However, few researches have faced to feeding traditional pigs breeds with glycerol  
44 when animals are usually heavier (Della Casa *et al.*, 2009). Given the numerous studies  
45 that have demonstrated the importance of *antemorten* factors, such as feeding, gender,  
46 slaughter weight and breed, on carcass and meat quality (Rosenvold & Andersen, 2003),  
47 it would be interesting to study the effect of crude glycerine on the Iberian x Duroc  
48 cross pig, an autochthonous pig breed from the Iberian Peninsula. This breed is  
49 characterized by high consumer acceptability due to the distinct organoleptic  
50 characteristics of meat and meat products derived (Cava, Ventanas, Tejada, Ruiz, &  
51 Antequera, 2000). Different studies have reached contradictory conclusions regarding  
52 the effect of glycerol on the fat and fatty acid profile (Cernau et al., 1994, Della Casa et  
53 al., 2009, Schiek, et al., 2010, Berenchein et al., 2010). The organoleptic characteristics

54 of Iberian pork and its derivatives, especially the flavour, are directly related to the  
55 intramuscular fatty acid composition (Muriel, Ruiz, Ventanas, Petró, & Antequera,  
56 2004).

57 The authors found no reference in the specialized literature concerning the effect on  
58 meat quality of including crude glycerine in Iberian pig diet, despite the potential saving  
59 that could be made in feeding these animals. So, the aims of this work were: (1) to study  
60 the influence of glycerol inclusion in the Iberian x Duroc crossbreed pig diet on carcass  
61 (*in vivo* and *pos-mortem*) and meat quality parameters, especially focused in fat quality,  
62 and (2) to evaluate the influence of gender and its interaction with crude glycerine diet.

63

## 64 **2. Material and methods**

### 65 *2.1. Animals and diet treatments*

66 The experimental procedures used in this study were in compliance with the Spanish  
67 guidelines for the caring and handling of research animals (RD 1469/2007).

68 A total of Iberian x Duroc 90 pigs (45 barrows and 45 gilts) from the Sánchez Morales  
69 Farm (Murcia, Spain) were investigated. The males were castrated following the  
70 Spanish regulation (RD 1221/2009) and all animals were reared under the same  
71 environmental and intensive production regime. From the growing period to the  
72 beginning of the experimental fattening time animals were managed according to  
73 standard commercial procedures and received the same standard grower diets (25–100  
74 kg body weight) containing 160 g of crude protein (CP) and 9.5 MJ net energy (NE) per  
75 kg feed, according to FEDNA (2006).

76 The live weight and age of the pigs at the beginning of the fattening period were  $95.9 \pm$   
77  $3.1$  kg and 6-7 months respectively, pigs were grouped by sex and randomly assigned to  
78 one of the three treatments (3 animals/pen, 5 pens/treatment and sex) corresponding to

79 control (G0 diet), 5 % of crude glycerine (G5 diet) and 10% of crude glycerine (G10  
80 diet). The crude glycerine was included as a replacement for wheat. The diets (Table 1)  
81 were formulated to contain 9.8 MJ NE and 130 g CP per kg, according to FEDNA  
82 (2006) and were administered ad libitum. The crude glycerine, obtained from biodiesel  
83 production and partially refined (86.6%), had the following chemical composition:  
84 0.003% methanol, 7.50% moisture, 5.88% ash, 0.004% calcium, 2.00% sodium, 0.052%  
85 potassium, 3.06% chloride (Abengoa Bioenergy, San Roque, Cádiz, Spain).

86 The experimental fattening period lasted 74 days. On day 73, the pigs were weighed and  
87 ultrasound measurements were made following the method proposed by Daza et al.  
88 (2006). Measurements were obtained before slaughter by means of a real time  
89 ultrasound (Aloka Prosound 2, Hitachi Aloka Medical, Tokyo, Japan) using a 172 mm  
90 3.5 Mhz linear array transducer applied between the 10<sup>th</sup> and 11<sup>th</sup> ribs. The image site  
91 was determined by palpation. In order to establish a correct contact between animal hide  
92 and transducer, the area was thoroughly clipped and oiled. The images were frozen and  
93 recorded and the real measurements were digitized and transferred to a portable  
94 conventional computer, to be analysed and the following measurements were made:

95 USBF1: Ultrasound back-fat thickness (mm), measured at the medial edge of the  
96 muscle *Longissimus thoracis*, from the skin to the muscle.

97 USBF2: Ultrasound back-fat thickness (mm) measured 6 cm from the dorsal mid-line  
98 from the skin to the *Longissimus thoracis* muscle.

99 USBF3: Ultrasound back-fat thickness (mm) measured from the lateral edge of  
100 *Longissimus thoracis* from the skin to the muscle.

101 USBFA: Ultrasound back-fat area in (mm<sup>2</sup>) limited by the *Longissimus thoracis*  
102 (superior face), the skin (internal face) and measurements described in USBF1 and  
103 USBF3.



104 USLA: Ultrasound *Longissimus thoracis* area (mm<sup>2</sup>).

## 105 2.2. Carcass traits

106 The animals were transported 600 km to the slaughterhouse (El Navazo, Salamanca,  
107 Spain) and were fasted for 12 h until slaughter time, when they were electrically  
108 stunned (225–380 V, 0.5 A, 5–6 s), exanguinated and eviscerated according to EU  
109 legislation (EU Council regulation 1099/2009). An incision was made into the  
110 *Longissimus thoracis* muscle between the 13<sup>th</sup> and 14<sup>th</sup> rib to measure initial muscle  
111 pH (pH<sub>45</sub>; 45 min after slaughter) with a pHmeter (Crison GLP21 equipment, Eutech,  
112 Singapore, Republic of Singapore; ISO, 1999) equipped with a penetrating glass  
113 electrode. The carcasses were refrigerated for 2 h. Subsequently, backfat thickness  
114 between the 12<sup>th</sup> and 13<sup>th</sup> ribs was measured on the left side of each carcass using a  
115 flexible ruler with a precision of 1 mm. Then carcass length was measured in a straight  
116 line from the forward edge of the first rib to the forward edge of the aitch bone.

117 At 2 h post-mortem, the *Longissimus thoracis et lumborum* muscle was removed to  
118 analyse meat quality. Subcutaneous fat samples from the dorsal area between the 12<sup>th</sup>  
119 and 13<sup>th</sup> ribs were taken. The samples were packaged and transported refrigerated (4°C)  
120 to the laboratory at Murcia University.

## 121 2.3. Meat quality measurements

122 The pH was measured 24 h *post mortem* in the *Longissimus thoracis* muscle. Then  
123 steaks of 2 cm thickness were cut from the cranial to the end. The steaks were  
124 refrigerated (4 °C) for moisture, fat, colour, water holding capacity (WHC), drip losses  
125 (DL), and cooking losses (CL) analyses. The rest of samples were vacuum-packaged  
126 (R-RE; Industrias RAELMA, S.L., Madrid, Spain) and frozen (-18 °C) to be analyzed  
127 (protein percentage, fatty acid profile, sensory analysis).

128 Moisture, fat (using petroleum ether (40–60 °C) as the solvent in a Soxhlet extraction)  
129 and protein (Kjeldahl N x 6.25) were quantified according to the AOAC (2006). The  
130 WHC was determined following the pressing method described by Grau & Hamm  
131 (1953) and the results were expressed as a percentage of the initial sample weight. For  
132 DL the samples (2 cm thick) were packaged in polystyrene trays (B5-37 aerpac;  
133 ALIAGA and Ortiz, SL, Alcantarilla, Spain) covered with a permeable film (MICAL®  
134 professional, Miquel Alimentació Group S.A.U, Vilamalla, Spain) and stored at 4 °C  
135 (Honikel, 1998). The samples were weighed 0, 72 and 120 h post-packing, and DL was  
136 expressed as a percentage of the initial sample weight.

137 To evaluate the cooking losses the meat samples were water-cooked (in vacuum pack  
138 bags) at 80°C to an internal temperature of 72°C. Samples were then cooled and held at  
139 21°C before weighing (Vergara, Gallego, García, & Landete-Castillejos, 2003).  
140 Cooking loss was expressed as a percentage of the initial sample weight. The WHC, DL  
141 and CL measurements were made in duplicate.

142 Colour was measured using a CR-400 Chroma Meter (Minolta Ltd., Milton Keynes,  
143 United Kingdom) calibrated against a standard white tile (8 mm diameter aperture, d/0  
144 illumination system, D65 illuminant and a 2° standard observer angle). The steaks were  
145 scored for colour and marbling using the National Pork Producer Council standards  
146 (colour from 1=light to 6= dark; marbling from 1=devoid to 10=abundant; NPPC, 1999)

#### 147 *3.4. Fatty acid profile*

148 Fat was cold-extracted using chloroform/methanol (2/1; v/v) (Folch, Lees, & Stanley,  
149 1957). Lipid extracts were evaporated to dryness under vacuum at 35 °C and stored at -  
150 80 °C until preparation of their fatty acid methyl esters (FAME). Separation and  
151 quantification of the FAME was carried out according to ISO (2011) using a gas  
152 chromatograph (Thermo Finnogon Trace GC Ultra, Milan, Italy). Samples were injected

153 using an AI/AS 3000 auto sampler (Thermo Scientific AS 3000, Milan, Italy) and GC  
154 capillary column (Forte, SGE, Ringwood, Australia), 60 m long, with an interior  
155 diameter of 0.25 mm and 0.25  $\mu\text{m}$  film thickness, were used to separate the fatty acids.  
156 The chromatographic conditions were as follows: initial column temperature 120  $^{\circ}\text{C}$   
157 held for 5 min, then increased at 15  $^{\circ}\text{C min}^{-1}$  to 170  $^{\circ}\text{C}$ , then heated at 2  $^{\circ}\text{C min}^{-1}$  to 210  
158  $^{\circ}\text{C}$ , and then increased again at 15  $^{\circ}\text{C/ min}^{-1}$  up to final temperature of 225  $^{\circ}\text{C}$ , which  
159 was held 4 min. Helium was used as carrier gas at a constant flow-rate of 2  $\text{mL min}^{-1}$ .  
160 The split flow was 10  $\text{mL min}^{-1}$  with a 1  $\mu\text{L}$  injection volume. Undecanoic acid methyl  
161 ester at 500 ppm was used as internal standard and added to the samples prior to  
162 methylation. Individual FAME were identified by comparing their retention times with  
163 those of authenticated standards. Data regarding FAME composition were expressed as  
164 a percentage of the total FAME identified.

### 165 3.5. Sensory analysis: *Quality Descriptive Analyses (QDA)*

166 Sensory evaluation was made by a trained panel of eight members, chosen from the  
167 staff of the University of Murcia, all experienced in the profile assessment of different  
168 meat and meat products.

169 They were trained according to ISO (2012) in three training sessions. The first session  
170 was to select descriptors for cooked meat and the other two sessions for quantifying  
171 attributes to describe the sensory attributes. Steaks were taken out of the freezer 24 h  
172 before cooking and were kept in a refrigerator at 4  $^{\circ}\text{C}$ . For cooking, a double-sided grill  
173 (Silanos, Liscia Average, Lavastoviglie Industriali, Italy) was preheated at 170  $^{\circ}\text{C}$  for 5  
174 min. The grill was covered with aluminium foil and the steaks were cooked until they  
175 reached an internal temperature of 72 $^{\circ}\text{C}$  (portable T200 thermometer, Digitron  
176 Instrumentation Ltd., Merd Lane, Hertford, United Kingdom). The samples were  
177 trimmed of any external connective tissue, and cut into samples measuring 2x2 cm.

178 Then, they were wrapped in aluminium foil and coded with a three digit number. To  
179 ensure the serving temperature, samples were kept on a sand bath at 60 °C until tasting.  
180 In every session, the order of sample presentation was balanced to account for order and  
181 carryover effects (MacFie, Bratchell, Greenhoff, & Vallis, 1989). Every panelist tasted a  
182 total of 6 samples from each treatment (total of 18 samples divided in three sessions).  
183 Mineral water and unsalted bread was provided for mouth rinsing between samples.  
184 Sensory analysis was carried out according to ISO (2003) using an unstructured line  
185 scale (0–10 cm), which vary from low to high intensity of the attribute considered,  
186 where a score of 0=very low and 10=very high in the mentioned attribute. The  
187 descriptors used were: Aroma intensity, meat colour, colour intensity, flavour intensity,  
188 hardness, juiciness and chewiness. The descriptors evaluated by the panel during the  
189 training session are described below: aroma intensity, meat colour, colour intensity,  
190 flavour intensity, hardness, chewiness, juiciness.

### 191 *3.6. Statistical analyses*

192 All data were analyzed using the GLM procedure of the software SSPS version 19.0  
193 software (SPSS Inc., Chicago, IL) (1997). The statistical model investigated the main  
194 effects of dietary treatment, sex, and associated 2-way interactions. Data for sensory  
195 analysis were subjected to one-way ANOVA only for the diet effect. In addition, when  
196 the diet effect was significant, a Tukey test was used to make pair-wise comparisons.  
197 Pearson correlation coefficients were evaluated to describe the relationship between the  
198 intramuscular fat content and marbling, and hardness and chewiness. All reported  
199 means are least square means, and the significance level was set at  $P < 0.05$ .

## 200 **3. Results and discussion**

### 201 *3.1. Ultrasound measurements*

202 Table 2 shows the effect of crude glycerine feeding on the ultrasound values of the  
203 *Longissimus thoracis* muscle area and back-fat thicknesses and area. There was no  
204 effect of dietary treatment on fat depots or LM area ( $P < 0.05$ ), which agrees with  
205 Lammers et al. (2008), who found no difference in ultrasound measurements in  
206 Cambrought cross pigs fed up to 10 % of crude glycerine for 138 days.

207 Castrated males presented higher USBF2 values than intact females ( $P=0.049$ ),  
208 although these differences had slight practical relevance (3.41 vs. 3.05 cm respectively).  
209 These results are similar to Peinado, Medel, Fuentetaja, & Mateos (2008), who  
210 described that carcasses from castrated females and males had higher values of back-fat  
211 than carcasses from entire females. In addition, Lammers et al. (2008) found higher  
212 values of back-fat in 10<sup>th</sup>-rib of castrated males than entire females, also fed with crude  
213 glycerine.

### 214 3.2. Carcass parameters

215 No significant interactions between diet and gender were detected for any of the traits  
216 studied and so only the main effects are presented (Table 3). Crude glycerine  
217 incorporation up to 10% did not affect ( $P > 0.05$ ) the final BW, CLe, or 12<sup>th</sup> rib fat  
218 thickness. These results are in accordance with Della Casa et al., (2009), who found no  
219 differences on carcass parameters in heavy pigs fed with 5 and 10% of glycerol.  
220 Hanczakowska et al. (2010) found that carcass from pigs receiving crude glycerol  
221 slaughtered about 110 kg body weight had thinner backfat than control pigs and those  
222 receiving refined glycerol.

223 In addition, there were no differences in final BW between genders ( $P > 0.05$ ). This  
224 agrees with previous studies that compared castrated males and females and intact  
225 females Iberian pigs (Serrano, Valencia, Fuentetaja, Lázaro, & Mateos, 2008a; Serrano,  
226 Valencia, Nieto, Lázaro, & Mateos, 2008b). Carcass length and back-fat thickness were

227 similar for females and castrated males ( $P > 0.05$ ). In contrast, Serrano et al. (2008b)  
228 found that the carcasses of Iberian entire females were longer than those from castrated  
229 males. Serrano et al. (2008a, b) found fatter carcasses in castrated Iberian pig males than  
230 in intact females. This may be due to a lower intake of intact females, which tended to  
231 have better feed conversion and less carcass fat (Serrano et al., 2008b).

### 232 3.3. Meat quality

233 The meat quality of Iberian x Duroc cross pig is shown in Table 3. There was no effect  
234 of glycerol inclusion on the moisture, protein or intramuscular fat content ( $P > 0.05$ ),  
235 which agrees with the results of Della Casa et al. (2009) who found no differences on  
236 meat proximal composition of heavy pigs fed up to 10% of glycerol. The fat content  
237 was higher in the castrated male group (5.99 vs. 5.01 %) than in females ( $P < 0.05$ ).  
238 Similarly, Serrano et al., (2009) found that intramuscular fat were higher in Iberian  
239 barrows than gilts reared indoors. This is because castration increases intramuscular  
240 fattening of the meat (Gispert, Oliver, Velarde, Suarez, Pérez, & Font i Furnols, 2010).  
241 There was an interaction between glycerol and sex, whereas, Lammers et al. (2008)  
242 observed no such interaction between these two factors.

243 The results of pH taken 45 minutes and 24 hour *post-slaughter* are shown in Table 3.  
244 There was no difference ( $P > 0.05$ ) between the pH of loins from the three different  
245 groups (G0, G5 or G10). This finding is similar to those from previous studies in heavy  
246 pigs fed with glycerol (Della Casa et al., 2009) and that for meat from commercial  
247 breeds (Hansen *et al.*, 2009; Schieck et al., 2010).

248 The pH<sub>45</sub> was affected by gender ( $P < 0.05$ ), being lower in gilts, which agrees Serrano  
249 et al. (2008a), who found differences in pH in meat from Iberian dam x Duroc sire gilts  
250 and barrows. In another study in Iberian crosses, Serrano et al. (2008b) also found  
251 higher pH levels in loin from barrows than from gilts. The conditions imposed during

252 transportation and lairage at the slaughterhouse are the main factors that influence  
253 carcass pH, and pre slaughter handling might affect barrows and females differently  
254 (Pineiro, Lorenzo, Pineiro, & Mateos, 2001). However, when pH was measured at 24h  
255 there was no difference ( $P > 0.05$ ) between gender, which agrees with Peinado et al.  
256 (2012), who found no pH differences between genders in Iberian pigs, slaughtered at  
257 113 and 139 kg. In this study, although the initial pH<sub>45</sub> differed between genders, the pH  
258 decline led to similar pH values at 24 h.

#### 259 3.4. *WHC, CL and DL*

260 Table 3 presents the water holding parameters of the LM of the diet groups. Neither  
261 crude glycerine inclusion in the pig diet nor gender affected WHC or DL ( $P > 0.05$ ). In  
262 addition, there was no differences between gilts and barrows as regards CL ( $P > 0.05$ ),  
263 a parameter that fall significantly in G10 ( $P < 0.05$ ). Similar results were found by  
264 Mourot, Aumaitre, Mounier, Peiniau, & Francois (1994) in pigs fed 5 % glycerol. It was  
265 described the osmotic properties of glycerol in this study, that would improve cooking  
266 losses. In contrast, Della Casa et al., (2009) found no differences between a control and  
267 a group fed up to 10% glycerol. Such differences between authors may be due to several  
268 factors such as the length of transportation. Since the pigs used in the present study  
269 were transported a long distance before sacrifice, the possibly more stressful situation  
270 may have led to an amino acid damage, with its subsequent increase in cooking loss in  
271 accordance with Parker, Dobson, & Fitzpatrick. (2007). These authors pointed out that  
272 the use of glycerol in other species, like ruminants, may prevent the amino acid pool  
273 damage produced by stress hormones, since glycerol is an easily accessed and rapid  
274 source of energy. For that reason, the lower CL in meat from the G10 group could  
275 indicate a certain protective effect of the glycerol on muscle tissues.

