



UNIVERSIDAD DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

Segureño lamb meat from protected Geographical Indication: methods to promote nutritional and technological quality in sustainable farming system

Carne de cordero Segureño con indicación geográfica protegida: métodos de fomento de calidad nutricional y tecnológica en sistemas de cría sostenible

**Dña. Leticia Mateo Pastor
2020**

Agradecimientos

En primer lugar, me gustaría dar las gracias al catedrático Sancho Bañón y al Dr. Jordi Ortúño, por su orientación, su tiempo, exigencia y dedicación durante la realización de la Tesis. Sobre todo, por hacerme las correcciones más amenas con música jazz. Muchas gracias por todo.

A la Dr. María José Jordán y a todo el equipo de investigación del IMIDA por su participación en el proyecto, su generosidad, y apoyo.

A Dra. Maria Teresa Rodriguez, a Vladimiro Cardenia y a todo el equipo de investigación de la Università di Bologna; pero, en especial a Stefano Savioli por su tiempo, dedicación y por hacer de Bologna mi segunda casa. ¡Grazie mille!.

Quiero agradecer infinitamente todo el cariño de mis amigas y compañeras del Departamento de Tecnología de los Alimentos, Nutrición y Bromatología de la Universidad de Murcia: Irene y Mariado. Por todas nuestras comidas en la planta piloto, viajes, por los audios eternos y por las risas infinitas. En especial, por animarme y escucharme en los malos momentos. A Juana, Fasutina, Celia, Cristina, Loli, David, Bouchra, Paola, Maca, Tere, Pili, y Andrea y como no, a mis alumnos internos, Carmen y José Tomás, por ser mis confidentes y por su ayuda incondicional. También me gustaría agradecer a todo el personal del Departamento: Mª Carmen, Carmen y Antonio. En particular, a Verónica y Carmen Carceles por todo su cariño y apoyo. Por otro lado, resaltar la colaboración del SACE: Mª José Gabaldón, Lola, Isabel y Pepe, quienes me prestaron su tiempo y compartieron sus conocimientos. Al Departamento de Sanidad Animal, en especial a Irene, Clara, Moisés, Eva, Carlos, Rocío, Laura y Guillermo, por su acogida y su cariño.¡Muchísimas gracias!. Al resto de profesores del Departamento, en especial a las doctoras Encarna, Belén y Marilena por los buenos consejos a la hora el café.

Al Centro de Investigación Operativa (CIO) de la Universidad Miguel Hernández de Elche, en particular a José Valero por su amabilidad al haberme permitido escribir mi tesis doctoral en sus instalaciones.

A mis padres ,Sebastián y Toñi; a mi hermana, Cristina; y a mi fiel amiga Kitty. Por su cariño, ánimos y fuerza me permitieron salir adelante en los malos momentos.Muchas gracias.

En último lugar, siendo para mí el más importante, quiero dar las gracias a Rubén Caballero por estar siempre a mi lado durante esta etapa, por saber sacarme una sonrisa cuando más lo he necesitado y por soportarme cuando el estrés hacía mella. Sobre todo, por su amor incondicional, su fuerza y determinación y porque sin él no habría conseguido llegar donde estoy ahora. A él le dedico esta Tesis.

Muchas gracias

Leticia

*“Cause sometimes you just feel tired,
feel weak.*

*and when you feel weak,
you feel like you wanna just give up,
but you gotta search within you,
you gotta find that inner strength,
and just pull that shit out of you
and get that motivation to not give up
and not be a quitter,*

No matter how bad you wanna, just fall flat on your face and collapse”

Marshall Mathers III

➤ ÍNDICE

	Página
Abreviaturas/Abbreviations.....	6
Índice de tablas/Table index.....	11
Índice de figuras/ Figure index.....	15
Resumen/ Abstract.....	17
1. INTRODUCCIÓN/ <i>Introduction</i>.....	25
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA/ <i>State of the art</i>.....	31
2.1. SITUACIÓN ACTUAL DEL SECTOR OVINO.....	33
2.1.1. Problemática actual.....	34
2.1.2. El sector ovino a nivel mundial y en España.....	38
2.1.3. Razas, clasificación de canales y tipos comerciales	40
2.2. EL CORDERO SEGUREÑO.....	46
2.2.1. Indicación Geográfica Protegida.....	46
➤ Características de las canales.....	47
➤ Situación geográfica.....	47
➤ Sistema de producción.....	49
➤ Marcado y etiquetado.....	50
2.3. LA CARNE DE CORDERO.....	51
2.3.1. Consumo de carne y salud.....	51