276

277 3.5. Colour and marbling

278 No significant interactions between diet and gender were detected for any trait studied  
279 and so, only the main effects are presented (Table 3). Similar results were obtained for  
280 the three glycerol groups and gender for NPPC colour,  $L^*$ ,  $b^*$  and  $H^*$  ( $P > 0.05$ ). There  
281 was no effect of glycerol diet inclusion on loin marbling ( $P > 0.05$ ). In contrast, the G10  
282 group presented higher values for  $a^*$  ( $P < 0.01$ ) than the control group (less red), and  
283 lower values of  $C^*$  ( $P < 0.001$ ). This could be related with the marbling score, since the  
284 G10 group had a higher numerical score (4.08 vs. 3.40 for G10 and control group,  
285 respectively). In addition, there was a positive correlation between  $C^*$  and marbling  
286 ( $r^2=0.216$ ;  $P < 0.05$ ). In this sense, Della Casa et al. (2009) reported higher marbling  
287 scores in chops for pigs fed 5 to 10% glycerol during late finishing phase growth.  
288 However, Della Casa et al. (2009) found no differences in the colour parameters.  
289 Similarly, in other studies (Lammers et al. 2008; Hansen et al., 2009, Schieck *et al*,  
290 2010), using a commercial breed less heavy, there were no differences in colour  
291 parameters. Commercial breeds show a different response to fat depots to traditional  
292 breeds, being higher in this second (Lee, Kauffman, & Grummer, 1973).

293 It was described a more intensive marbling in castrated males than in females ( $P <$   
294  $0.05$ ), a finding similar to that of a previous research (Latorre, Lizaro, Valencia, Medel,  
295 & Mateos, 2004). These results were expected because of the higher fat depots in  
296 castrated males (Candek-Potokar, Monin, & Žlender, 2002). Alonso, Campo, Español,  
297 Roncalés, & Beltrán, (2009), also found that barrows had more intramuscular fat than  
298 gilts. In our study, there was a positive correlation ( $r^2=0.730$ ;  $P < 0.01$ ) between  
299 intramuscular fat content and marbling, a parameter that is important for consumer  
300 acceptance in this kind of traditional product. There was no difference in colour  
301 between genders ( $P < 0.05$ ). In contrast, other studies (Alonso et al., 2009, Latorre et al.



302 2004) found that meat from castrated males had higher  $a^*$  and  $b^*$  values than female  
303 pigs. Cisneros, Ellis, McKeith, McCaw, & Fernando (1996) found that meat from  
304 barrows had higher myoglobin content than the meat from gilts, which would produce a  
305 redder meat in castrated males.

### 306 *3.6. Fatty acid profile*

#### 307 *3.6.1. Intramuscular*

308 The levels of C14:0, C16:0, C16:1, C17:0, C18:0, C18:1, C18:2, C20:0 and C20:4 in  
309 intramuscular fat (Table 4) were similar for the different treatments and between  
310 castrated males and females ( $P > 0.05$ ). Although there was a slight reduction in C10:0,  
311 C12:0, and C18:3 when crude glycerine was added ( $P < 0.01$ ), this is no remarkable  
312 because of to its scarce effect on the overall quality of the product.

313 The reduction in linolenic acid (C18:3) observed was slight and would have not so  
314 important impact on human health (Ensminger, Ensminger, Konlande, & Robson,  
315 1995). Similarly, Della casa et al. (2009) found no difference in the intramuscular fatty  
316 profile of meat of animals fed with glycerol.

317 The C12:0 and C18:3 fatty acids were affected by gender ( $P < 0.05$ ), being higher in  
318 females than castrated males. There were no differences in total SFA since there was a  
319 tendency towards lower levels of both saturated and polyunsaturated fatty acids in  
320 castrated males compared with females.

321 In general, the inclusion of up to 10% in the pig diet did not affect the fatty acid profile.  
322 These results are interesting since the flavour of Iberian meat products is strongly  
323 influenced by the intramuscular fatty acid composition of fresh meat (Muriel et al.,  
324 2004).

#### 325 *3.6.2. Subcutaneous fatty acid profile*

326 The levels of C10:0, C12:0, C14:0, C16:0, C16:1, C17:0, C18:0, C18:1, C18:2 and  
327 C20:4 in subcutaneous fat (Table 5) were similar for the different diet treatments ( $P >$   
328 0.05). There was a lineal effect between glycerine incorporation and C18:2 and 20:0  
329 fatty acids ( $P < 0.05$ ). This fatty acid increased (C18:2) and decreased (C20:0) when  
330 animals were fed crude glycerine. As a consequence, there was a reduction of PUFA in  
331 animals fed with glycerol. Previous studies demonstrated that unsaturated fatty acids  
332 have a propensity to oxidise, leading to the development of rancidity as display times  
333 increases (Wood et al., 2003). In this sense, a lower quantity of unsaturated fatty acid  
334 could extend the shelf life of the product. It is widely accepted that fatty acid  
335 composition of the fat depots in monogastrics closely mimics the fatty acid composition  
336 of the diet (Duttinger *et al*, 2012), mainly due to the dietary fats inhibiting *de novo* fatty  
337 acid synthesis in favour of the direct deposition of dietary fatty acids in adipose tissue  
338 (Chilliard, 1993). So, the substitution of cereal by glycerol may produce a change in the  
339 fatty acid composition. Glycerol is absorbed and goes into a metabolic process as it is  
340 converted into *de novo* fatty acids, which are usually saturated.

341 Although fat deposition is less pronounced in commercial breeds, other studies have  
342 observed that finishing pigs fed glycerol had increased levels of oleic acid and  
343 decreased levels of linoleic and linolenic acid in backfat, which resulted in a greater  
344 degree of saturation (Mourot et al., 1994). In previous research, Della Casa et al. (2009)  
345 a higher octadecenoic acid content was recorded in the subcutaneous fat of glycerol  
346 treatment group.

347 In addition, castrated males had a higher SFA content than intact females ( $P < 0.05$ ),  
348 while PUFA were decreased. Similar results were observed by Nürnberg, Wegner, and  
349 Ender (1998), where the relative concentration of linoleic acid and PUFA in backfat  
350 decreased in the order of males>females>male castrated, whilst the saturated fatty acid

351 percentage increased. In contrast, Ramirez & Cava (2007) found no effect of gender on  
352 the subcutaneous and intramuscular fatty acid composition. Some studies (Zhang et al.  
353 (2007) suggest an effect of gender on the specific enzyme activities involved in the long  
354 chain PUFA metabolism.

### 355 3.7. Sensory analysis

356 The sensory test parameters (QDA) of meat from the three treatment groups are  
357 presented in Figure 1. The inclusion of crude glycerine in the diet had no effect ( $P >$   
358 0.05) on aroma intensity, meat colour, colour intensity, flavour intensity, hardness or  
359 juiciness. In animals fed 10% crude glycerine Hanczakowska et al. (2010) found a  
360 significant decrease in typical meat odour and flavour but not when pure glycerol is  
361 included in the diets, so this drop was attributed to the effect of some substances present  
362 in the crude preparation, not due glycerol *per se*. In contrast, Della Casa et al. (2009)  
363 found differences in colour and tenderness between control and crude glycerine groups  
364 in heavy pigs fed in the growing phase with 5% glycerol. Authors indicated that  
365 numerical differences between groups were small when subjected to scale (0-10).

366 Chewiness values were the highest in the G10 group ( $P < 0.01$ ), showing a positive  
367 correlation with hardness ( $r^2=0.504$ ;  $P < 0.01$ ). The influence of glycerol on texture is  
368 not clear. It should be noted, however, these differences had a magnitude of only 0.7  
369 panel units. Therefore, they must be considered to be of little practical importance, since  
370 a difference of one full panel unit is usually required for consumers to detect a  
371 difference (Jeremiah et al., 1999).

## 372 4. Conclusions

373 In general, carcass and meat quality from Iberian x Duroc cross pig were not affected by  
374 crude glycerine inclusion although 10% seems to reduce cooking losses. In this sense  
375 more studies on the influence of glycerol on water holding capacity in this breed could

376 be interesting. There was a lineal decrease of PUFA in subcutaneous fat when animals  
377 were fed with crude glycerine. Castrated males presented greater fat thickness, fat  
378 content and marbling and a higher SFA profile of subcutaneous fat than entire females.  
379 Crude glycerine could be used for Iberian pig feeding up to 10 % with no negative  
380 effects on meat quality.

## 381 **References**

382 Alonso, V., Campo, M. M., Español, S., Roncalés, P., & Beltrán, J. A. (2009). Effect of  
383 crossbreeding and gender on meat quality and fatty acid composition in pork. *Meat*  
384 *Science*, *81*, 209–217.

385 AOAC. (2006). *Association of Official Analytical Chemists* (14th ed. ed.). Inc.,  
386 Arlington, VA, U.S.A.

387 Berenchtein, B., Costa, L. B., Braz, D. B., de Almeida, V. V., Tse, M. L. P., & Miyada,  
388 V. S. (2010). Use of glycerol in growing and finishing pig diets. *Revista Brasileira de*  
389 *Zootecnia-Brazilian Journal of Animal Science*, *39*, 1491-1496.

390 Čandek-Potokar, M., Monin, G., & Žlender, B. (2002). Pork quality, processing, and  
391 sensory characteristics of dry-cured hams as influenced by Duroc crossing and sex.  
392 *Journal of Animal Science*, *80*(4), 988–996

393 Cava, R., Ruiz, J., Tejada, F. J., Ventanas, J., & Antequera, T. (2000). Effect of free-  
394 range rearing and  $\alpha$ -tocopherol and copper supplementation on fatty acid profiles and  
395 susceptibility to lipid oxidation of fresh meat from Iberian pigs. *Food Chemistry*, *68*, 51-  
396 59.

397 Cerneau, P., Mourot, J., & Peyronnet, C. (1994). Effet du glycérol alimentaire sur la  
398 qualité de la viande de porc et le rendement technologique du jambon cuit. In *Journées*  
399 *de la Recherche Porcine en France*, 193-198

400 Cisneros, F., Ellis, M., McKeith, F. K., McCaw, J., & Fernando., R. (1996). Influence of  
401 slaughter weight on growth and carcass characteristics, commercial cutting and curing  
402 yields, and meat quality of barrows and gilts from two genotypes. *Journal of Animal*  
403 *Science*, *74*, 925–933.

404 Chilliard, Y. (1993). Dietary fat and adipose tissue metabolism in ruminants, pigs, and  
405 rodents: a review. *Journal of Dairy Science* 76, 3897-3931

406 Daza, A., Mateos, A., López Carrasco, C., Rey, A., Ovejero, I., & López-Bote, C. J.  
407 (2006). Effect of feeding system on the growth and carcass characteristics of Iberian  
408 pigs, and the use of ultrasound to estimate yields of joints. *Meat Science*, 72, 1-8.

409 Della Casa, G., Bochicchio, D., Faeti, V., Marchetto, G., Poletti, E., Rossi, A.,  
410 Garavaldi, A., Pandroli, A., & Brogna, N. (2009). Use of pure glycerol in fattening  
411 heavy pigs. *Meat Science*, 81, 238-244.

412 Duttlinger, A. J., DeRouchey, M. D., Tokach, M. D., Dritz, S. S., Goodband, R. D.,  
413 Nelssen, J. L., Houser, T. A & Sulabo, R. C. (2012). Effects of increasing crude  
414 glycerol and dried distillers grains with soluble on growth performance, carcass  
415 characteristics and carcass fat quality of finishing pigs. *Journal of Animal Science*, 90,  
416 840-852.

417 Ensminger, A. H., Ensminger, M. E, Konlande, J. E., & Robson, J. R. K. (1995) *The*  
418 *concise encyclopedia of Foods & Nutrition*. Boca Ratón Londres: CRC Press, 297-305.

419 FEDNA (2006). Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal.  
420 Necesidades nutricionales para ganado porcino: Normas FEDNA. FEDNA, Madrid,  
421 Spain.

422 Folch, J., Lees, M., & Sloane-Stanley, G. H. (1957). A simple method for the isolation  
423 and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemical*,  
424 226(1), 497-509.

425 Gispert, M., Oliver, M. A., Velarde, A., Suarez, P., Pérez, J., & Font i Furnols, M.  
426 (2010). Carcass and meat quality characteristics of immunocastrated male, surgically  
427 castrated male, entire male and female pigs. *Meat Science*, 85, 664-670.

428 Grau, R., & Hamm, R. (1953). Eine einfache methode zur bestimmung der  
429 wasserbindung im muskel. *Naturwissenschaften*, 40(1), 29-30.

430 Hanczakowska, E., Wêglarz, K., Szymczyky, B., & Hanczakowski, P. (2010). Effect of  
431 adding crude or refined glycerol to pig diets on fattening performance, nutrient  
432 digestibility and carcass evaluation. *Animal Science*, 1 (1), 67-73.

433 Hansen, C. F., Hernández, A., Mullan, B. P., Moore, K., Trezona-Murray, M., King, R.  
434 H. & Pluske, J. R. (2009). A chemical analysis of samples of crude glycerol from the  
435 production of biodiesel in Australia, and the effects of feeding crude glycerol to  
436 growing-finishing pigs on performance, plasma metabolites and meat quality at  
437 slaughter. *Animal Production Science*, 49, 154-161.

438 Honikel, K. O. (1998). Reference methods for the assessment of physical characteristics  
439 of meat. *Meat Science*, 49(4), 447-457.

440 ISO-R-4121 (2003). Sensory analysis. Guidelines for the use of quantitative responses  
441 scales. Method ISO R-4121. Geneva, Switzerland: International Organization for  
442 Standardization. ([www.iso.org](http://www.iso.org))

443 ISO 12966-2 (2011) Animal and vegetable fats and oils -- Gas chromatography of fatty  
444 acid methyl esters -- Part 2: Preparation of methyl esters of fatty acids. International  
445 Organization for Standardization Publication ([www.iso.org](http://www.iso.org))

446 ISO 8586 (2012). Sensory analysis methodology General guidance for the selection and  
447 training and monitoring of assessors. Part 1. Selected assessors International  
448 Organization for Standardization Publication ([www.iso.org](http://www.iso.org))

449 Jeremiah, L. E., Gibson, J. P., Gibson, L. L., Ball, R. O., Aker, C., & Fortin, A. (1999).  
450 The influence of breed, gender, and PSS (halothane) genotype on meat quality, cooking  
451 loss, and palatability of pork. *Food Research International*, 32, 59–71.

452 Kerr, B. J., Weber, T. E., Dozier, W. A., & Kidd, M. T. (2009). Digestible and  
453 metabolizable energy content of crude glycerin originating from different sources in  
454 nursery pigs. *Journal of Animal Science*, 87, 4042-4049

455 Lammers, P. J., Kerr, B. J., Weber, T. E., Bregendahl, K., Lonergan, S. M., Prusa, K. J.,  
456 Ahn, D. U., Stoffregen, W. C., Dozier III, W. A., & Honeyman, M. S. (2008). Growth  
457 performance, carcass characteristics, meat quality, and tissue histology of growing pigs  
458 fed crude glycerin-supplemented diets. *Journal of Animal Science*, 86(11), 2962-2970.

459 Latorre, M. A., Lizaro, R., Valencia, D. G., Medel, P., & Mateos, G. G. (2004). The  
460 effects of gender and slaughter weight on the growth performance, carcass traits, and  
461 meat quality characteristics of heavy pigs. *Journal of Animal Science*, 82, 526-533.

462 Lee, Y. B., Kauffman, R. G., & Grummer, R. H. (1973) Effect of early nutrition of the  
463 development of adipose tissue in the pig. I. Age constant basis. *Journal of Animal*  
464 *Science*, 37, 1312-1318

465 Macfie, H. J., Bratchell, N., Greehoff, K., & Vallis, L. V. (1989). Designs to balance the  
466 effect of order of presentation and first order carry over effect in hall tests. *Journal of*  
467 *Sensory Studies*, 4(2), 129-148.

468 Mourot, J., Aumaitre, A., Mounier, A., Peiniau, P., & Francois, A. C. (1994).  
469 Nutritional and physiological effects of dietary glycerol in the growing pig.  
470 Consequences on fatty tissues and post mortem muscular parameters. *Livestock*  
471 *Production Science*, 38, 237-244.

472 Muriel, E., Ruiz, J., Ventanas, J., Petró, M. J., & Antequera, T. (2004). Meat quality  
473 characteristics in different lines of Iberian pigs. *Meat Science*, 67, 299-307

474 National Pork Producers Council. (1999). *NPPC marbling standards*. Des Moines,  
475 USA.

476 Nürnberg, K., Wegner, J., & Ender, K., (1998). Factors influencing fat composition in  
477 muscle and adipose tissue of farm animals. *Livestock Production Science*, 56(2), 145-  
478 156

479 Parker, A. J., Dobson, G. P., & Fitzpartrick, L. A. (2007). Physiological and metabolic  
480 effects of prophylactic treatment with the osmolytes glycerol and betaine on *Bos indicus*  
481 steers during long duration transport. *Journal of Animal Science*, 85, 2916-2923.

482 Peinado, J., Medel, P., Fuentetaja, A., & Mateos, G. G. (2008). Influence of castration  
483 of females on growth performance and carcass and meat quality of heavy pigs destined  
484 to the dry-cured industry. *Journal of Animal Science*, 86, 1410-1417.

485 Peinado, J., Serrano, M. P., Nieto, M., Sánchez, J., Medel, P., and Mateos, G.G. (2012).  
486 The effects of gender and castration of females on performance and carcass and meat  
487 quality of heavy pigs destined to the dry-cured industry. *Meat Science*, 90, 715-720

488 Pineiro, C., Lorenzo, E., Pineiro, A., & Mateos, G. G., (2001). Effects of induced  
489 stresses on productive performance and serum concentration of acute phase proteins in  
490 growing-finishing pigs. *Journal of Animal Science*, 79(1), 211. (Abstr.)

491 Ramírez, R., & Cava, R. (2007). Carcass composition and meat quality of three  
492 different Iberian-Duroc genotype pigs. *Meat Science*, 75, 388-396

493 RD 1469/2007 (2007). Real Decreto 1469/2007, de 2 de noviembre de 2007, por el que  
494 se aprueba la norma de calidad para la carne, el jamón, la paleta y la caña de lomo  
495 ibéricos. 2007, March 11: B.O.E.

496 RD 1221/2009 (2009) Real decreto 1221/2009, de 17 de julio, por el que se establecen  
497 normas básicas de ordenación de las explotaciones de ganado porcino extensivo y por el  
498 que se modifica el Real Decreto 1547/2004, de 25 de junio, por el que se establecen las  
499 normas de ordenación de las explotaciones cunícolas. BOE Núm. 187, Martes 4 de  
500 agosto de 2009, Sec. I. pp. 66585–97.

501 Rosenvold, K., & Andersen, J. H., (2003) Factors of significance for pork quality—a  
502 review. *Meat Science*, 64(3), 219-237

503 Schieck, S. J., Shurson, G. C., Kerr, B. J., & Johnston, L. J. (2010). Evaluation of  
504 glycerol, a biodiesel coproduct, in grow-finish pig diets to support growth and pork  
505 quality. *Journal of Animal Science*, 88, 3927-3935.

506 Serrano, M. P., Valencia, D. G., Fuentetaja, A., Lázaro, R., & Mateos, G. G. (2008a).  
507 Effect of gender and castration of females and slaughter weight on performance and  
508 carcass and meat quality of Iberian pigs reared under intensive management systems.  
509 *Meat Science*, 80, 1122–1128.

510 Serrano, M. P., Valencia, D. G., Nieto, M., Lázaro, R., & Mateos, G. G. (2008b). Effect  
511 of sex and terminal sire line on performance and carcass and meat quality traits of  
512 Iberian pigs reared under intensive production systems. *Meat Science*, 78, 420–428.

513 Serrano, M. P., Valencia, D. G., Fuentetaja, A., Lázaro, R., & Mateos, G. G., (2009).  
514 Influence of feed restriction and sex on growth performance and carcass and meat  
515 quality of Iberian pigs reared indoors. *Journal of Animal Science*, 87, 1676-1685.

516 Vergara, H., Gallego, L., García, A., & Landete-Castillejos, T. (2003). Conservation of  
517 *Cervus elaphus* meat in modified atmospheres. *Meat Science*, 65(2), 779-783.

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



521 Yang, F., Hanna, M., & Sun, R. (2012). Value-added uses for crude glycerol--a  
522 byproduct of biodiesel production. *Biotechnology for Biofuels*, 5, 13.

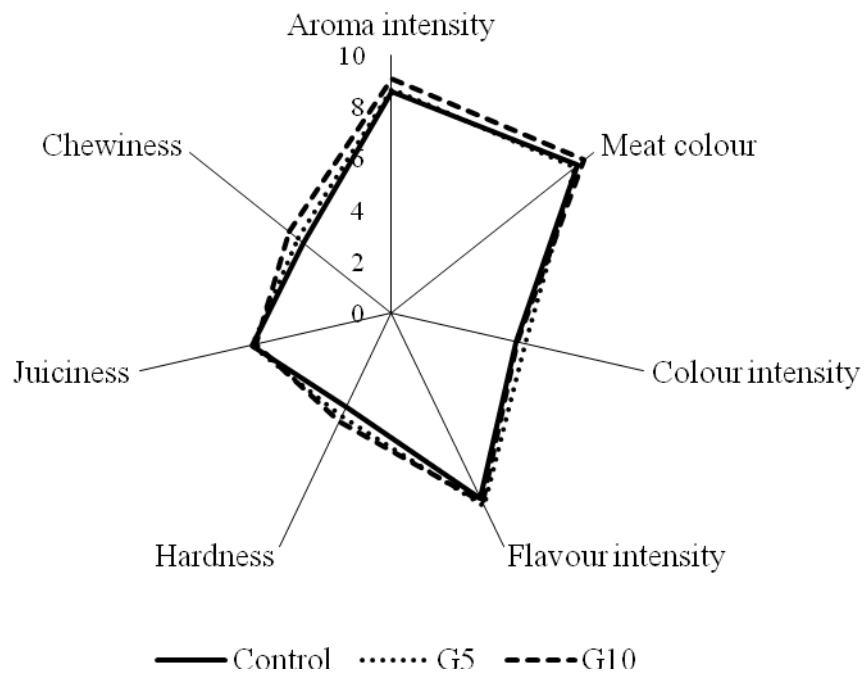
523 Zhang, S., Knight, T. J., Stalder, K. J., Goodwin, R. N., Lonergan, S. M., & Beitz, D.  
524 C., (2007). Effect of breed, sex and halothane genotype on fatty acid composition of  
525 pork Longissimus muscle. *Journal of Animal Science*, 85, 583–591.

526

- Animals fed crude glycerine up to 10% presented lower cooking losses.
- Inclusion of crude glycerine affected fatty acid profile
- Castrated males presented higher back fat thickness and fat content
- Castrated males had a higher SFA content in subcutaneous fat

**Fig 1**

Meat sensory analysis (QDA) of Iberian x Duroc crossbred castrated males and females fed with crude glycerine (0, 5 and 10%)



**Table 1**

Ingredients and chemical composition of the diets (% , as-fed basis).

Variable	Diet <sup>a</sup>		
	G0	G5	G10
Diet Ingredients			
Barley	45.0	45.0	45.0
Wheat	34.5	27.5	20.7
Wheat bran	11.8	12.0	12.0
Soybean meal, 470g CPkg <sup>-1</sup>	6.13	7.65	9.19
Crude glycerine		5	10
Animal fat	0.50	0.50	0.50
Sodium Chloride	0.35	0.30	0.25
Calcium carbonate	1.13	1.43	1.78
Monocalcium phosphate	0.32	0.32	0.33
Vitamin-mineral premix <sup>b</sup>	0.30	0.30	0.30
Calculated analysis <sup>c</sup>			
Net energy (MJ kg <sup>-1</sup> )	9.80	9.80	9.80
Crude protein	13.0	13.0	13.0
Crude fat	2.53	2.44	2.35
Total lysine	0.547	0.558	0.583
Palmitic acid	0.397	0.384	0.369
Oleic acid	0.420	0.412	0.403
Linoleic acid	0.831	0.795	0.757
Linolenic acid	0.082	0.080	0.078

<sup>a</sup> G0, 0% crude glycerine; G5, 5% crude glycerine, G,10 10% crude glycerine.<sup>b</sup> Provided (per kg of complete diet): 7000 IU of vitamin A; 1500 IU of vitamin D3; 20 mg of vitamin E; 4 mg of vitamin B2; 1,5 mg of vitamin B6; 0.020 mg of vitamin B12; 20 mg of niacin; 8 mg of calcium pantothenate; 100 mg of choline chloride; 75 mg of zinc oxide; 40 mg of manganese (II) oxide; 75 mg of ferrous sulfate heptahydrate; 12 mg of cupric sulfate pentahydrate; 0,15 mg of sodium selenite; 1 mg of potassium iodate; 0,1 mg of basic cobaltous carbonate monohydrate; 500 FTU of phytase (EC 3.1.3.8)<sup>c</sup> Estimated from Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal (2010).

**Table 2**

Effect of crude glycerine feeding on ultrasound values of Longissimus thoracis muscle area and backfat thicknesses and area (**Iberian x Duroc crossbred**)

Measurement <sup>1</sup>	Crude glycerine effect (CGE)			Gender effect (GE)		SEM	P-value	
	G0	G5	G10	Castrated Male	Female		CGE	GE
<i>Initial</i>								
USBF1 (cm)	3.16	2.96	2.83	2.97	3.00	0.087	0.291	0.853
USBF2 (cm)	2.11	1.91	1.95	2.09	1.88	0.063	0.435	0.108
USBF3 (cm)	2.65	2.53	2.39	2.55	2.49	0.077	0.378	0.696
USBFA (cm <sup>2</sup> )	32.6	30.0	28.3	31.4	29.2	1.05	0.233	0.288
USLA (cm <sup>2</sup> )	30.5	31.1	28.0	30.0	29.7	0.84	0.254	0.838
<i>Final</i>								
USBF1 (cm)	4.10	4.07	3.90	4.09	3.96	0.096	0.672	0.516
USBF2 (cm)	3.23	3.33	3.14	3.41	3.05	0.091	0.714	0.049
USBF3 (cm)	4.17	4.14	3.99	4.18	4.08	0.102	0.763	0.453
USBFA (cm <sup>2</sup> )	49.3	47.5	48.7	48.7	48.3	1.29	0.841	0.876
USLA (cm <sup>2</sup> )	42.0	40.1	40.7	41.5	40.3	0.81	0.615	0.443

<sup>1</sup>USBF1: Fat thickness taken perpendicularly to dorsal mid-line at the level of the last rib; USBF2: Fat thickness taken to 6 cm from dorsal mid-line at site of the last rib; USBF3: Fat thickness between the skin and the distal extreme farthest from dorsal mid-line of *Longissimus thoracis* muscle; USBFA; Fat area between *Longissimus thoracis* superior face, the skin internal face and the lines corresponding to RBF1 and RBF3; USLA: *Longissimus thoracis* muscle area at site of the last rib.

For each variable means with different superscripts are significantly different ( $P < 0.05$ ).

The interaction CGE x GE was not significant ( $P > 0.05$ ).

SEM = Standard error of the mean

**Table 3**

Carcass and meat quality parameters of Iberian x Duroc crossbred castrated males and females fed with crude glicerine (0, 5 and 10%)

Parameter <sup>1</sup>	Crude glycerine effect (CGE)			Gender effect (GE)		SEM	P-value	
	G0	G5	G10	Castrated Male	Female		CGE	GE
<i>Animal</i>								
Final Body Weight (kg)	148	156	148	155	146	3.2	0.526	0.161
<i>Carcass quality</i>								
Carcass length (cm)	89.3	89.5	89.5	89.3	89.6	0.31	0.946	0.663
12 <sup>th</sup> rib fat thickness (cm)	4.52	4.45	4.70	4.69	4.42	0.097	0.552	0.173
<i>Meat chemical composition</i>								
Moisture (%)	70.7	71.4	70.6	70.3	71.5	0.31	0.556	0.054
Proteins (%)	23.0	22.8	22.4	22.6	22.9	0.21	0.510	0.581
Fat (%)	5.51	4.97	6.02	5.99	5.01	0.224	0.178	0.033
pH <sub>45</sub>	6.15	6.19	6.31	6.30	6.13	0.040	0.229	0.029
pH <sub>24</sub>	5.55	5.55	5.56	5.54	5.56	0.020	0.955	0.651
<i>Water holding capacity (%)</i>								
Drip loss <sub>72</sub>	2.29	2.08	2.12	2.26	2.06	0.088	0.580	0.260
Drip loss <sub>120</sub>	2.78	2.59	2.62	2.73	2.60	0.089	0.632	0.475
Final Drip Loss	0.50	0.51	0.51	0.47	0.54	0.030	0.976	0.240
Cooking loss	22.8 <sup>a</sup>	20.4 <sup>a,b</sup>	19.9 <sup>b</sup>	20.7	21.4	0.43	0.017	0.454
Pressure WHC	76.5	77.8	78.0	78.0	76.9	0.36	0.192	0.141
<i>Colour parameters</i>								
NPPC colour	3.27	3.37	3.33	3.15	3.49	0.107	0.926	0.110
NPPC marbling	3.40	3.72	4.08	4.04	3.43	0.142	0.155	0.032
<i>L*</i>	49.4	49.7	49.6	50.1	49.0	0.38	0.955	0.142
<i>a*</i>	8.68 <sup>a</sup>	8.18 <sup>a,b</sup>	7.65 <sup>b</sup>	8.11	8.22	0.118	0.003	0.643
<i>b*</i>	2.12	1.66	1.56	1.92	1.64	0.114	0.109	0.225
<i>H*</i>	13.4	11.1	11.3	12.9	11.0	0.69	0.331	0.169
<i>C*</i>	9.00 <sup>a</sup>	8.40 <sup>a,b</sup>	7.85 <sup>b</sup>	8.38	8.45	0.128	0.002	0.797

The interaction CGE x GE was not significant ( $P > 0.1$ ) for all traits except for fat ( $P < 0.05$ ).

<sup>1</sup>WHC: water holding capacity, DL: Drip loss, CL: cooking loss, *L\**: lightness, *a\**: redness, *b\**: yellowness, *H\**: Hue, *C\**: Chroma.

<sup>a,b,c</sup> Means with different superscripts differ significantly ( $P < 0.05$ ).

SEM = Standard error of the mean.

**Table 4**

Fatty acid profile (%) of intramuscular fat of Iberian x Duroc crossbred castrated males and females fed with crude glycerine (0, 5 and 10%)

	Crude glycerine effect (CGE)			Gender effect (GE)		SEM	P-value	
	G0	G5	G10	Castrated Male	Female		CGE	GE
C10:0	0.22 <sup>b</sup>	0.22 <sup>b</sup>	0.18 <sup>a</sup>	0.20	0.21	0.006	0.004	0.161
C12:0	0.10 <sup>b</sup>	0.09 <sup>ab</sup>	0.09 <sup>b</sup>	0.09	0.10	0.002	0.003	0.035
C14:0	2.28	2.20	2.07	2.17	2.19	0.032	0.054	0.732
C16:0	21.3	21.0	20.5	20.9	20.9	0.148	0.115	0.971
C16:1	6.46	6.65	6.15	6.24	6.60	0.14	0.296	0.199
C17:0	0.13	0.11	0.12	0.13	0.12	0.005	0.417	0.244
C18:0	22.9	22.9	23.3	23.8	22.3	0.315	0.776	0.022
C18:1	40.9	40.5	41.7	40.7	41.4	0.327	0.262	0.294
C18:2	4.10	4.29	3.95	4.01	4.21	0.122	0.471	0.420
C18:3	0.36 <sup>b</sup>	0.29 <sup>a</sup>	0.30 <sup>ab</sup>	0.30	0.34	0.007	0.003	0.014
C20:0	0.14	0.14	0.14	0.15	0.14	0.003	0.541	0.109
C20:4	1.22	1.74	1.50	1.40	1.58	0.088	0.068	0.313
SFA	47.0	46.6	46.4	47.4	45.9	0.436	0.867	0.097
UFA	47.3	47.1	47.8	46.9	48.0	0.4	0.724	0.193
PUFA	5.67	6.33	5.76	5.71	6.13	0.205	0.339	0.315
TUFA	53.0	53.4	53.6	52.6	54.1	0.436	0.867	0.097
UFA/SFA	1.02	1.02	1.04	1.00	1.05	0.018	0.830	0.153
PUFA/SFA	0.12	0.14	0.13	0.12	0.14	0.005	0.469	0.203
TUFA/SFA	1.14	1.15	1.16	1.12	1.18	0.021	0.882	0.119
DFA	75.9	76.3	76.9	76.4	76.3	0.175	0.068	0.970

The interaction CGE x GE was not significant ( $P > 0.1$ ) for any traits except C12 ( $P < 0.05$ ).  
SEM = Standard error of the mean

**Table 5**

Fatty acid profile (%) of subcutaneous fat of Iberian x Duroc crossbred castrated males and females fed with crude glycerine (0, 5 and 10%)

	Crude glycerin effect (CGE)			Gender effect (GE)		SEM	P-value	
	G0	G5	G10	Castrated Male	Female		CGE	GE
C12:0	0.11	0.10	0.10	0.11	0.10	0.003	0.908	0.554
C14:0	1.22	1.26	1.28	1.29	1.22	0.015	0.279	0.031
C16:0	25.0	25.4	25.5	25.8	24.7	0.154	0.458	0.001
C16:1	2.28	2.22	2.27	2.29	2.22	0.058	0.900	0.599
C17:0	0.29	0.33	0.33	0.33	0.30	0.009	0.218	0.192
C18:0	13.9	14.9	14.7	15.0	14.0	0.245	0.301	0.041
C18:1	45.8	44.8	45.5	45.1	45.6	0.298	0.334	0.353
C18:2	10.3	10.0	9.22	9.01	10.70	0.148	0.012	0.000
C18:3	0.49	0.50	0.46	0.44	0.53	0.009	0.138	0.000
C20:0	0.16	0.18	0.31	0.27	0.16	0.022	0.015	0.015
C20:4	0.34	0.34	0.31	0.30	0.36	0.008	0.092	0.000
SFA	40.8	42.1	42.3	42.9	40.6	0.328	0.157	0.001
UFA	48.1	47.0	47.7	47.3	47.8	0.325	0.354	0.447
PUFA	11.1	10.8	9.99	9.75	11.59	0.162	0.015	0.000
TUFA	59.2	57.9	57.7	57.1	59.4	0.328	0.157	0.001
UFA/SFA	1.19	1.12	1.14	1.11	1.19	0.016	0.278	0.024
PUFA/SFA	0.28	0.26	0.24	0.23	0.29	0.005	0.011	0.000
TUFA/SFA	1.46	1.38	1.38	1.34	1.47	0.019	0.150	0.001
DFA	73.2	72.7	72.4	72.1	73.4	0.163	0.225	0.000

The interaction CGE x GE

SEM = Standard error of the mean





## Crude glycerine inclusion in Limousin bull diets: Animal performance, carcass characteristics and meat quality



M. Egea<sup>a</sup>, M.B. Linares<sup>a,\*</sup>, M.D. Garrido<sup>a</sup>, C. Villodre<sup>b</sup>, J. Madrid<sup>b</sup>, J. Orengo<sup>b</sup>, S. Martínez<sup>b</sup>, F. Hernández<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Department of Food Science and Technology, Veterinary Faculty, University of Murcia, Espinardo, 30071 Murcia, Spain

<sup>b</sup> Department of Animal Production, Veterinary Faculty, University of Murcia, Espinardo, 30071 Murcia, Spain

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 27 February 2014

Received in revised form 20 June 2014

Accepted 23 June 2014

Available online 28 June 2014

#### Keywords:

Beef

Calves

Carcass

Crude glycerine

Performance

### ABSTRACT

Three hundred and six Limousin young bulls ( $7 \pm 1$  months of age, initial body weight  $273 \pm 43$  kg) were used to evaluate the effect of crude glycerine supplementation on animal performance, carcass characteristics and meat quality. Animals were assigned to three different diets: Control (0% of crude glycerine), G2 and G4 (2 and 4% of crude glycerine, respectively). The diets were administered *ad libitum* for 240 days (final body weight  $644 \pm 24$  kg). Average daily weight gain, average daily feed intake, the gain:feed ratio, ultrasound measures *in vivo*, carcass characteristics, pH, water holding capacity, drip losses, and cooking losses were not affected ( $P > 0.05$ ) by diets. Diet decreased C16:0 ( $P < 0.01$ ) and C16:1 ( $P < 0.05$ ) contents in meat. The G4 meat showed lower C12:0, C14:0, C17:0, C18:0, C18:1, C18:2, C18:3, c9,t11-c18:2, C20:0 and C20:4 levels ( $P < 0.05$ ) than control. Glycerine increased desirable fatty acid percentages ( $P < 0.05$ ) in intramuscular fat.

© 2014 Elsevier Ltd. All rights reserved.