2.3.2. Características de calidad.....	53
2.3.3. Factores que influyen en la calidad de la carne.....	55
❖ Factores <i>antemortem</i>	55
➤ Individuo, raza, cruce y sexo.....	55
➤ Dieta materna y de los corderos.....	57
➤ Sistema de cría.....	65
➤ Edad y peso al sacrificio.....	67
❖ Factores <i>postmortem</i>	69
➤ Sacrificio del animal.....	69
➤ Obtención de canales.....	70
➤ Procesado de la carne fresca.....	71
➤ Tratamiento culinario.....	74
➤ Catering.....	77
2.4. ESTRATEGIAS DIETÉTICAS PARA MEJORAR LA CALIDAD DE LA CARNE.....	80
2.4.1. Dietas mejoradas para ovejas gestantes y lactantes.....	81
2.4.2. Dietas mejoradas para corderos de engorde.....	86
2.5. USO DE PLANTAS AROMÁTICO-MEDICINALES (PAM) EN ALIMENTACIÓN ANIMAL.....	97
2.5.1. Género salvia.....	105
➤ Clasificación taxonómica.....	105
➤ Descripción botánica y distribución geográfica.....	106
➤ Composición química y compuestos polifenólicos.....	108

➤ Perfil de ácidos grasos.....	119
➤ Procesado y subproducto de destilación.....	120
3. JUSTIFICACIÓN / Justification.....	123
4. OBJETIVOS / Objectives.....	129
5. MATERIAL Y MÉTODOS / Material and methods.....	135
1. Diseño experimental.....	137
2. Granja experimental.....	140
3. Animales y dietas.....	143
4. Sacrificio y obtención de canales.....	154
5. Procesado de la carne cruda y obtención de muestras.....	154
6. Procesado de la carne cocinada y obtención de muestras.....	155
7. Análisis sensorial.....	158
8. Análisis microbiológico.....	161
9. Análisis físico-químico.....	162
• Grasa intramuscular.....	162
• Humedad.....	163
• pH.....	164
• CIELab colour.....	164
• Índice de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS).....	165
• Pérdidas por cocinado.....	167
• Ácidos grasos.....	167

• Compuestos orgánicos volátiles.....	171
• Esteroles y productos oxidados del colesterol	174
10. Análisis estadístico.....	178
6. RESULTS AND DISCUSSION / Resultados y discusion.	179
1. POLYPHENOL CONTENT OF SALVIA DISTILLED BY- PRODUCTS (SDB).....	181
2. POLYPHENOL CONTENT OF LAMB FEED.....	185
3. FATTY ACID CONTENT OF SALVIA DISTILLED BY- PRODUCTS (SDB).....	190
4. FATTY ACID CONTENT OF LAMB FEED.....	194
5. DIETARY EFFECTS ON LAMB MEAT QUALITY AND STABILITY.....	197
5.1. FRESH LAMB LOIN KEPT AT DISPLAY RETAIL CONDITIONS.....	197
1. Moisture and total fat content.....	197
2. pH.....	198
3. Microbial stability.....	200
4. Fatty acids profile.....	207
5. Oxidative Stability.....	219
5.2. EFFECTS OF MATERNAL REARING ON LIPID OXIDATIVE STABILITY IN RAW AND COOKED HOT/HOLD LAMB PATTIES.....	231
5.2.1. <u>Raw lamb patties</u>	231
1. Moisture and total fat content.....	231
2. Oxidative stability.....	233

3. Fatty acid profile.....	236
5.2.2. <u>Cooked lamb patties</u>	242
1. Moisture, fat content and cooking loss.....	242
2. Oxidative stability.....	246
3. Fatty acid profile.....	250
4. Volatile oxidation compounds	263
5. Cholesterol oxidation products	274
7. CONCLUSIONES / Conclusions.....	279
8. BIBLIOGRAFÍA / References.....	285