### 1. Introduction

Unstable prices in agriculture have led researchers to search for alternatives to use in animal feeding (MAGRAMA, 2011), among them co-products from different sectors, including agriculture distilleries and biodiesel production sectors (Klopfenstein, Erickson, & Bremer, 2008). In the case of biodiesel production, animal fat or vegetable oil are subjected to a transesterification process, using an alcohol (methanol or ethanol) in the presence of a catalyst. This reaction generates a glycerine co-product (glycerol) as an unrefined raw product (Leoneti, Aragao-Leoneti, & Oliveira, 2012). In a study of Mach, Bach, and Devant (2009), the Metabolizable Energy (ME) content of crude glycerine (86% purity) was considered as 3.47 Mcal/kg of dry matter (DM) for Holstein bulls fed high-concentrate diets so that it could replace raw materials like corn in the feed. This product has the advantage of being sweet-tasting so it is well accepted by animals (Schröder & Südekum, 1999). The use of glycerine in feedlot diets has also been evaluated in cattle (Bartoñ et al., 2013; Eiras et al., 2014; Françaço et al., 2013; Mach et al., 2009; Parsons, Shelor, & Drouillard, 2009) but in most cases glycerine was only provided for short time and high doses were used (Carvalho et al., 2014; Mach et al., 2009; Parsons et al., 2009). Crude glycerine is a difficult product to handle in feed factories, which may limit its incorporation level

in concentrates (Madrid et al., 2013). The effect of including crude glycerine in feed on meat quality has been evaluated in cattle (Mach, Bach, Velarde, & Devant, 2008; Mach et al., 2009; Parsons et al., 2009). However, the results were not consistent, since some authors found no difference in carcass and meat quality parameters (Mach et al., 2008), while other researchers had found changes in carcass (Gunn, Lemenager, Buckmaster, Claeys, & Lake, 2011) and meat quality parameters, for example loin area (Parsons & Drouillard, 2009), pH (Gardner & Pethick, 2003) and fat content (Françaço et al., 2013). In addition, a recent *in vitro* study found that glycerine addition to the diet showed to achieve reductions in ruminal lipolysis without adversely affecting rumen digestion (Edwards et al., 2012); this fact could contribute to modifying the meat or milk fatty acid profile.

In this sense, the aim of this research was to study the effect of crude glycerine supplementation at levels that feed factories can incorporate in feed on performance parameters, carcass characteristics (hot carcass weight, carcass length and dressing percentage) and meat quality (proximal composition, pH, colour, water holding capacity, cooking loss, fatty acid profile, sensory attributes) in Limousin bulls finished in feedlot.

### 2. Materials and methods

#### 2.1. Animals and dietary treatments

All procedures involving animals were approved by the Murcia University Ethics Committee in accordance with national and EU regulations and guidelines (EU Directive 86/609/CEE as modified by 2003/65/CE).

\* Corresponding author at: Department of Food Science and Technology, Veterinary Faculty, University of Murcia, Campus Universitario Espinardo, s/n. 30100 Espinardo, Murcia, Spain. Tel.: +34 868 88 36 94; fax: +34 968 367167.

E-mail address: [blinares@um.es](mailto:blinares@um.es) (M.B. Linares).

The study was carried out at Agrourbana Carthago Farm, Murcia, Spain. A total of 306 Limousin bulls, with an average initial body weight (BW) of  $273 \pm 43$  kg and approximately  $7 \pm 1$  months old were used in the study. The bulls were housed in nine pens (three pens per treatment). The pen (10 m × 30 m) included an area with a roof and straw bedding (100 m<sup>2</sup>) and another area with a concrete floor, a water bowl, and a feed bunk. Animals were randomly assigned one of three feed concentrates: 0 (Control, n = 102), 2 (G2, n = 102) and 4% (G4, n = 102) crude glycerine on a dry matter basis (DM), replacing barley grain (Table 1). The maximum crude glycerine level was established to be within the technological limits available to animal feed manufacturers. The crude glycerine (Abengoa Bioenergía San Roque Cádiz, Spain) contained 87.5% glycerol, 7.8% water, 5.9% ash, 3.0% chloride, 2.0% sodium and 0.05% methanol. All concentrates were formulated to be isoenergetic and isonitrogenous, and the recommendations of NRC (2000) were followed. Feed concentrate (in a mash form), barley straw (7.1% ash, 4.0% CP and 71.2% NDF; DM basis) and fresh water were offered *ad libitum*. The total experimental period was 240 days, during which the bulls reached an average final BW of  $644 \pm 24$  kg.

## 2.2. Feed analysis

Feed samples were analysed for dry matter (DM), crude protein (CP) and ash according to the AOAC (2006) procedures. Neutral and acid

detergent fibre (NDF and ADF, respectively) were determined following the method described by Van Soest, Robertson, and Lewis (1991). The mineral content of feed was determined by dry ashing using a muffle furnace at 550 °C. Ashes were solubilised with 50 mL of 0.6 N nitric acid and subsequently filtered. The phosphorus content of the diets was determined by the Molybdate–Vanadate method (AOAC, 2006). The Ca in feed samples was determined by atomic absorption spectroscopy (Unicam, Solaar M Series, Cambridge, United Kingdom). The glycerol content of feed was analysed by gas chromatography (TRACE GC Ultra, Thermo Electron Corporation, Milan, Italy), using a Tracsil TR-FFAP 30 m, 0.25 mm, 0.25 µm capillary column (Teknokroma, Barcelona, Spain) equipped with a flame ionization detector. The injector and detector temperatures were kept at 220 °C and 250 °C, respectively. Helium was used as a carrier gas at a flow of 2 mL/min with a split ratio of 1:25. Hydrogen, air and nitrogen fluxes were 30 mL/min, 300 mL/min and 30 mL/min, respectively. Calibration was carried out using standard samples of glycerol. Acetonitrile was added as internal standard. The injection volume was 1 L and analyses were performed in duplicate. The data handling system used to acquire and store data from gas chromatograph was Chrom Card (Thermo Electron, Rodano, Italy).

## 2.3. Animal measurements

Initial and final BW, and feed concentrate and straw intake were recorded throughout the assay and the average daily gain (ADG), average daily feed intake (ADFI) and gain:feed ratio (G:F) were calculated. Ultrasound scanning (Aloka Prosound 2, Hitachi Aloka Medical, Ltd. Japan, with a 172 mm, 3.5 MHz linear array transducer) was performed on previously shaved skin on the left side of five bulls randomly selected from each pen the day before slaughter. Vegetable oil was used to couple ultrasound. Three measurements were collected: transversal section in the 12th rib for the *Longissimus thoracis* muscle (LM) area, longitudinal section in the 12th rib for fat thickness and longitudinal section in rump for fat thickness as described by Greiner, Rouse, Wilson, Cundiff, and Wheeler (2003). All ultrasound images were taken and subsequently interpreted by a single technician to avoid inter-operator variance. The bulls selected for ultrasound measurement were individually weighed after each scan and used for carcass and meat study. Feed were withdrawn 8 h before slaughter. Water was available at all times. Therefore, five animals were taken from each replicate (15 per treatment) and transported (40 km, during 1 h) to the slaughterhouse. Slaughtering took place within 1 h of arrival. The animals were stunned by a captive bolt pistol, suspended by their hind leg and exsanguinated. The bulls were slaughtered according to (EU Council regulation 1099/2009) and dressed using standard commercial procedures.

## 2.4. Carcass traits

Following slaughter, hot carcass weight (HCW) was measured. Carcasses were stored at  $2 \pm 1$  °C for 24 h and then carcass weight (CW) and carcass length (CL) were recorded and the dressing percentage (DP) was calculated. Carcass pH was measured on *Longissimus thoracis* muscle between the 12th and 13th thoracic vertebrae, at 24 h (pH<sub>24</sub>) and 7 days (pH<sub>7</sub>) post slaughter, with a digital pH meter (Crison GLP21 equipment, Eutech, Singapore, Republic of Singapore) equipped with a penetrating electrode and thermometer (ISO-R-2917, 1999). The LM was dissected from the 4th to 10th ribs and the samples were stored for seven days at 4 °C for maturation (Mandell, Buchanan-Smith, & Campbell, 1998). Later, all loins were cut into 2 cm thick fillets and refrigerated (4 °C) for further analyses of moisture (%), fat (%), colour coordinates, water holding capacity (WHC), drip losses (DL) and cooking losses (CL). The rest of the samples were vacuum-packaged (R-RE; Industrias RAELMA, S.L., Madrid, Spain) and frozen (–18 °C) to be analysed later (protein, fatty acid profile, sensorial analysis).

**Table 1**  
Ingredients and nutrient composition of concentrates.

	Diets <sup>a</sup>		
	Control	G2	G4
<i>Diet ingredients (% DM basis)</i>			
Barley grain meal	42.7	40.3	38.0
Corn grain meal	30.0	30.0	30.0
Corn gluten feed	16.0	16.0	16.0
Soybean meal 47% CP	4.30	4.80	5.25
Palm oil	2.85	2.75	2.60
Crude glycerine <sup>b</sup>	–	2.00	4.00
Calcium carbonate	1.70	1.70	1.70
Urea	0.50	0.50	0.50
Salt	0.35	0.35	0.35
Sodium bicarbonate	0.45	0.45	0.45
Magnesium oxide	0.15	0.15	0.15
Vitamin-mineral premix <sup>c</sup>	1.00	1.00	1.00
<i>Analysed composition (DM basis)</i>			
Dry matter (%)	89.7	89.6	89.6
Ash (%)	6.58	6.41	6.44
Crude protein (%)	13.8	14.4	13.8
Crude fat (%)	5.64	5.61	5.52
NDF (%)	20.7	20.2	19.4
ADF (%)	6.78	5.63	5.80
Calcium (%)	0.85	0.77	0.89
Phosphorus (%)	0.39	0.41	0.39
Glycerol (%)	0.05	1.77	4.14
Net energy of fattening (Mcal/kg DM) <sup>d</sup>	2.12	2.13	2.13
<i>Fatty acid (% of total fatty acids)</i>			
Capric acid C10:0	0.02	0.02	0.02
Lauric acid C12:0	0.13	0.14	0.11
Myristic acid C14:0	0.69	0.75	0.67
Palmitic acid C16:0	30.8	30.0	30.0
Stearic acid C18:0	3.34	3.04	3.30
Oleic acid C18:1 cis-9	29.1	31.1	31.6
Linoleic acid C18:2	32.8	31.7	32.0
Linolenic acid C18:3	2.31	2.27	1.87

<sup>a</sup> Crude glycerine supplementation of 0, 2 and 4% for Control, G2 and G4 concentrates, respectively.

<sup>b</sup> Analysed composition: 87.5% glycerol, 7.8% water, 5.9% ash, 3.0% chloride, 2.0% sodium and 0.05% methanol.

<sup>c</sup> Provided (per kg of concentrate): vitamin A, 6,000 IU; vitamin D<sub>3</sub>, 800; vitamin E 15 mg; zinc (zinc oxide), 40 mg; Cu (copper sulfate), 5 mg; Se (sodium selenite), 0.20 mg; I (potassium iodide), 0.50 mg; Co (cobalt carbonate), 0.20 mg.

<sup>d</sup> Net energy was calculated according to FEDNA (2010).

## 2.5. Meat quality

The proximate composition (moisture, total protein, and intramuscular fat content) was determined following AOAC (2006) guidelines. Colour was measured using a CR-400 Chroma Meter (Minolta Ltd., Milton Keynes, United Kingdom) calibrated against a standard white tile (8 mm diameter aperture, d/0 illumination system, D65 illuminant and a 2° standard observer angle). The method described by Grau and Hamm (1953) to determine WHC was used. Results were expressed as percentage of initial sample weight. For the DL the samples (2 cm thick) were packaged in clear trays of crystal polystyrene (B5-37 aeropack; ALIAGA and Ortiz, SL, Alcantarilla, Spain) covered with a permeable film (MICAL® professional; Miquel Alimentació Group S.A.U., Vilamilla, Spain) and stored at 4 °C (Honikel, 1998). The slices were weighed 0, 72 and 120 h post-packing. Drip loss was expressed as a percentage of the initial sample weight. The CL was calculated as described by Vergara, Gallego, García, and Landete-Castillejos (2003). The meat samples (two steaks, 2 cm thick) were placed in polyethylene bags and were heated at 75 °C for 20 min in a water bath up to an internal temperature of 72 °C. The CL was expressed as a percentage of the initial sample weight. All meat quality measurements were made in triplicate.

## 2.6. Fatty acid profile

Fat extraction in feed and meat samples was made by the cold method described by Folch, Lees, and Sloane-Stanley (1957). After methylation, the fatty acid profile was analysed according to the UNE standard (ISO-R-5509, 1978), using a gas chromatograph (Trace GC Ultra; Thermo Finnigan, Milan, Italy). Samples were injected using an AI/AS 3000 auto sampler (Thermo Fisher Scientific, Milán, Italy). A GC capillary column (Forte; SGE, Ringwood, Australia), 60 m long and with an interior diameter of 0.25 mm and 0.25 µm film thickness was used for fatty acid separation. An initial temperature of 120 °C and a maximum of 250 °C were used. Helium was used as a carrier gas, at a flow speed of 3.2 mL/min. The methyl esters of fatty acids were quantified using undecanoic acid methyl ester as an internal standard, and the methyl-standard of each fatty acid was used as external standard to calculate a regression line.

## 2.7. Sensory analyses: Quality Descriptive Analyses (QDA)

The QDA panel was formed by eight panellists chosen from the University of Murcia staff, experienced in the profile assessment of different meat products (two men and six women from 24 to 45 years old). They were trained according to ISO 8586 (2012). Three training sessions were carried out: the first session to select descriptors for cooked beef and the other two sessions to quantify the attributes describing them. Fillets were taken out of the freezer 24 h before cooking and were kept under refrigeration at 4 °C. A double-sided grill (Media Liscia; Silanos Lavastoviglie Industriali, Pioltello, Italy) was previously heated at 170 °C for 5 min, both the top and the bottom of the grill were covered with aluminium foil and the steaks were cooked for 6 min, turning them every 2 min, to ensure uniform cooking, until the internal temperature reached 72 °C (portable T200 thermometer; Digitron Instrumentation Ltd., Hertford, United Kingdom). The samples were trimmed of any external connective tissue and cut into 2 × 2 cm samples. They were then wrapped in aluminium foil coded with a random three digit number and stored in a sand bath at 60 °C until tasting. Sample presentation was balanced to account for order and carryover effects (Macfie, Bratchell, Greehoff, & Vallis, 1989). Every panellist tasted a total of 6 samples of each treatment (total of 18 samples divided into three sessions). Mineral water and unsalted bread were provided for mouth rinsing between samples. Sensorial analysis was carried out according to ISO-R-4121 (2003) using an unstructured scale of 10 cm. The descriptors used were: aroma intensity, meat colour, colour intensity, flavour intensity, hardness, juiciness and chewiness.

## 2.8. Statistical analyses

All data were analysed using SPSS version 19.0 software (SPSS (2005), Inc., Chicago, IL). Data for growth performance were subjected to one-way ANOVA, with dietary treatment as the main effect. *In vivo* ultrasound data, carcass, meat quality, fatty acid profile and sensory variables were analysed using a mixed model to account for effects of dietary treatment, pen, and residual. The dietary treatment was considered as the fixed effect, whereas pen and residual were considered random effects. For *in vivo* ultrasound data, carcass weight and length, a second fixed effect was included as a covariate (final BW). The model for meat quality and fatty acid profile also included carcass weight as a covariate. The model for sensory variable also included the panellist as random effect. All reported means are least square means, and the significance level was set at  $P < 0.05$ . When the diet effect was significant, the Tukey test was used to make pair-wise comparisons.

## 3. Results and discussion

### 3.1. Performance

Table 2 presents the effect of crude glycerine supplementation on animal performance of the Limousin bulls. Crude glycerine incorporation up to 4% in the animal diet during the finishing period did not affect ( $P > 0.05$ ) the final BW, average daily gain, average daily feed intake or gain:feed ratio. The ADG and ADFI of animals were 1.54 kg/d and 8.97 kg/d respectively. Limousin bulls were raised following the typical intensive beef production system used in southern Spain, in which the feeding diet is composed of concentrate and cereal straw, both offered *ad libitum*. The percentage of concentrate in the diet was 84, 85 and 83% for control, G2 and G4, respectively but no effect of crude glycerine supplementation on concentrate or straw intake was observed ( $P > 0.05$ ). Mach et al. (2009) indicated that crude glycerine inclusion up to 12% did not affect feed intake in Holstein bulls. In contrast, Parsons et al. (2009) found that dry matter intake decreased linearly as the concentration of glycerine in the diet increased (from 0 to 16%), probably due to the negative effect that glycerine has on ruminal microbiota (Roger, Fonty, Andre, & Gouet, 1992). The results of the present study agree with previous studies, where no negative effects on ADG were described in cattle fed with glycerine (Bartoñ et al., 2013; Mach et al., 2009). In contrast, Parsons et al. (2009) obtained different results for heavy animals (421 kg initial BW) fed different crude glycerine levels instead of flaked meal corn for 85 days. When animals were fed crude glycerine levels at 2, 4 and 8%, ADG increased, but decreased at higher levels of

**Table 2**  
Effect of crude glycerine supplementation on feed intake, growth performance and ultrasound measurements of bulls.

	Treatment <sup>a</sup>			SEM	P-value <sup>b</sup>
	Control	G2	G4		
Initial body weight (kg)	282	254	283	15.1	NS
Final body weight (kg)	646	637	648	9.33	NS
Average daily gain (kg/d)	1.51	1.60	1.52	0.02	NS
Average daily feed intake (kg DM/d)					
Concentrate	7.53	7.78	7.42	0.134	NS
Straw	1.39	1.36	1.44	0.028	NS
Total intake	8.93	9.14	8.87	0.158	NS
Gain:feed (kg/kg)	0.170	0.176	0.173	0.004	NS
Ultrasound measurements <sup>c</sup>					
Muscle LM area (cm <sup>2</sup> )	104.3	103.1	104.3	0.77	NS
Fat thickness at 12th rib (mm)	11.0	9.54	9.94	0.31	NS
Rump fat thickness (mm)	9.46	8.14	8.78	0.24	NS

SEM = Standard error of the mean.

<sup>a</sup> rude glycerine supplementation of 0, 2 and 4% for Control, G2 and G4 concentrates, respectively.

<sup>b</sup> Effect of treatment. NS: not significant.

<sup>c</sup> Final live weight used as covariate in the statistical model (mean = 650.2 kg).

glycerine (12 and 16%). The type of ingredient replaced could influence performance, since they may be more or less energetic. In addition, the glycerine, fat, salt and methanol content of the crude glycerine used may affect the results (Hanczakowska, Węglarz, Szymczyky, & Hanczakowski, 2010; Schieck, Shurson, Kerr, & Johnston, 2010). The G:F ratio was not affected by glycerine addition, which agrees with Mach et al. (2009), who included up to 12% glycerol in the diet for Holstein bulls. However, some studies recorded an improvement in the G:F ratio after adding glycerine to the diets (Parsons et al., 2009).

No effect of crude glycerine supplementation on the *in vivo* ultrasound parameters was observed ( $P > 0.05$ ; Table 2). Thus, there was no effect on LM area ( $P > 0.05$ ). The ultrasound fat measurements (fat thickness 12th rib and rump fat thickness) were not affected by crude glycerine supplementation ( $P > 0.05$ ). In contrast, Parsons et al. (2009) found a reduction in subcutaneous fat in animals fed glycerine (up to 16%). The differences between these results may be due to the higher levels used by other authors. High levels of glycerine were reported to adversely affect rumen fermentation through reducing fibre digestion and acetate production (used for fat synthesis in ruminants) due to the alteration of bacterial populations (Abo El-Nor, AbuGhazaleh, Potu, Hastings, & Khattab, 2010).

### 3.2. Carcass and proximal composition

In the present study, the inclusion of crude glycerine in the diet had no effect ( $P > 0.05$ ) on HCW, CW, DP or Cle (Table 3). Glycerine seems to provide a similar amount of metabolizable energy as barley, since it is converted into volatile fatty acids (VFA) in the rumen (Mach et al., 2009) and these VFA provide energy to the animal. This fact permits normal growth and normal carcass values, as we found in this study. This agrees with previous studies (Françoze et al., 2013; Mach et al., 2009) that found no differences in CW and DP in bulls fed crude glycerine up to 12%. However, there is some controversy in this respect, since Parsons et al. (2009) found that CW could be effectively increased by including glycerine up to 8% in a steam-flaked corn heifer diet for 85 days,

the optimum being 2% crude glycerine. In contrast, the CW was reduced when 12 and 16% crude glycerine were used in the diet. An explanation for this might be the lower intake of feed when glycerine is used up to 10% (Schröder and Südekum, 1999).

Dietary treatment did not affect ( $P > 0.05$ ) the proximal composition of LM (moisture, intramuscular fat and protein) (Table 3). Other authors (Bartoň et al., 2013; Eiras et al., 2014; Françoze et al., 2013) found similar results using crude glycerine in bull feed. The total fat content was not altered because energy intake was similar in the three groups, thus the control and crude glycerine diets were calculated to be isoenergetic. The energy balance and adipose tissue deposition result from the maintenance of a proper balance between energy intake and energy expenditure (Nürnberg, Wegner, & Ender, 1998).

### 3.3. Meat quality parameters

Table 3 shows the effect of glycerol inclusion in the animal diet on meat quality parameters. Crude glycerine inclusion had no effect ( $P > 0.05$ ) on the pH of beef 24 h and 7 days after slaughter or on the colour parameters ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  and  $H^*$ ). These results agree with Mach et al. (2008) who used crude glycerine in Holstein bull diets. Similarly, Françoze et al. (2013) found no differences between control and crude glycerine (5 and 12%) groups in Nellore bull meat.

There was no dietary effect ( $P > 0.05$ ) of crude glycerine inclusion on WHC, CL or DL. In contrast, studies in the non-ruminant found different results for these parameters. Thus, Mourot, Aumaitre, Mounier, Peiniau, and Francois (1994) found a reduction in water losses and cooking losses in pigs fed 5% glycerol because the glycerol increased cell osmotic pressure, increasing the intracellular water content, which would increase the water holding capacity. These differences between species may be explained with the fact that in glycerol is absorbed without being transformed in the pig stomach, while in ruminants, 80% of glycerol is transformed in the rumen into volatile fatty acids (VFA) (Mach et al., 2009), so suggesting a low absorption of the unchanged glycerol molecule. Consequently, water holding parameters in ruminant meat may not be altered by glycerol feeding, as is demonstrated in the current study and previously in beef (Françoze et al., 2013; Mach et al., 2008).

### 3.4. Fatty acid profile

Table 4 presents the fatty acid profile of the LM intramuscular fat of the dietary groups. The levels of C10:0 and t10, c12-C18:2 were similar for the different treatments ( $P > 0.05$ ). Diet treatment decreased C16:0 ( $P < 0.01$ ) and C16:1 ( $P < 0.05$ ) contents. Meat from the G4 group showed lower levels of C12:0, C14:0, C17:0, C18:0, C18:1, C18:2, C18:3, c9,t11-c18:2, and C20:0 ( $P < 0.05$ ) than control group. Regarding fatty acid profile SFA, MUFA, PUFA and MUFA showed no statistical differences between treatments. However, both glycerine-fed groups showed higher percentage ( $P < 0.05$ ) of desirable fatty acids (DFA) than the control group (65.3, 67.1 and 66.9% for control, G2 or G4, respectively). According to Rhee, Anderson, and Sams (1996) the DFA are all the unsaturated fatty acids (UFA) and C18:0, which are considered healthy for humans because of their potential ability to reduce plasma cholesterol levels (Scollan et al., 2006). Carvalho et al. (2014) who administered higher levels of crude glycerine (12 and 18%) to young bulls for a shorter time (84 days) also found a healthier fatty acid profile in the meat due to its higher content of 18:1. So, animal feeding with crude glycerine seems to improve the health properties of beef. This increment of DFA could be attributed in part to a rise ( $P < 0.05$ , data not shown) of the percentage arachidonic acid (C20:4) in profile fat for glycerine groups (23 and 37% for G2 and G4, respectively).

Supplementing the diet with glycerol might be expected to achieve reductions in ruminal lipolysis, and therefore increase unsaturated fatty acid proportions in muscle fat, since monounsaturated and polyunsaturated fatty acid suffer a ruminal biohydrogenation process,

**Table 3**  
Carcass and meat quality parameters of Limousin bulls fed crude glycerine.

	Treatment <sup>a</sup>			SEM	P-value <sup>b</sup>
	Control	G2	G4		
<i>Carcass quality</i>					
Hot carcass weight (kg)	400.1	404.9	403.6	2.56	NS
Carcass weight (kg)	392.1	396.8	395.5	2.50	NS
Carcass Length (cm)	134.7	132.7	133.9	1.69	NS
Dressing percentage	61.5	62.2	62.1	0.380	NS
<i>Meat quality</i> <sup>c</sup>					
Moisture	72.8	72.3	72.4	0.54	NS
Intramuscular fat	3.35	2.32	2.22	0.37	NS
Protein	21.9	22.4	22.2	0.48	NS
pH24	5.63	5.62	5.48	0.05	NS
pH7	5.56	5.54	5.77	0.02	NS
$L^*$	35.4	34.0	35.2	6.59	NS
$a^*$	20.7	20.0	19.8	0.36	NS
$b^*$	6.14	5.57	5.73	0.80	NS
$H^*$	16.3	15.3	15.7	1.90	NS
$C^*$	21.6	20.8	20.8	0.54	NS
WHC	73.0	72.7	70.0	2.55	NS
DL72	1.62	1.82	1.67	0.42	NS
DL120	2.68	2.80	2.77	0.26	NS
DLfinal	1.07	1.07	1.09	0.15	NS
CL	27.9	30.4	28.0	1.33	NS

SEM = Standard error of the mean.

pH24: pH measurements taken at 24 h after slaughter; pH7: pH measurements taken 7 days after slaughter; WHC: water holding capacity, DL: drip loss, CL: cooking loss,  $L^*$ : lightness,  $a^*$ : redness,  $b^*$ : yellowness,  $H^*$ : Hue,  $C^*$ : Chroma.

<sup>a</sup> Crude glycerine supplementation of 0, 2 and 4% for Control, G2 and G4 concentrates, respectively.

<sup>b</sup> Effect of treatment. NS: not significant.

<sup>c</sup> Carcass weight used as covariate in the statistical model (mean = 394.9 kg).

**Table 4**

Fatty acid profile of intramuscular fat of meat from bulls fed crude glycerine (mg/100 g meat).

Item <sup>3</sup>		Treatment <sup>1</sup>			SEM	P-value <sup>2</sup>
		Control	G2	G4		
C10:0	Capric acid	2.59	3.43	2.75	1.358	NS
C12:0	Lauric acid	2.30 <sup>a</sup>	1.85 <sup>ab</sup>	1.33 <sup>b</sup>	0.462	0.006
C14:0	Myristic acid	50.6 <sup>a</sup>	38.0 <sup>ab</sup>	29.0 <sup>b</sup>	9.38	0.015
C16:0	Palmitic acid	543.5 <sup>a</sup>	454.9 <sup>b</sup>	309.3 <sup>c</sup>	104.58	0.009
C16:1	Palmitoleic acid	54.5 <sup>a</sup>	40.1 <sup>b</sup>	33.9 <sup>b</sup>	10.26	0.016
C17:0	Margaric acid	18.4 <sup>a</sup>	14.4 <sup>ab</sup>	10.9 <sup>b</sup>	2.94	0.008
C18:0	Stearic acid	372.0 <sup>a</sup>	316.3 <sup>a</sup>	179.4 <sup>b</sup>	81.30	0.002
C18:1	Oleic acid	685.5 <sup>a</sup>	524.5 <sup>ab</sup>	358.6 <sup>b</sup>	156.27	0.002
C18:2	Linoleic acid	126.3 <sup>a</sup>	102.0 <sup>ab</sup>	77.4 <sup>b</sup>	20.91	0.008
C18:3	Linolenic	3.08 <sup>a</sup>	2.58 <sup>a</sup>	1.61 <sup>b</sup>	0.479	0.001
c9,t11-c18:2		3.58 <sup>a</sup>	2.95 <sup>a</sup>	1.51 <sup>b</sup>	0.876	0.001
t10,c12-C18:2		0.14	0.19	0.09	0.050	NS
C20:0	Arachidic acid	2.31 <sup>a</sup>	2.01 <sup>a</sup>	1.08 <sup>b</sup>	0.497	0.001
C20:4	Eicosatetraenoic acid	55.5 <sup>a</sup>	46.0 <sup>ab</sup>	36.9 <sup>b</sup>	6.79	0.028
<i>Fatty acid profile</i>						
SFA (%)		52.0	52.7	51.1	0.38	NS
UFA (%)		36.5	35.7	36.3	1.16	NS
PUFA (%)		10.3	11.9	12.6	1.18	NS
TUFA (%)		46.9	47.3	48.9	0.37	NS
UFA/SFA		0.70	0.67	0.71	0.02	NS
PUFA/SFA		0.20	0.22	0.24	0.02	NS
TUFA/SFA		0.90	0.90	0.96	0.01	NS
DFA (%)		65.3 <sup>b</sup>	67.1 <sup>a</sup>	66.9 <sup>a</sup>	0.30	0.044

<sup>ab</sup>Means in the same row with different letters differ by the Tukey test ( $P < 0.05$ ). SEM = Standard error of the mean.

SFA: saturated fatty acid; TUFA: total unsaturated fatty acid. MUFA: monounsaturated fatty acid; PUFA: polyunsaturated fatty acid, DFA: desirable fatty acid (PUFA + C18:0).

<sup>1</sup> Crude glycerine supplementation of 0, 2 and 4% for Control, G2 and G4 concentrates, respectively.

<sup>2</sup> Effect of treatment. NS: not significant.

<sup>3</sup> Carcass weight used as covariate in the statistical model (mean = 394.9 kg).

which is responsible for the saturation of the dietary fatty acids in ruminants (Edwards et al., 2012). Edwards et al. (2012) demonstrated that glycerol inhibited ruminal digestion of lipid *in vitro*. It is possible that glycerol consumption inhibited the biohydrogenation of C18:2, which is a precursor of C20:4 (Relling & Reynolds, 2007), which would result in increased levels of these acids. Françoze et al. (2013) found that C14:0, C16:1 and 18:3 ( $n-3$ ) were higher in the muscles of Nelore bulls fed 12% glycerine in their diet. Also, C15:0 and C20:5 ( $n-3$ ) were lower in the muscles of the bulls fed glycerine. The percentage of other fatty acids was not affected by dietary treatment. Such differences between authors may be due to several factors, such as the type of cereal replaced (barley or corn), which would produce diets of different fatty acid compositions. Another factor could be the species used (*Bos taurus* or *Bos indicus*). For example, animals with Zebu features have higher levels of unsaturated fatty acids due to their muscle characteristics (Ducatti et al., 2009; Rotta et al., 2009). In addition, the apparent disagreement concerning the effect that feeding glycerine has on the fatty profile of cattle could be due to differences in the amount and profile of the fatty acids remaining in the crude glycerine (Lammers et al., 2008). In the present study, low levels of crude glycerine included in a bull diet throughout the fattening period, increased C20:4 percentage and DFA in intramuscular fat.

### 3.5. Sensory analysis

The sensory test parameters (QDA) of meat from the three treatment groups are presented in Table 5. The sensory attributes aroma intensity, flavour intensity, hardness and chewiness, were not affected by crude glycerine treatments ( $P > 0.05$ ). These results agree with those of Eiras et al. (2014), who found no differences in flavour or tenderness on beef from bulls fed with crude glycerine (up to 18%). Group fed 4% of crude glycerine presented differences with respect to the control and

**Table 5**

Sensory parameters of QDA test of beef from bulls fed crude glycerine.

	Treatment <sup>1</sup>			SEM	P-value <sup>2</sup>
	Control	G2	G4		
Aroma intensity	9.07	9.30	9.23	0.07	NS
Meat colour	9.48 <sup>a</sup>	9.50 <sup>a</sup>	9.23 <sup>b</sup>	0.04	0.016
Colour intensity	5.24 <sup>b</sup>	5.21 <sup>b</sup>	5.91 <sup>a</sup>	0.18	<0.001
Flavour intensity	8.68	8.96	8.82	0.25	NS
Hardness	5.49	5.36	5.02	0.16	NS
Juiciness	5.43 <sup>b</sup>	5.40 <sup>b</sup>	5.83 <sup>a</sup>	0.14	0.013
Chewiness	5.52	5.39	5.20	0.15	NS

<sup>a-b</sup>Means in the same row with different letters differ by the Tukey test ( $P < 0.05$ ).

SEM = Standard error of the mean.

<sup>1</sup> Crude glycerine supplementation of 0, 2 and 4% for Control, G2 and G4 concentrates, respectively.

<sup>2</sup> Effect of treatment. NS: not significant.

G2 on meat colour ( $P < 0.05$ ) and colour intensity ( $P < 0.001$ ). Previous researchers indicated that crude glycerine could promote Maillard reactions (Reid, Sajjaanantakul, Lillford, & Charoenrein, 2010), which makes products darker. Juiciness ( $P < 0.05$ ) was increased in the G4 group. Since there were no differences in the measurements of WHC, DL and CL, it is probable that the difference may be due to the preservative effect of glycerol during storage in freezing meat. Previous studies have demonstrated that crude glycerine protects plasma membrane integrity in frozen sperm (Silva et al., 2012). Thus, one possible explanation for increased juiciness is lower damage to the membranes of muscular cells in the G4 samples.

## 4. Conclusion

Crude glycerine is an available replacement for barley meal in Limousin bulls' diets up to 4% during all fattening periods (240 days), with no negative effects on performance, carcass or meat quality. Crude glycerine used at 2 and 4% seems to improve the fatty acid profile of meat fat thus an increase in arachidonic acid and DFA percentage was observed. In addition, the juiciness of frozen beef was increased when crude glycerine in feed was included at 4%.

## References

- Abo El-Nor, S., AbuGhazaleh, A. A., Potu, R. B., Hastings, D., & Khattab, M. S. A. (2010). Effects of differing levels of glycerol on rumen fermentation and bacteria. *Animal Feed Science and Technology*, 162(3), 99–105.
- AOAC (2006). *Association of Official Analytical Chemists, Official Methods of Analysis of AOAC International* (14th ed.). U.S.A.: Arlington Virginia: Inc.
- Bartoň, L., Bureš, D., Homolka, P., Jančík, F., Marounek, M., & Řehák, D. (2013). Effects of long-term feeding of crude glycerine on performance, carcass traits, meat quality, and blood and rumen metabolites of finishing bulls. *Livestock Science*, 155(1), 53–59.
- Carvalho, J. R. R., Chizzotti, M. L., Ramos, E. M., Machado Neto, O. R., Lanna, D. P. D., Lopes, L. S., Teixeira, P. D., & Ladeira, M. M. (2014). Qualitative characteristics of meat from young bulls fed different levels of crude glycerine. *Meat Science*, 96(2), 977–983.
- Ducatti, T., Prado, I. N., Rotta, P. P., Prado, R. M., Perotto, D., Maggioni, D., & Visentainer, J. V. (2009). Chemical composition and fatty acid profile in crossbred (*Bos taurus* vs. *Bos indicus*) young bulls finished in a feedlot. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 22(3), 433–439.
- Edwards, H., Anderson, R., Miller, R., Taylor, T., Hardin, M., Smith, S., Krueger, N., & Nisbet, D. (2012). Glycerol inhibition of ruminal lipolysis *in vitro*. *Journal of Dairy Science*, 95(9), 5176–5181.
- Eiras, C. E., Marques, J. A., Prado, R. M., Valero, M. V., Bonafé, E. G., Zawadzki, F., Perotto, D., & Prado, I. N. (2014). Glycerin levels in the diets of crossbred bulls finished in feedlot: Carcass characteristics and meat quality. *Meat Science*, 96, 930–936.
- Folch, J., Lees, M., & Sloane-Stanley, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226(1), 497–509.
- Françoze, M. C., Prado, I. N., Cecato, U., Valero, M. V., Zawadzki, F., Ribeiro, O. L., Prado, R. M., & Visentainer, J. V. (2013). Growth performance, carcass characteristics and meat quality of finishing bulls fed crude glycerine-supplemented diets. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 56(2), 327–336.
- Fundación Española Desarrollo Nutrición Animal (2010). In C. De Blas, G. G. Mateos, & P. G. Rebollar (Eds.), *Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos* (3rd edition). Madrid, Spain: FEDNA.
- Gardner, G., & Pethick, D. (2003). *Dark cutting beef and strategies to reduce it*, 1. (pp. 90–94). Armidale Feeder Steers School, 90–94.