Abreviaturas/ Abbreviations

7α-HC:	7α-Hidroxicolesterol
7β-HC:	7β-Hidroxicolesterol
β-EC:	β-Epoxicolesterol
α-EC:	α-Epoxicolesterol
7-KC:	7-Ketocolesterol
%Gh:	Grasa total en materia húmeda
%GTs:	Grasa total den materia seca
%H:	Humedad
a*:	Coordenada a* (rojo-verde)/ redness
AA:	Arachidonic acid
AG:	Ácidos grasos
AGI:	Ácidos grasos insaturados
AGL:	Ácidos grasos libres
AGM:	Ácidos grasos monoinsaturados
AGP:	Ácidos grasos poliinsaturados
AGS:	Ácidos grasos saturados
ALA:	α-linolenic acid
AM:	Atmósfera modificada
ANCOS:	Asociación nacional de criaderos de ovino Segureño
AI:	Índice aterogénico/ atherogenic index
b*:	Coordenada b* (amarillo-azul)/Yelloweness
BH:	Biohidrogenación
BHT:	Butihidroxitolueno
BHA:	Butihidroxianisol
BAL:	Bacterias ácido lácticas
C*:	Coordenada Croma /Chroma

Ca:	Catering
CC:	Control-control: corderos alimentados con alimentación basal y procedentes de madres estabuladas
CFU:	Colony-forming unit
CLA:	Conjugated linoleic acid
CS:	Control-salvia: corderos alimentados con alimentación basal+salvia y procedentes de madres estabuladas
Co:	Cooking
CO ₂ :	Dióxido de carbono
COP:	Productos de oxidación del colesterol
CVMO:	Compuestos marcadores de la oxidación
D:	Diet
DHA:	Docosahexaenoic acid
DM:	Dry matter
DOP:	Denominación de Origen Protegida
EPA:	Eicosapentaenoic acid
FA:	Fatty acids
FAME:	Acid methyl ester fatty
FAO :	Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura.
FEDNA:	Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal
G:	Grilling
G+Ca:	Grilling + catering
GC-MS:	Cromatógrafo de gases acoplado a un detector de masas
GLA:	γ-linolenic acid
H:	Hot-holding
He:	Hectáreas
HPLC:	Cromatografía líquida de alta presión
HR:	Humedad relativa

Hue*:	Ángulo de tono
IARC:	Agencia para la investigación del Cáncer
IGP:	Indicación Geográfica Protegida
IKERFEL:	Estudios de mercado y marketing estratégico
IMIDA:	Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario
INTEROVIC:	Organización interprofesional agroalimentario del Ovino y Caprino
ISO:	Organización Internacional de Normalización
KCL:	Cloruro potásico
KOH:	Hidróxido de potasio
L*	Coordenada Luminosidad (negro-banco)
LN:	Linoleic acid
Lx:	Lux :unidad para medir el nivel de iluminación
M:	Mean
MAGRAMA:	Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación
MDA:	Malondialdehído
MUFA:	Monounsaturated fatty acids
NaCl:	Cloruro sódico
N.D:	No detected
N-3:	Omega-3
N-6:	Omega 6
NO:	Noreste
OMS:	Organización Mundial de la Salud
O2:	Oxígeno
P:	Probability
PAC:	Política Agraria Común
PA:	Poliamida
PC	Pastoreo-control: corderos alimentados con alimentación basal y procedentes de madres que pastaban

PE:	Polietileno
Pi:	Peso taza inicial
PI:	Peso crudo
Pm:	Peso muestra
Pf:	Peso taza final
PF:	Peso cocinado
Pp:	Peso placa Petri
PS:	Pastoreo-salvia: corderos alimentados con alimentación basal+salvia y procedentes de madres que pastaban
PUFA:	Polyunsaturated fatty acids
PUFA/SFA:	Ácidos grasos poliinsaturados/ácidos grasos saturados
R ² :	Coeficiente de regresión
RA:	Rumenic acid
Rpm:	Revoluciones por minuto
PTFE:	Polipropileno Pyrex
S/P:	Índice de saturación
SDS:	Subproducto de destilación de salvia
SEM:	Standard Error of the Mean
SFA:	Saturated fatty acids
SPE:	Extracción de fase sólida
SV:	Sous vide
TBARS:	Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico/ Thiobarbituric acid Reagent Substances
TFA:	Total fatty acids
TAG:	Triglicéridos
VOCs:	Compuestos volátiles
WCRF:	Fondo mundial de Investigación del Cáncer
X:	Pendiente