- Grau, R., & Hamm, R. (1953). Eine einfache methode zur bestimmung der wasserbindung im muskel. *Naturwissenschaften*, 40(1), 29–30.
- Greiner, S., Rouse, G., Wilson, D., Cundiff, L., & Wheeler, T. (2003). Prediction of retail product weight and percentage using ultrasound and carcass measurements in beef cattle. *Journal of Animal Science*, 81(7), 1736–1742.
- Gunn, P., Lemenager, R., Buckmaster, D., Claeys, M., & Lake, S. (2011). Effects of dried distillers grains with solubles and crude glycerin on performance, carcass characteristics, and metabolic parameters of early weaned beef calves. *The Professional Animal Scientist*, 27(4), 283–294.
- Hanczakowska, E., Węglarz, K., Szymczyky, B., & Hanczakowski, P. (2010). Effect of adding crude or refined glycerol to pig diets on fattening performance, nutrient digestibility and carcass evaluation. *Animal Science*, 1(1), 67–73.
- Honikel, K. O. (1998). Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. *Meat Science*, 49(4), 447–457.
- ISO 8586 (2012). *Sensory analysis methodology—General guidance for the selection, training and monitoring of assessors. Part 1. Selected assessors*. International Organization for Standardization Publication ([www.iso.org](http://www.iso.org)).
- ISO-R-2917 (1999). *Meat and meat products — Measurement of pH. Method ISO R-2917*. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization.
- ISO-R-4121 (2003). *Sensory analysis. Guidelines for the use of quantitative responses scales. Method ISO R-4121*. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization.
- ISO-R-5509 (1978). *Animal and vegetable fats and oils — Preparation of methyl esters of fatty acids. Method ISO 5509*. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization.
- Klopfenstein, T. J., Erickson, G. E., & Bremer, V. R. (2008). Board-invited review: Use of distillers by-products in the beef cattle feeding industry. *Journal of Animal Science*, 86(5), 1223–1231.
- Lammers, P. J., Kerr, B. J., Weber, T. E., Bregendahl, K., Lonergan, S. M., Prusa, K. J., Ahn, D. U., Stoffregen, W. C., Dozier, W. A., III, & Honeyman, M. S. (2008). Growth performance, carcass characteristics, meat quality, and tissue histology of growing pigs fed crude glycerin-supplemented diets. *Journal of Animal Science*, 86(11), 2962–2970.
- Leoneti, A. B., Aragao-Leoneti, V., & Oliveira, S. V. W. B. (2012). Glycerol as a by-product of biodiesel production in Brazil: Alternatives for the use of unrefined glycerol. *Renewable Energy*, 45, 138–145.
- Macfie, H. J., Bratchell, N., Greehoff, K., & Vallis, L. V. (1989). Designs to balance the effect of order of presentation and first order carry over effect in hall tests. *Journal of Sensory Studies*, 4(2), 129–148.
- Mach, N., Bach, A., & Devant, M. (2009). Effects of crude glycerin supplementation on performance and meat quality of Holstein bulls fed high-concentrate diets. *Journal of Animal Science*, 87(2), 632–638.
- Mach, N., Bach, A., Velarde, A., & Devant, M. (2008). Association between animal, transportation, slaughterhouse practices, and meat pH in beef. *Meat Science*, 78(3), 232–238.
- Madrid, J., Villodre, C., Valera, L., Orengo, J., Martínez, S., López, M., Megías, M., & Hernández, F. (2013). Effect of crude glycerin on feed manufacturing, growth performance, plasma metabolites, and nutrient digestibility of growing-finishing pigs. *Journal of Animal Science*, 91(8), 3788–3795.
- MAGRAMA (2011). *El consumo alimentario en España año 2011* (20th ed.), vol. 1, Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente Madrid, España.
- Mandell, I. B., Buchanan-Smith, J. G., & Campbell, C. P. (1998). Effects of forage vs grain feeding on carcass characteristics, fatty acid composition, and beef quality in Limousin-cross steers when time on feed is controlled. *Journal of Animal Science*, 76(10), 2619–2630.
- Mourou, J., Aumaitre, A., Mounier, A., Peiniau, P., & Francois, A. (1994). Nutritional and physiological effects of dietary glycerol in the growing pig. Consequences on fatty tissues and post mortem muscular parameters. *Livestock Production Science*, 38(3), 237–244.
- NRC (2000). *Nutrient requirements of beef cattle* (7th ed.). Washington DC: Natl. Acad. Press.
- Nürnberg, K., Wegner, J., & Ender, K. (1998). Factors influencing fat composition in muscle and adipose tissue of farm animals. *Livestock Production Science*, 56(2), 145–156.
- Parsons, G. L., & Drouillard, J. S. (2009). Effects of crude glycerin on ruminant metabolism and digestibility when fed in combination with steam-flaked corn. *Ruminant physiology: Digestion, metabolism and effects of nutrition on reproduction and welfare: Proceedings of the XIth international symposium on ruminant physiology* (pp. 310). Wageningen Academic Pub.
- Parsons, G. L., Shelor, M. K., & Drouillard, J. S. (2009). Performance and carcass traits of finishing heifers fed crude glycerin. *Journal of Animal Science*, 87(2), 653–657.
- Reid, D. S., Sajjaanantakul, T., Lillford, P. J., & Charoenrein, S. (2010). *Water properties in food, health, pharmaceutical, and biological systems: ISOPOW 10*. Wiley-Blackwell: USA Pp 616.
- Relling, A. E., & Reynolds, C. K. (2007). Feeding rumen-inert fats differing in their degree of saturation decreases intake and increases plasma concentrations of gut peptides in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90(3), 1506–1515.
- Rhee, K. S., Anderson, L. M., & Sams, A.R. (1996). Lipid oxidation potential of beef, chicken, and pork. *Journal of Food Science*, 61(1), 8–12.
- Roger, V., Fonty, G., Andre, C., & Gouet, P. (1992). Effects of glycerol on the growth, adhesion, and cellulolytic activity of rumen cellulolytic bacteria and anaerobic fungi. *Current Microbiology*, 25(4), 197–201.
- Rotta, P. P., Prado, R. M., Prado, I. N., Valero, M. V., Visentainer, J. V., & Silva, R. R. (2009). The effects of genetic groups, nutrition, finishing systems and gender of Brazilian cattle on carcass characteristics and beef composition and appearance: a review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 22(12), 1718–1734.
- Schieck, S. J., Shurson, G. C., Kerr, B. J., & Johnston, L. J. (2010). Evaluation of glycerol, a biodiesel coproduct, in grow-finish pig diets to support growth and pork quality. *Journal of Animal Science*, 88, 3927–3935.
- Schröder, A., & Südekum, K. H. (1999). Glycerol as a by-product of biodiesel production in diets for ruminants. In N. Wratten, & P. A. Salisbury (Eds.), *New Horizons for an Old Crop. Proc. 10th Int. Rapeseed Congr., Canberra, Australia. Paper no. 241, vol. 1*. (pp. 1–10). Gosford, New South Wales, Australia: The Regional Institute Ltd (Canberra).
- Scollan, N., Hocquette, J. F., Nuernberg, K., Dannenberger, D., Richardson, I., & Moloney, A. (2006). Innovations in beef production systems that enhance the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. *Meat Science*, 74(1), 17–33.
- Silva, E., Cajueiro, J., Silva, S., Vidal, A., Soares, P., & Guerra, M. (2012). *In vitro* evaluation of ram sperm frozen with glycerol, ethylene glycol or acetamide. *Animal Reproduction Science*, 132(3), 155–158.
- SPSS (2005). *Statistical package for the social science for Windows user's guide release 11.5, IL, USA*. 44aN, Michigan Avenue, Chicago: SPSS Inc.
- Van Soest, P. J., Robertson, J. B., & Lewis, B.A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74(10), 3583–3597.
- Vergara, H., Gallego, L., García, A., & Landete-Castillejos, T. (2003). Conservation of Cervus elaphus meat in modified atmospheres. *Meat Science*, 65(2), 779–783.

Manuscript Number:

Title: Pre-slaughter administration of glycerol as carbohydrate precursor and osmotic agent to improve carcass and beef quality

Article Type: Research Paper

Keywords: Glycerol, by-product, carcass, beef quality, sensory evaluation, water holding capacity

Corresponding Author: Prof. Maria Dolores Garrido, PhD

Corresponding Author's Institution: University of Murcia

First Author: Macarena Egea

Order of Authors: Macarena Egea; María Belén Linares; Fuensanta Hernández; Josefa Madrid; Maria Dolores Garrido, PhD

Abstract: Glycerol is a by-product from biodiesel production. This molecule is a carbohydrate precursor, thus it makes it interesting for maintaining the pH of beef at <5.8 after slaughter, contributing to the prevention of Dry Firm Dark (DFD) meat. Furthermore, glycerol osmotic properties could contribute to alleviating the effects of some stress situations. The aim of this study was to evaluate the effect of administering crude glycerol (2 g kg<sup>-1</sup> body weight; via nasogastric tube or drinking water) 24 h prior to the slaughter of young bulls, on plasma parameters, liver glycogen levels, carcass (body weight, dressing percentage, carcass weight and length), and beef quality (proximal composition, pH, colour, water holding capacity (WHC), drip loss, cooking loss, and sensory attributes). In general, the plasma parameters and liver glycogen were not affected by glycerol administration ( $P>0.05$ ). Transport had a significant effect on total protein, albumin, glucose, sodium, potassium, chloride, and lactate plasma levels. Carcass parameters, proximal composition, pH, colour and sensory attributes were not affected ( $P>0.05$ ) by glycerol treatment but WHC was ( $P<0.05$ ). The glycerol did not affect the stress markers in plasma during the transport, carcass or meat quality negatively, but it seems to improve WHC of beef.

Suggested Reviewers: Ivanor Nunes do Prado  
Department of Animal Science, State University of Maringá, University of Maringá  
inprado@uem.br

José Manuel Lorenzo  
Centro tecnologico de la carne  
jmlorenzo@ceteca.net

Patricia Bonato  
bonatop@fcal.uner.edu.ar

## **Highlights**

Plasma parameters and liver glycogen levels were not altered by glycerol treatment. Glycerol given to young bulls did not modify carcass quality. Glycerol did not affect proximal composition, pH, colour or sensory beef quality. The WHC was improved by the administration of 1200 mL glycerol 24 h before slaughter. A similar effect was observed with both types of glycerol administration.



1     **Pre-slaughter administration of glycerol as carbohydrate precursor and osmotic**  
2                                   **agent to improve carcass and beef quality.**

3

4     **Macarena Egea<sup>a</sup>, María Belén Linares<sup>a</sup>, Fuensanta Hernández<sup>b</sup>, Josefa Madrid<sup>b</sup>,**  
5                                   **María Dolores Garrido<sup>a,\*</sup>**

6

7

8

9           <sup>a</sup>Department of Food Science and Technology, Veterinary Faculty, University of  
10                                   Murcia, Espinardo, 30071, Murcia, Spain.

11   <sup>b</sup>Department of Animal Nutrition, Veterinary Faculty, University of Murcia, Espinardo,  
12                                   30071, Murcia, Spain.

13   \*Corresponding author: mgarrido@um.es. Telephone: +34868884708. Department of  
14   Food Science and Technology, Veterinary Faculty, University of Murcia, Espinardo,  
15                                   30071, Murcia, Spain

16

17 **Abstract**

18 Glycerol is a by-product from biodiesel production. This molecule is a carbohydrate  
19 precursor, thus it makes it interesting for maintaining the pH of beef at <5.8 after  
20 slaughter, contributing to the prevention of Dry Firm Dark (DFD) meat. Furthermore,  
21 glycerol osmotic properties could contribute to alleviating the effects of some stress  
22 situations. The aim of this study was to evaluate the effect of administering crude  
23 glycerol (2 g kg<sup>-1</sup> body weight; via nasogastric tube or drinking water) 24 h prior to the  
24 slaughter of young bulls, on plasma parameters, liver glycogen levels, carcass (body  
25 weight, dressing percentage, carcass weight and length), and beef quality (proximal  
26 composition, pH, colour, water holding capacity (WHC), drip loss, cooking loss, and  
27 sensory attributes). In general, the plasma parameters and liver glycogen were not  
28 affected by glycerol administration ( $P>0.05$ ). Transport had a significant effect of on  
29 total protein, albumin, glucose, sodium, potassium, chloride, and lactate plasma levels.  
30 Carcass parameters, proximal composition, pH, colour and sensory attributes were not  
31 affected ( $P>0.05$ ) by glycerol treatment but WHC was ( $P<0.05$ ). The glycerol did not  
32 affect the stress markers in plasma during the transport, carcass or meat quality  
33 negatively, but it seems to improve WHC of beef.

34 **Keywords:** Glycerol, by-product, carcass, beef quality, sensory evaluation, water  
35 holding capacity

36 **1. Introduction**

37 Recent interest in biodiesel as a renewable energy resource has led to the production to  
38 large amounts of glycerol as a by-product. Several studies have identified animal feed as  
39 a possible use for unrefined glycerol (Della Casa et al., 2009; Lammers et al., 2008;  
40 Parsons et al., 2009), since the molecule may be converted into glucose in the liver and

41 provide energy through the gluconeogenic pathway (Mach et al., 2009). This makes it  
42 interesting for maintaining the pH of beef at <5.8 after slaughter, contributing to the  
43 prevention of Dry Firm Dark (DFD) meat, which causes substantial economic losses in  
44 the beef meat market (Brandon, 2004). Indeed, some Spanish meat industries penalize  
45 carcass price with discounts of 30% when meat pH measured 24h after slaughter is  
46 greater than 5.8 (Mach et al., 2008a). Glycerol supplementation might therefore be  
47 considered for preventing the pH of beef from exceeding 5.8 (Parker et al., 2007).  
48 Furthermore, osmotic properties have been attributed to glycerol, which could  
49 contribute to alleviating the effects of some stress situations, such as long distance  
50 transport, by maintaining body water content, which contributes to preserving muscle  
51 quality (Parker et al., 2007). Research in human has shown that glycerol included in  
52 sports soft drinks increases water retention in high-performance athletes (Anderson et  
53 al., 2001, Wagner, 1999). The ingestion of this type of drink before exercise results in  
54 hyperhydration of the body cells so, in a parallel way, glycerol could prevent water  
55 losses in meat, while improving some quality attributes like juiciness and tenderness  
56 (Offer and Knight, 1988).

57 In *Bos indicus* steers, Parker et al.(2007) concluded that glycerol administration at 2 g  
58 kg<sup>-1</sup> body weight before transport in a single dose, shows promise as a prophylactic  
59 treatment for attenuating the effects of long distance transportation by maintaining body  
60 water, decreasing the energy deficit and preserving health and muscle quality. However,  
61 the authors did not study the effect of glycerol on carcass or beef quality.

62 The aims of this research were to study the effect of pre-slaughter glycerol  
63 administration by nasogastric tube or in the drinking water on plasma parameters, liver  
64 glycogen levels, carcass parameters and beef quality in young bulls.

## 65        2. Materials and methods

### 66    2.1. Animals and dietary treatments

67    All procedures involving animals were approved by the University of Murcia Ethics  
68    Committee, and the animal care and experimental procedures used in this study conform  
69    to national and EU regulations and guidelines (EU Directive 86/609, as modified by  
70    Directive 2003/65, OJEU, 2003), concerning the protection of animals used for  
71    scientific research. The crude glycerine obtained from biodiesel production had the  
72    following chemicals composition: 86.6% glycerol, 7.50% moisture, 5.88% ash, 3.06%  
73    chloride, 2.00% sodium, 0.052% potassium, 0.004% calcium, 0.003% methanol  
74    (Abengoa Bioenergy, San Roque, Cádiz, Spain).

75    Forty-five Limousine bulls ( $625 \pm 32$  kg live body weight, BW and 16-18 months old)  
76    were weighed and randomly allocated to three different treatments on the farm, 24 h  
77    before slaughter: Control, no supplemental glycerol; GNT, glycerol administered by  
78    nasogastric tube (7 mm o.d. x 5 mm i.d.) at  $2 \text{ g kg}^{-1}$  BW in a single dose, with  
79    approximately 1380 mL crude glycerine (1200 mL of glycerol) and 500 mL of water per  
80    animal; and GW, glycerol administered in the drinking water at same dose as in the  
81    GNT treatment, by adding 18 g of crude glycerine in 1000 mL of water, recording a  
82    water daily ingestion of 80 L per bull. For that, a week before to glycerol  
83    administration, the water daily intake per animal was controlled during five days  
84    consecutives and a mean of 80 L per animal was observed. Thus, the crude glycerine  
85    intake was 1.44 kg per animal ( $2 \text{ g kg}^{-1}$  BW of glycerol as GNT treatment).

86    The GW treatment consisted of a continuous supply of glycerol in the drinking water  
87    during the 24 h before the animals were transported to the abattoir to facilitate animal  
88    management in farm conditions. The treatments were administered 24 h prior to

89 slaughter, for which the animals were transported to a commercial abattoir, 30 km from  
90 farm. Slaughtering took place within 1 hour of arrival. The animals were stunned by  
91 captive bolt pistol, suspended by their hind leg and exsanguinated. The bulls were  
92 slaughtered according Directive 1009/2009 (OJEU, 2009) and dressed using standard  
93 commercial procedures.

#### 94 *2.2. Blood sampling and measurement of variables*

95 Blood samples were taken from the caudal vein of each bull before the treatments and  
96 after 30 min of arriving at the slaughterhouse (one 10 mL heparin tube, BD  
97 Vacutainer®, LH PST; Becton, Dickinson, Madrid, Spain). Samples were immediately  
98 placed in ice-water until centrifugation at 1500 x g for 10 min. Plasma was decanted and  
99 frozen at -20 °C for determinations (total protein, albumin, glucose, cortisol,  
100 phosphorus, calcium, sodium, potassium, chloride, and lactate) in the Veterinary  
101 Hospital of the University of Murcia. Total protein, albumin, Ca, P and glucose were  
102 analysed in an automated clinical chemistry analyser (Olympus AU2700; Olympus  
103 Diagnostica GmbH, Hamburg, Germany). Cortisol was analysed with the Immulite  
104 System (Siemens Health Diagnostics, Deerfield, IL, USA). Intra- and inter-assay  
105 coefficients of variation (CVs) were 7.3% and 10.5%, respectively. Sodium, potassium,  
106 chloride and lactate were determined in a blood gas analyzer (Radiometer ABL System)  
107 using selective membrane electrodes.

#### 108 *2.3. Carcass traits*

109 Following slaughter, liver samples (5 g) were taken and frozen in liquid nitrogen at -85  
110 °C for glycogen analysis, as indicated by Dreiling et al. (1987). Carcasses were stored at  
111  $2\pm 1$  °C for 24 h and then carcass weight (CW) and carcass length (CLe) were recorded  
112 and the dressing percentage (DP) was calculated. At this time, the pH (pH<sub>24</sub>) was

113 measured with a portable pHmeter (Crison GLP21 equipment) with a penetrating  
114 electrode, in the loin, between the 12th and 13th ribs (ISO 2917, 1999). Then, the  
115 *Longissimus dorsi* muscle was removed from T4 to T10 and the samples were vacuum-  
116 packaged and stored for seven days at 4 °C for maturation (Vitale et al., 2014). Aging  
117 beef improves sensory parameters, decrease hardness and drip loss and modify fat  
118 composition Ansejo et al. (2005).

119 Later, all loins were cut into 2 cm thick fillets and some were refrigerated (2 °C) for  
120 moisture, fat, colour, water holding capacity, drip losses, and cooking losses analyses.  
121 The rest of the samples were vacuum-packaged (R-RE; Industrias RAELMA, S.L.,  
122 Madrid, Spain) and frozen (-18 °C) to be analyzed later (protein, fatty acid profile,  
123 sensory analysis).

#### 124 2.4. Meat quality

125 Instrumental meat quality was assessed in the *Longissimus dorsi* muscle. Meat pH seven  
126 days postmortem (pH7) was measured with Crison GLP21 equipment, with a  
127 penetrating electrode(ISO 2917, 1999). The proximate composition (moisture, total  
128 protein and intramuscular fat content) was determined by AOAC (1990, 1999). Redness  
129 ( $a^*$ ), yellowness ( $b^*$ ) and lightness ( $L^*$ ) were measured on the surface of the loin using  
130 a CR-400 Chroma Meter (Minolta Ltd., Milton Keynes, Osaka, Japan) with a 8-mm-  
131 diameter aperture and using D65 illuminant. Three measurements were taken on each  
132 fillet sample.

133 The water holding capacity (WHC) was determined following the pressing method  
134 described by Grau and Hamm (1953), and the results are expressed as a percentage of  
135 the initial sample weight. For drip losses (DL), the samples (2 cm thick) were packaged  
136 in polystyrene trays covered with a permeable film (MICAL® professional, Miquel

137 Alimentació Group S.A.U, Vilamalla, Spain) and stored at 4 °C (Honikel, 1998). The  
138 samples were weighed 0, 72 and 120 h post-packing. Drip losses are expressed as a  
139 percentage of the initial sample weight.

140 To evaluate the cooking losses (CL), the meat samples (two 2 cm thick fillets) were  
141 placed in polyethylene bags and heated at 75 °C for 20 min in a water bath up to an  
142 internal temperature of 72 °C, as recommended by Vergara et al. (2003). Cooking loss  
143 was expressed as a percentage of the initial sample weight. The WHC, DL and CL  
144 measurements were made in duplicate to ensure reproducibility.

#### 145 *2.5. Sensory analyses: Quality Descriptive analysis (QDA) and triangle test*

146 The panel for QDA test was formed of eight panelists chosen from the staff of  
147 the University of Murcia, all experienced in the profile assessment of different meat  
148 products. They were trained according to ISO 8586 (2012) in three training sessions.  
149 The first session was to select descriptors for cooked beef and the other two sessions for  
150 quantifying attributes to describe the sensory attributes. Fillets were taken out of the  
151 freezer 24 h before cooking and were kept in a refrigerator at 4 °C. A double-sided grill  
152 (Silanos, Liscia Average, Lavastoviglie Industriali, Italy) was pre-heated for 5 min to  
153 170 °C. Both the top and the bottom of the grill were covered with aluminium foil and  
154 the fillets were cooked for 6 min. Every two minutes the fillets were turned to ensure  
155 uniform cooking. The fillets reached an internal temperature of 72 °C after 6 min, as  
156 measured by a portable T200 thermometer (Digitron Instrumentation Ltd., Merd Lane,  
157 Hertford, United Kingdom). The samples were trimmed of any external connective  
158 tissue, cut into samples measuring 2x2 cm, wrapped in aluminium foil and coded with a  
159 random three digit number before storing in a warm cabinet at 50 °C until tasting. In  
160 every session, the order of sample presentation was balanced to account for order and  
161 carryover effects (McFie et al., 1989). Every panelist tasted a total of 6 samples of each

162 treatment (total of 18 samples divided three sessions). Mineral water and unsalted bread  
163 was provided for mouth rinsing between samples. Sensory analysis was carried out  
164 according to ISO 4121 (2003) using an unstructured scale of 10 cm. The descriptors  
165 used were: Odour intensity, Meat colour, Colour intensity, Flavour intensity, Hardness,  
166 Juiciness and Chewiness.

167 A triangle test was conducted with the same trained panel. In each test, the panelists  
168 were given two equal samples and one different sample from two different treatments  
169 that were blindly coded with three digit numbers. Then the panelists were asked to  
170 detect the different one. Each panelist tasted each combination 3 times.

#### 171 *2.6. Statistical analyses*

172 For all parameters, animal was considered as the experimental unit. Plasma parameters  
173 (total protein, albumin, glucose, cortisol, phosphorus, calcium, sodium, potassium,  
174 chloride and lactate) were analyzed using a 2-way, repeated measures ANOVA (SPSS  
175 15 software package, SPSS, Chicago, IL), with the main effects being time (before  
176 treatment and in the abattoir) and treatment (control, GW, or GNT) and the interaction  
177 effect of time x treatment. Carcass and meat variables were analyzed using the GLM  
178 procedure (SPSS 15) with main effects of treatment (control, GW, or GNT). Differences  
179 were considered significant at the  $P < 0.05$  level. If the treatment effect was significant,  
180 means comparisons were made using a Tukey's test. The ability of the panel to correctly  
181 identify the equal or different samples was carried out using the triangle test,  
182 determining the significance from the probability table proposed by ISO 4120 (2004).

183

### 184 **3. Results and discussion**

#### 185 *3.1. Blood parameters and liver glycogen*



186 Table 1 shows plasma parameters in bulls before treatment and in the abattoir. Glucose  
187 concentrations were increased similarly ( $P < 0.001$ ) in all groups following transport.  
188 Other studies have also noted increased glucose levels after transport (Cafazza et al.,  
189 2012; Tadich et al., 2005). This is because in a stress situation, such as transport, the  
190 activity of the sympathetic nervous system is increased, which increases glycogen  
191 breakdown and gluconeogenesis in the liver, leading to an elevated plasma  
192 concentration of glucose, providing more fuel for cellular work (Sjaastad et al., 2010).  
193 However there was no significant difference between the treatment groups as regards  
194 the glucose level (128, 117, 129 mg dL<sup>-1</sup> for Control, GW and GNT, respectively).  
195 Higher levels of glucose might be expected in the glycerol groups, because between 80  
196 and 90% of glycerol is fermented in the rumen and provides propionate as a glucose  
197 precursor (Ramos and Kerley, 2012). The rest of the glycerol is absorbed in the rumen  
198 and is transported to the liver by portal vein (Krehbiel, 2008). In the liver, glycerol is  
199 converted by glycerol kinase and ATP into glycerol-3-phosphate and ADP at the triose  
200 phosphate level, while glycerol is directed towards gluconeogenesis. Contrary to our  
201 results, Parker et al. (2007) in a study with steers administered glycerol by nasogastric  
202 tube before a long journey (48 h), described higher levels of blood glucose in the  
203 glycerol group after 24 h and 48 h of transport compared with control group levels (no  
204 glycerol administration and no transportation). The different results obtained could be  
205 due to the different transport times, management and species used (*Bos indicus* in  
206 Parker's study vs. *Bos taurus* in our study). It has been demonstrated previously that  
207 *Bos indicus* cattle depend to a greater extent on fat metabolism during fasting compared  
208 with *Bos Taurus* (O'Kelly, 1985). Orally ingested glycerol follows the same  
209 carbohydrate metabolic pathway as endogenous glycerol from the breakdown of  
210 triglycerides (Parker et al., 2007), which could explain higher levels of glucose in

211 Parker et al. (2007). In addition, is possible that the glycerol administered 24 hours  
212 before slaughtering in our work could have been consumed before the second blood  
213 extraction at slaughterhouse (24 h post-administration). Ogborn (2006) studied the  
214 influence of glycerol provided in the feed and by short-term oral drench on metabolic  
215 parameters in dairy cows and found that a glucose peak was produced just one hour  
216 after drenching.

217 In regards to cortisol levels, they were not affected ( $P>0.05$ ) by glycerol treatments  
218 (1.87, 2.91 and 2.93  $\mu\text{g dL}^{-1}$  for control, GW and GNT respectively) or transport.  
219 Mormède et al. (2007) indicated that the normal value of cortisol for cattle is close to  
220 0.54  $\mu\text{g dL}^{-1}$ , so probably higher levels of cortisol in the three groups were due to the  
221 stress caused by sampling and/or transport. Tadich et al. (2005) reported that the  
222 handling process to obtain the first blood sample is one of the greatest stress factors  
223 experienced by animals, suggesting that this process stimulates the hypothalamic–  
224 adrenal cortex axis with the subsequent release of cortisol.

225 There was an increase ( $P<0.05$ ) in total protein and albumin levels after transportation.  
226 Total protein and albumin have been proposed as physiological indicators of  
227 dehydration during transport (Cafazzo et al., 2012). Phosphorus and Ca plasma levels  
228 were not affected ( $P<0.05$ ) by transport or glycerol administration. Parker et al. (2007)  
229 found higher levels of P and Ca after 48 h of transport, which may have been related  
230 with dehydration. In addition, stress and an inadequate intake of minerals have been  
231 associated with episodes of transport tetany, but in our research the length of water  
232 deprivation was short. Transport to the slaughterhouse increased Na ( $P<0.01$ ), K  
233 ( $P<0.001$ ) and Cl ( $P<0.001$ ) concentrations in all groups, although the values remained  
234 within the ranges considered normal: Na 135-148  $\text{mmol L}^{-1}$ ; K 4-5.8  $\text{mmol L}^{-1}$ ; Cl 96-  
235 106  $\text{mmol L}^{-1}$  (Kahn, 2005). In this sense, Parker et al. (2007) found no difference

236 between groups for plasma Na or K, and all the groups showed normal values for cattle.  
237 In their study, they also found an effect of time on Cl concentration. The increase  
238 observed perhaps being the result of a loss of water from the extracellular pool.  
239 Lactate levels increased in plasma as a result of transport ( $P<0.001$ ), and no effect of  
240 treatment was noticed. Others studies of transportation effect on blood parameters  
241 (Tadich et al., 2002; 2005) found a significant increase in lactate concentrations  
242 between blood samples taken before slaughter in steers that were previously transported.  
243 These increased levels of lactate may come from the converted glucose in muscle cells,  
244 which is then transported in blood to liver to be converted into glucose again (Sjaastad  
245 et al., 2010). There were no differences ( $P>0.05$ ) between the control and the glycerol  
246 groups in liver glycogen content (17, 16.74 and 17.43 mg mL<sup>-1</sup> for control, GW and  
247 GNT respectively; Fig. 1). The higher levels of glycogen in glycerol-supplemented  
248 animals was to be expected, because glycerol is transformed into glycogen by  
249 glyconeogenesis in the liver (Mach et al., 2009). However, another explanation for these  
250 findings could be the fact that there is a limit to the amount of glycogen that the liver  
251 can store (maximum 3% of its weight) (White et al., 1973). In addition, Gardner and  
252 Pethick (2003) found no differences in the glycogen content of muscle of animals  
253 supplemented with 3.5% glycerol and 1.5% propylene glycol. On the other hand,  
254 Morand et al. (1990) in the hepatic cells of sheep, found that a low physiological  
255 concentration (0.5 mM) of propionate is needed to increase glycogen synthesis, so that  
256 maximum production was reached after 15-20 min of incubation, after which it  
257 progressively declined. Glycogen is the first source of energy provision during food  
258 deprivation, so it is possible that the reserves created were consumed after the one hour  
259 of journey.  
260

261 *3.2. Carcass quality and proximal composition*

262 Table 2 shows the carcass quality parameters body weight (BW), dressing percentage  
263 (DP), carcass weight (CW), carcass length (CLe) and proximal composition of beef. No  
264 significant differences were found between treatment groups as regards any of these  
265 parameters. These results agree Parker et al. (2007) who administered glycerol (2 g kg<sup>-1</sup>  
266 BW) to steers 48 h before slaughter to prevent dehydration during a long journey (48 h).  
267 As regards meat proximal composition, no significant differences were observed  
268 between the three different groups. Other authors, e.g. Mach et al. (2009) found no  
269 effect of glycerol on intramuscular fat content (3.8±0.4%) when added up to 12% for 91  
270 days in the diet. In contrast, Parsons et al. (2009) obtained lower marbling and fat  
271 thickness values in heifers fed with glycerol up to 16% for 85 days. The authors  
272 explained that glycerol reduces subcutaneous fat thickness, so that the fat deposition  
273 could be altered, which might explain the observed reductions in marbling. In all the  
274 above studies, glycerol was administered for longer than in our study, so that there was  
275 time to influence the proximal composition. However, in the present work, animals  
276 were given one dose of glycerol, and the proximate composition did not vary.

277

278 *3.3. Meat quality characteristics (pH, colour coordinates, water holding capacity, drip*  
279 *losses, cooking losses)*

280 Table 3 is depicts the meat quality parameters of beef from the three different types of  
281 treatments (Control, GW and GNT). As can be seen, there were no significant  
282 differences for pH values taken 24 h and 7 days after slaughter. However, 75% of the  
283 GW animals produced beef with pH<5.8, while only 50% of GNT and control animals  
284 got 50%, although no the differences were not statically significant. This agrees with the  
285 findings of other authors (Mach et al., 2008b) who found that glycerol (0, 4, 8, and 12%

286 of dry matter) administrated for 91 days had no effect on the ultimate pH in meat from  
287 bulls allowed to mix for 3 h before slaughter. Before observing this lack of the effect,  
288 the authors had hypothesized that glycerol could reduce meat pH, because it depends on  
289 the lactic acid produced by muscle at slaughter time (Wulf et al., 2002). Glycerol is  
290 almost entirely converted to propionate (Mach et al., 2009), which is transformed into  
291 glucose and then into in glycogen. Glycogen is used as a substrate for postmortem lactic  
292 acid production and therefore the pH falls (Immonen and Puolanne, 2000). In contrast,  
293 Gardner and Pethick (2003) who studied the inclusion of 1.5% propylene glycol and  
294 3.5% glycerol in the drinking water of cows, found that meat pH values decrease during  
295 24 h of lairage at the slaughterhouse. The authors found that 22.6% of the carcasses  
296 from the glycerol group had a pH >5.7 compared with 58.1% of carcasses from the  
297 water control group (total n=62). Perhaps glycerol should be provided close to slaughter  
298 time for its effect to be clearly evident.

299 The WHC, DL and CL results are shown in Table 3. As can be seen glycerol treatment  
300 affected WHC ( $P=0.023$ ), GW and GNT producing values of 75.0 and 75.9%,  
301 respectively compared with the 72% of the control group. This increase could be related  
302 to the osmotic properties of glycerol. Indeed, according to Wagner (1999), the inclusion  
303 of glycerol in water or sport drinks of high performance sportsmen prevent water losses  
304 from cells. In this sense, in a study of pigs fed 10% crude and refined glycerol  
305 Hanczakowska et al. (2010) also found higher water holding capacity in *Longissimus*  
306 *dorsi* samples from the glycerol groups. They attributed this to the osmotic properties of  
307 glycerol since, especially in pigs, glycerol is absorbed without being transformed in the  
308 stomach. Although there was not statistical differences between groups for DL and CL,  
309 there was a negative correlation between these parameters and WHC (-0.528 and -0.406  
310 respectively,  $P<0.01$ ). The meat from animals that were glycerol administrated in the

311 drinking water showed a trend to reduce the CL values ( $P=0.09$ ). There was a tendency  
312 for CL to consume glycerol in the water for a longer period before going to the abattoir.  
313 A reduction in CL after 5% glycerol administration was also observed by Mourot et al.  
314 (1993) who also recorded a reduction in water losses. If the muscle fibers are  
315 hyperhydrated, as result of an increase in the cell water content, muscle is subjected to  
316 lower protein denaturation, especially during heat treatment, and so cooking losses are  
317 less, too (Mourot et al., 1993).

318 Great variability in the effect of glycerol on water losses is evident from the  
319 bibliography. Some authors, like Schieck et al. (2010) suggested the NaCl content of  
320 feed and/or crude glycerol as the main factor involved in the differences observed.  
321 Sodium is often added as a catalyst in biodiesel production, and this results in chloride  
322 sodium after the purification step. The amount of chloride sodium in crude glycerol  
323 depends on the refining technique used and should be taken into account in the  
324 formulation of diets (Kerr et al., 2007). An increased intake of NaCl would lead to a  
325 higher salt content in the muscle, resulting in the increased water holding capacity of  
326 meat due to myofibrils edema. Previous research (Schaefer et al., 2001, 2006) has  
327 demonstrated that pre-slaughter electrolyte treatment of cattle can improve animal  
328 hydration, resulting in an improved beef, with lower drip losses (Arp et al., 2011). In  
329 our experiment, there was a higher consumption of electrolytes on the part of the  
330 glycerol groups (approximately 29.85 g chloride, 0.51 g potassium, 19.51 g sodium and  
331 0.04 g calcium) than by control group, which may explain the greater WHC found.  
332 Other causes of minor drip losses were proposed by Parker et al. (2007) who suggested  
333 that prophylactic glycerol administration may antagonize the effect of cortisol in the  
334 glucogenic and ketogenic amino acid pool of the body. Glycerol could be an alternative  
335 and preferential substrate for glucose production, lowering protein degradation and thus

336 minimizing drip losses. However, this point need be investigated to clarify the effect of  
337 glycerol on WHC.

338 Colour coordinates did not vary as a result of glycerol addition (Table 3) and no  
339 differences ( $P>0.05$ ) were observed between the glycerol groups and the control. This  
340 agrees with previous findings about glycerol added in bulls diets (Eiras et al., 2013,  
341 Mach et al., 2008b). Mach et al. (2008b) and Eiras et al (2013) took colour  
342 measurements at 24 and 48 h post-mortem, respectively. In the present study, colour  
343 measurements were taken at seven days, so glycerol inclusion did not affect colour after  
344 ageing. In addition, the glycerol did not alter pH values and so, the beef colour values  
345 for GNT and GW were similar to that of the control.

346

#### 347 *3.4. Sensory analyses*

348 Table 4 presents the results of triangle test. As can be seen, some differences ( $P<0.05$ )  
349 between the control and the glycerol groups (GW and GNT) were detected. Triangle test  
350 is used for determining unspecific differences between two products and the nature of  
351 the difference can not be determined using this test (BSI, 1984). These results could be  
352 related to the differences observed in WHC, since this parameter is related with colour,  
353 taste, texture and juiciness of meat (Warris, 2000). Descriptive methodology (QDA)  
354 was carried out to understand differences, since it provides a complete description of the  
355 product's sensory properties.

356 The results of the QDA for the three treatments are presented in Table 5. There was no  
357 significant differences between beef from the three treatments for any of the sensory  
358 attributes evaluated (odour intensity, meat colour, colour intensity, flavour intensity,  
359 hardness, juiciness and chewiness). These results are similar to observed by Eiras et al.,

360 (2013) who found no differences in sensory evaluation of beef from bulls fed up to 18%  
361 of glycerol. Due to the scarce bibliography concerning the effect of glycerol on beef  
362 sensory attributes, it is difficult to compare the results of the present study with that  
363 from other researches, although some authors found similar results in studies on pork  
364 (Lammers et al., 2008; Hanczakowska et al., 2010; Schieck et al., 2010). In contrast,  
365 Della Casa et al. (2009), using up to 10% of glycerol in the diet in growing-finishing  
366 pigs found differences between colour, marbling, buttery flavour and tenderness.

367 The different results between triangle tests and QDA analyses could be related with the  
368 aim of each test. The triangle test only looks for differences between samples. Whole  
369 parameters are analyzed at the same time. In triangle test, the summation of sensory  
370 attributes was sufficient to be detected by panel. When meat parameters were analyzed  
371 individually in QDA test, the differences were not enough to be reflected in results, this  
372 fact makes probably the differences were not so marked.