Índice de tablas / Table index

	Páginas
Tabla 1. Clasificación de las razas ovinas autóctonas de fomento...	41
Tabla 2. Clasificación de los tipos de cordero comercial.....	44
Tabla 3. Comparación del perfil de ácidos grasos (expresados como g/100 g de ácido graso) de los corderos pesados alimentados con pasto y concentrado.....	83
Tabla 4. Cuadro resumen sobre diferentes estrategias dietéticas empleadas para mejorar la calidad de la carne de cordero.....	95
Tabla 5. Cuadro resumen de los estudios realizados sobre suplementación dietética con PAM en cordero.....	102
Tabla 6. Clasificación taxonómica de <i>Salvia lavandulifolia</i> Vahl...	106
Tabla 7. Composición química de las diferentes especies de salvia en España en función de la región geográfica, el estado fenológico y la parte de la planta utilizada.....	111
Tabla 8. Clasificación de los principales fitoquímicos presentes en el aceite esencial de las especies de salvia.....	112
Tabla 9. Principales compuestos polifenólicos identificados en el residuo seco procedente del subproducto de destilación de <i>Salvia lavandulifolia</i> Vahl.....	116
Tabla 10. Plantas identificadas en las zonas de pastoreo de bosque mediterráneo.....	141

Páginas

Tabla 11. Plantas identificadas en las zonas de rastrojera de cereal y barbecho.....	142
Tabla 12. Composición nutricional de la dieta de las ovejas estabuladas (estimación en base de datos obtenidos por FEDNA)...	145
Tabla 13. Composición nutricional del pienso de los corderos de cebo.....	147
Tabla 14. Codificación establecida para los corderos de cebo.....	151
Tabla 15. Ecuaciones de regresión lineal empleadas para la cuantificación de TBARS en carne fresca y cocinada.....	166
Tabla 16. Identificación de compuestos volátiles.....	173
Tabla 17. Tiempo de retención e iones característicos (m/z) de los óxidos del colesterol obtenidos por GC/MS.....	177
Table 18. Polyphenol total content of the sage distillation by-products (SDB) included in lamb feeds.....	182
Table 19. Total polyphenol content (mg/kg DM) of lamb feed (spring and autumn).....	189
Table 20. Lipid total content and fatty acid profile of the salvia distilled by-product (SDB) used for lamb feeds.....	192
Table 21. Lipid total content and main fatty acid composition of the spring and autumn lamb feed.....	196
Table 22. Effects of maternal rearing and lamb diet (basal vs. SDB) on the intramuscular fat and moisture content of lamb loin (spring and autumn).....	198
Table 23. Effects of maternal rearing and lamb diet (basal vs. SDB) on the pH content of lamb loin (spring and autumn).....	199

	Páginas
Table 24. Effects of maternal rearing and lamb diet (basal vs. SDB) on the microbial stability of spring lamb loin.....	205
Table 25. Effects of maternal rearing and lamb diet (basal vs. SDB) on the microbial stability of autumn lamb loin.....	206
Table 26. Effects of maternal rearing and lamb diet (basal vs. SDB) on the fatty acid profile of spring lamb loin.....	215
Table 27. Effects of maternal rearing and lamb diet (basal vs. SDB) on the fatty acid profile of autumn lamb loin.....	210
Table 28. Effects of maternal rearing and lamb diet (basal vs. SDB) on the main FA groups (g/100g fat) and nutritional indexes determined of spring and autumn lamb loin.....	217
Table 29. Effects of maternal rearing and lamb diet (basal vs. SDB) on the main FA groups (%) determined of spring and autumn lamb loin.....	218
Table 30. Effects of maternal rearing and lamb diet (basal vs. SDB) on the TBARS value of lamb meat.....	222
Table 31. Effects of maternal rearing and lamb diet (basal vs. SDB) on the CIELab colour of spring lamb loin.....	225
Table 32. Effects of maternal rearing and lamb diet (basal vs. SDB) on the CIELab colour of autumn lamb loin.....	226
Table 33. Effects of maternal rearing and lamb diet (basal vs. SDB) on the sensory stability of spring lamb loin.....	229
Table 34. Effects of maternal rearing and lamb diet (basal vs. SDB) on the sensory stability of autumn lamb loin.....	230