#### 373 **4. Conclusion**

374 Glycerol administration 24 h before slaughter did not affect the blood parameters  
375 modified by transport stress, carcass quality or the pH of meat. However, it seems beef  
376 WHC was improved, without modifying the sensory quality of the resulting cooked  
377 meat. Glycerol given by nasogastric tube or in water seems to have similar effects,  
378 however, it could be interesting to study in depth the effect of glycerol on meat WHC,  
379 for example by glycerol supply next to slaughter time or by using higher doses.

380

#### 381 **References**

382



383 Anderson, M.J., Cotter, J.D., Garnham, A.P., Casley, D.J., Febbraio, M.A., 2001. Effect  
384 of glycerol-induced hyperhydration on thermoregulation and metabolism during  
385 exercise in heat. *J. Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 11, 315–333.

386 Ansejo, B., Ciria, J., Miguel, J.A., Calvo, J.L., 2005. Factores que afectan en la calidad  
387 de la carne. Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del  
388 producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes, (pp 36–46).  
389 Madrid: INIA

390 AOAC, Association of Official Analytical Chemists. 1990 (15th ed.) Association of  
391 Official Analytical Chemists, Arlington, VA

392 AOAC, Association of Official Analytical Chemists. 1999 Official method 950.46  
393 moisture in meat; Official method 991.36 fat (crude) in meat and meat products;  
394 Official method 981.10 crude protein in meat; Official method 920.153 ash in  
395 meat. In P. Cunniff (Ed.), *Meat and Meat Products*, vol. II. 16th ed., Official  
396 methods of analysis of the AOAC International, Gaithersburg, MD, USA. 1–15  
397 (Chapter 39).

398 Arp, T.S., Carr, C.C., Johnson, D.D., Thrift, T.A., Warnock, T.M., Schaefer, A.L.,  
399 2011. Effects of preslaughter electrolyte supplementation on the hydration and  
400 meat quality of cull dairy cows. *The Professional Anim. Scientist*. 27, 43–51.

401 Brandon, K., 2004. Effects of postmortem pH modification and oxygen saturation on  
402 lean color characteristics of dark cutting beef. Oklahoma State University,  
403 Stillwater, Oklahoma. Thesis. Pp 109.

404 BSI 1984. *Sensory analyses of food. Part 3. Triangular test. BS5929*. London, BSI.

405 Cafazzo, S., Magnani, D., Calá, P., Razzuoli, E., Gerardi, G., Bernardini, D., Amadori,  
406 M., Costa, L.N., 2012. Effect of short road journeys on behaviour and some

407 blood variables related to welfare in young bulls. *Applied Animal Behaviour*  
408 *Science*. 139 (1), 26–34.

409 Della Casa, G., Bochicchio, D, Faeti, V., Marchetto, G., Poletti, E., Rossi, A.,  
410 Garavaldi, A., Pandroli, A., Brogna, N., 2009 Use of pure glycerol in fattening  
411 heavy pigs. *Meat Sci*. 81, 238–244.

412 Dreiling, C.E., Brown, D.E., Casale, L., Kelly, L., 1987 Muscle glycogen: comparison  
413 of iodine binding and enzyme digestion assays and application to meat samples.  
414 *Meat Sci*. 20, 167–177.

415 Eiras, C.E., Marques, J.A.j., Prado, R.M.d., Valero, M.V., Bonaf, E.G., Zawadzki, F.,  
416 Perotto, D., Prado, I.N.d., 2014. Glycerine levels in the diets of crossbred bulls  
417 finished in feedlot: Carcass characteristics and meat quality. *Meat Sci*. 96(2),  
418 930-936.

419 Gardner, G., Pethick, D., 2003. Dark cutting beef and strategies to reduce it. *Armidale*  
420 *Feeder Steer School*, 90–94.

421 Grau, R., Hamm, R., 1953. Eine einfache Methode zur Bestimmung der Wasserbindung  
422 im Mukel. *Natuwissenschaften*. 40, 29–30.

423 Hanczakowska, E., Wêglarz, K., Szymczyky, B., Hanczakowski, P., 2010. Effect of  
424 adding crude or refined glycerol to pig diets on fattening performance, nutrient  
425 digestibility and carcass evaluation. *J. Anim. Sci*. 10(1), 67–73.

426 Honikel, K.O., 1998. Reference methods for the assessment of physical  
427 characteristics of meat. *Meat Sci*. 49, 457.

428 Immonen, K., Puolanne, E., 2000. Variation of residual glycogen–glucose concentration  
429 at ultimate pH values below 5.75. *Meat Sci*. 55, 279–283.

430 ISO (International Organization for Standardization) 2917:1999. Meat and meat  
431 products. Determination for pH.

432 ISO (International Organization for Standardization) 4120, 2004. Sensory analysis —  
433 Methodology — Triangle test.

434 ISO (International Organization for Standardization) 4121, 2003. Sensory analysis.  
435 Guidelines for the use of quantitative response scales.

436 ISO (International Organization for Standardization) 8586–2, 2012. Sensory analysis.  
437 General guidance for the selection, training and monitoring of assessors–Part 2.  
438 Expert sensory assessors.

439 Kahn, C.M., 2005. The Merck Veterinary Manual. (9th Ed.) Whitehouse Station: Merck  
440 and Co., (pp. 991–993).

441 Kerr, B.J., Dozier III, W.A., Bregendahl, K., 2007. Proceedings of the 23rd Annual  
442 Carolina Swine Nutrition Conference. Nutritional value of crude glycerin for  
443 nonruminant. 6–18.

444 Krehbiel, C.R., 2008. Ruminal and physiological metabolism of glycerin. *J. Anim. Sci.*,  
445 86(2), 392. (Abstr.).

446 Lammers, P.J., Kerr, B.J., Weber, T.E., Bregendahl, K., Lonergan, S.M., Prusa, K.J.,  
447 Ahn, D.U., Stoffregen, W.C., Dozier III, W.A., Honeyman, M.S., 2008. Growth  
448 performance, carcass characteristics, meat quality, and tissue histology of  
449 growing pigs fed crude glycerin-supplemented diets. *J Anim. Sci.* 86, 2962–  
450 2970.

451 Macfie, H.J., Bratchell, N., Greenhoff, K., Vallis, L.V., 1989. Designs to balance the  
452 effect of order of presentation and first–order carry–over effects in hall tests. *J.*  
453 *Sens. Stud.* 4, 129–148.

454 Mach, N., Bach, A., Devant, M., 2009. Effects of crude glycerin supplementation on  
455 performance and meat quality of Holstein bulls fed high–concentrate diets. *J.*  
456 *Anim. Sci.* 87, 638.

457 Mach, N., Bach, A., Velarde, A., Devant, M., 2008a. Association between animal,  
458 transport, slaughterhouse practices, and meat pH in beef. *Meat Sci.* 78, 232–238.

459 Mach, N., Bach, A., Velarde, A., Devant, M., 2008b. Effects of glycerin  
460 supplementation on meat pH of young Holstein bulls mixed at the  
461 slaughterhouse. In 54rd International Congress on Meat Science and Technology  
462 (ICOMST), Cape Town (South Africa).

463 Morand, C., Redon, C., Remesy, C., Demigne, C., 1990. Non-hormonal and hormonal  
464 control of glycogen metabolism in isolated sheep liver cells. *Int. J. Biochem.* 22,  
465 873–881.

466 Mormède, P., Andanson, S., Auperin, B., Beerda, B., Guemene, D., Malmkvist, J.,  
467 Manteca, X., Manteuffel, G., Prunet, P., Van Reenen, C.G., Richard, S.,  
468 Veissier, I., 2007. Exploration of the hypothalamic–pituitary–adrenal function as  
469 a tool to evaluate animal welfare. *Physiol. Behav.* 92, 317–339.

470 Mourot, J., Aumaitre, A., Mounier, A., Peiniau, P., François, A.C., 1993. Nutritional  
471 and physiological effects of dietary glycerol in the growing pig. Consequences  
472 on fatty tissues and post mortem muscular parameters. *Lives. Prod. Sci.* 38, 237–  
473 244.

474 Offer, G., Knight, P., 1988. The structural basis of water-holding in meat; Part 2: Drip  
475 Losses. (4th Ed.) *Developments in Meat Science*, (pp. 173–241). Oxford: R.  
476 Lawrie, Elsevier.

477 Ogborn, K.L., 2006. Effects of method of delivery of glycerol on performance and  
478 metabolism of dairy cows during the transition period. Cornell University.  
479 Thesis (Pp 75).

480 O'Kelly, J.C., 1985. Influence of dietary fat on some metabolic responses of cattle to  
481 fasting. *Research in Veterinary Science*, 39(2):254.

482 OJEU, 2003. Directive 2003/65/EC of the European Parliament and of the Council of  
483 22 July 2003 amending Council Directive 86/609/EEC on the approximation of  
484 laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding  
485 the protection of animals used for experimental and other scientific purposes.  
486 Official Journal of the European Communities L 230: 32-33.

487 OJEU, 2009. Council Directive 1009/2009/EC, on the protection of animals at the time  
488 of slaughter or killing. Official Journal of the European Communities L 303: 1-  
489 30.

490 Parker, A.J., Dobson, G.P., Fitzpartrick, L.A., 2007. Physiological and metabolic effects  
491 of prophylactic treatment with the osmolytes glycerol and betaine on *Bos indicus*  
492 steers during long duration transport. *J. Anim. Sci.* 85, 2916–2923.

493 Parsons, G.L., Shelor, M.K., Droilluard, J.S., 2009. Performance and carcass traits of  
494 finishing heifers fed crude glycerin. *J. Anim. Sci.* 87, 653–657.

495 Ramos, H.M., Kerley, M.S., 2012. Effect of dietary crude glycerol level on ruminal  
496 fermentation in continuous culture and growth performance of beef calves. *J.*  
497 *Anim. Sci.* 90, 892–899.

498 Schaefer PL, Dubeski JL, Aalhus A and Tong KW. 2001 Role of nutrition in reducing  
499 antemortem stress and meat quality aberrations. *J. Anim. Sci.* 79, 91–101.

500 Schaefer, A.L., Stanley, R.W., Tong, A.K.W., Dubeski, P., Robinson, B., Aalhus, J.L.,  
501 Roberston, W.M., 2006. The impact of antemortem nutrition in beef cattle on  
502 carcass yield and quality grade. *Can. J. Anim. Sci.* 86, 317.

503 Schieck, S.J., Shurson, G.C., Kerr, B.J., Johnston, L.J., 2010. Evaluation of glycerol, a  
504 biodiesel coproduct, in grow–finish pig diets to support growth and pork quality.  
505 *J. Anim. Sci.* 88, 3927–3935.

- 506 Sjaastad, O.V., Hove, K., Sand, O., 2010. *Physiology of Domestic Animals*. (2nd Ed.).  
507 Oslo: Scandinavian veterinary.
- 508 Tadich, N., Gallo, C., Bustamante, H., Schwerter, M., van Schaik, G., 2005. Effects of  
509 transport and lairage time on some blood constituents of Friesian–cross steers in  
510 Chile. *Livest. Prod. Sci.* 93, 223–233.
- 511 Tadich, N., Gallo, C., Knowles, T., Aranís, A., 2002. Blood concentration of some  
512 variables indicator of stress before and during exsanguination, in cattle. XII  
513 Congress of Veterinary Medicine. Chillán, Chile.
- 514 Vergara, H., Gallego, L., García, A., Landete–Castillejos, T., 2003. Conservation of  
515 *Cervus elaphus* meat in modified atmospheres. *Meat Sci.* 65, 779–783.
- 516 Vitale, M., Pérez–Juan, M., Lloret, E., Arnau, J., Realini, C.E., 2014. Effect of aging  
517 time in vacuum on tenderness, and color and lipid stability of beef from mature  
518 cows during display in high oxygen atmosphere package. *Meat Sci.* 96, 270–  
519 277.
- 520 Wagner, D.R., 1999. Hyperhydrating with glycerol: implications for athletic  
521 performance. *J. American Diet Assoc.* 99(2), 207–212.
- 522 Warris, P.D., 2000. *Meat Science. An Introductory Text*. New York: CABI Pub. Inc.
- 523 White, A., Handler, P., Smith, E., 1973. *Principles of Biochemistry* (5th Ed.). Tokyo:  
524 McGraw Hill.
- 525 Wulf, D.M., Emmett, R.S., Leheska, J.M., Moeller, S.J., 2002. Relationships among  
526 glycolytic potential, dark cutting (dark, firm, and dry) beef, and cooked beef  
527 palatability. *J. Anim. Sci.*, 80, 1895–1903.

The authors of the article “Pre-slaughter administration of glycerol as carbohydrate precursor and osmotic agent to improve carcass and beef quality” and authors M. Egea, M. B. Linares, F. Hernández, J. Madrid and M. D. Garrido declare no conflict of interest to the publication of the article.

**Table 1**Plasma parameters of bulls subjected to glycerol treatments before slaughter<sup>1</sup>.

Variable	Before glycerol treatments			Pre-slaughter, in abbatoir			s.e.m	P-value		
	Control	GW	GNT	Control	GW	GNT		Time	Treatment	TxT <sup>2</sup>
Total protein (g l <sup>-1</sup> )	7.36	7.02	7.16	7.99	7.95	7.65	0.164	0.011	0.801	0.638
Albumin (g l <sup>-1</sup> )	3.41	3.10	3.25	3.47	3.66	3.69	0.072	0.010	0.862	0.164
Glucose (mg dl <sup>-1</sup> )	70.4	90.3	80.3	128	117	129	5.10	<0.001	0.894	0.200
Cortisol (µg dl <sup>-1</sup> )	2.53	3.77	3.24	1.87	2.91	2.93	0.460	0.194	0.592	0.864
Ca (mg dl <sup>-1</sup> )	9.60	9.20	9.40	10.1	9.93	9.79	0.161	0.023	0.666	0.797
Phosphorus (mg dl <sup>-1</sup> )	8.35	6.66	7.50	7.43	6.74	7.55	0.173	0.423	0.047	0.360
Na (mmol l <sup>-1</sup> )	137	138	138	146	144	1.44	0.533	0.002	0.964	0.781
K (mmol l <sup>-1</sup> )	4.20	4.02	4.10	5.76	5.47	6.33	0.123	0.000	0.341	0.460
Cl (mmol l <sup>-1</sup> )	98.6	98.7	98.7	103	103	105	0.45	<0.001	0.663	0.507
Lactate (mmol l <sup>-1</sup> )	2.20	2.77	2.52	9.93	7.17	6.83	0.543	0.001	0.593	0.368

<sup>1</sup>Treatments: no supplemental glycerol (Control); glycerol administered in drinking water in a proportion of 2 g kg<sup>-1</sup> BW (GW); glycerol administered orally by nasogastric tube in a proportion of 2 g kg<sup>-1</sup> BW (GNT)

<sup>2</sup>Time x treatment type interaction.



**Table 2**

Body weight, carcass parameters (DP, CW, CLe) and proximal composition (fat, moisture and proteins %) of bulls subjected to glycerol treatments<sup>1</sup>.

Variable <sup>1</sup>	Control	GW	GNT	s.e.m	P-value
Body weight (kg)	620	620	636	10.2	0.299
Carcass traits					
Cold carcass weight (kg)	385	389	378	5.90	0.324
Dressing (%)	62.1	61.2	61.0	0.29	0.254
Carcass length, mm	132	131	131	0.50	0.753
<i>Longissimus dorsi</i> proximal composition					
Fat (%)	2.0	1.8	1.7	0.25	0.603
Moisture (%)	74.4	74.2	74.2	0.28	0.921
Proteins (%)	22.8	23.1	23.0	0.11	0.541

<sup>1</sup>Treatments: no supplemental glycerol (Control); glycerol administered in drinking water in a proportion of 2 g kg<sup>-1</sup> BW (GW); glycerol administered orally by nasogastric tube in a proportion of 2 g kg<sup>-1</sup> BW (GNT)

s.e.m, standard error of mean.

**Table 3**

Meat pH, CIELab coordinates, water holding capacity (WHC), drip loss and cooking loss of bulls subjected to glycerol treatments<sup>1</sup>.

Variable <sup>1</sup>	Control	GW	GNT	s.e.m	P-value
pH, 24h	5.77	5.71	5.78	0.017	0.192
pH, 7 days	5.55	5.56	5.52	0.015	0.530
Lightness, L*	32.7	32.2	33.4	0.36	0.427
Redness, a*	14.0	14.00	13.7	0.22	0.785
Yellowness, b*	2.20	2.33	2.19	0.448	0.901
WHC (%)	72.0 <sup>b</sup>	75.0 <sup>a</sup>	75.9 <sup>a</sup>	3.09	0.023
Drip loss 72h (%)	2.31	2.30	2.38	0.119	0.903
Drip loss 120h (%)	3.61	3.58	3.51	0.312	0.910
Final drip loss (%)	1.30	1.28	1.13	0.302	0.491
Cooking loss (%)	30.8 <sup>a</sup>	27.2 <sup>b</sup>	29.5 <sup>ab</sup>	3.89	0.097

<sup>1</sup>Treatments: no supplemental glycerol (Control); glycerol administered in drinking water in a proportion of 2 g kg<sup>-1</sup> BW (GW); glycerol administered orally by nasogastric tube in a proportion of 2 g kg<sup>-1</sup> BW (GNT)

<sup>a,b</sup> Means with different superscripts are significantly different (P<0,05); s.e.m, standard error of mean.

**Table 4**

Triangle test of beef from bulls subjected to glycerol treatments<sup>1</sup>.

Treatments <sup>1</sup>		n	Correct response	P-value
Control	GW	16	9	P<0.05
Control	GNT	16	10	P<0.05
GW	GNT	16	2	P>0.05

<sup>1</sup>Treatments: no supplemental glycerol (Control); glycerol administered in drinking water in a proportion of 2 g kg<sup>-1</sup> BW (GW); glycerol administered orally by nasogastric tube in a proportion of 2 g kg<sup>-1</sup> BW (GNT)

**Table 5.** Sensory evaluation (QDA, 10 cm scale) of beef from young bulls subjected to glycerol treatments<sup>1</sup>.

	Control	GW	GNT	s.e.m	P-value
Aroma intensity	8.73	8.54	8.77	0.152	0.323
Meat colour	8.89	8.77	8.77	0.087	0.583
Colour intensity	5.89	5.67	5.61	0.240	0.918
Flavour intensity	6.99	7.21	7.14	0.170	0.809
Hardness	5.45	5.58	5.76	0.177	0.409
Juiciness	5.60	5.57	5.62	0.187	0.961
Chewiness	5.45	5.55	5.56	0.205	0.760

<sup>1</sup>Treatments: no supplemental glycerol (Control); glycerol administered in drinking water in a proportion of 2 g kg<sup>-1</sup> BW (GW); glycerol administered orally by nasogastric tube in a proportion of 2 g kg<sup>-1</sup> BW (GNT)

s.e.m, standard error of mean.