Table 35. Effects of maternal rearing on the total fat and moisture content of raw lamb patties.....	233
Table 36. Effects of maternal rearing on lipid stability (TBARS and colour CIELab) of raw lamb patties.....	235
Table 37. Effects of maternal rearing on the fatty acid profile (g FA / 100g fat) of raw lamb patties.....	240
Table 38. Effects of maternal rearing on the fatty acid profile (%) of raw lamb patties.....	241
Table 39. Effects of maternal rearing and meat preparation (cooking + catering) on the moisture content, total fat and cooking losses of lamb patties.....	245
Table 40. Effects of maternal rearing and meat preparation (cooking + catering) on the values of Thiobarbituric Acid Reagent Substances “TBARS” (mg MDA/kg) and CIELab colour of lamb patties.....	249
Table 41. Effects of maternal rearing and meat preparation (cooking + catering) on the fatty acids profile (g FA/ 100g FA) of cooked lamb patties.....	257
Table 42. Effects of maternal rearing on the fatty acids profile (%) of cooked lamb patties.....	262
Table 43. Effects of maternal rearing and meat preparation (cooking+ catering) on the relative abundance of lipid oxidation volatile compounds (VOC) of cooked lamb patties.....	271
Table 44. Effects of maternal rearing and meat preparation (cooking+ catering) on the values oxysterols and total cholesterol ($\mu\text{g}/100 \text{ mg fat}$) in cooked lamb patties.....	277

Figuras / Figures	Páginas
Figura 1. Porcentaje de distribución del censo ovino por países en la EU-28.....	38
Figura 2. Evolución censo ovino en España 2010-2017.....	39
Figura 3. Logotipo para el etiquetado de productos bajo la IGP.....	45
Figura 4. Territorios dónde se localiza el cordero Segureño IGP.....	48
Figura 5. Trashumancia de la oveja Segureña.....	49
Figura 6. Logotipo para el etiquetado e identificación del IGP Cordero Segureño.....	51
Figura 7. Esquema de la biohidrogenación del ácido linoleico en el rumen.....	59
Figura 8. Planta de <i>Salvia lavandulifolia Vahl</i>	107
Figura 9. Distribución geográfica de la <i>Salvia lavandulifolia Vahl</i>	108
Figura 10. Estructura molecular de los principales compuestos fenólicos presentes en <i>Salvia Officinalis</i>	117
Figura 11. Principales compuestos fenólicos del aceite esencial de <i>Salvia officinalis</i>	118
Figura 12. Esquema del diseño experimental.....	139
Figura 13. Esquema de producción de ovejas y corderos.....	144

Páginas

Figura 14. Esquema de producción de corderos en cada paridera.....	151
Figure 15. Esquema producción carne cruda 1. Animales vivos.....	152
Figure 16. Esquema producción carne cruda 2. Animales vivos.....	153
Figure 17. Esquema producción carne cocinada. Procesado y análisis.....	157
Figure 18. Ficha de análisis sensorial de la carne cruda de cordero.....	160
Figure 19. Total saturated fatty acids in raw and cooked lamb patties (g FA /100g fat).....	255
Figure 20. Total monounsaturated fatty acids in raw and cooked lamb patties (g FA/ 100 g fat).....	255
Figure 21 Total polyunsaturated fatty acids in raw and cooked lamb patties (g FA/100g fat).....	256
Figure 22. Hexanal/ 3-methy butanal ratio cooked lamb patties at different cooking method (SV and G) and time exposure on heating conditions(freshly and catering patties).....	269
Figure 23. Appearance of the grilled (A) and sous vide (B) lamb patties.....	270

RESUMEN

Abstract



La presente tesis doctoral se enmarca dentro del proyecto nacional (RTA 2013-00104-Co2-00) desarrollado por la Universidad de Murcia y el Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agroalimentarios. Dicho proyecto trata la posibilidad de fomentar la cría de ovinos de raza Segureña en régimen semi-extensivo aprovechando subproductos de plantas aromáticas locales como alimento. Este sistema de producción ovina está orientado hacia la obtención de productos cárnicos más sostenibles a nivel nutricional, medioambiental y socioeconómico, en línea con la estrategia “de la granja a la mesa” propiciada por la Unión Europea. El objetivo fue determinar el efecto combinado del pastoreo materno y la suplementación de la dieta de los corderos con subproducto de destilación de salvia (SDS), rico en ácido rosmarínico y otros compuestos bioactivos, sobre la calidad de la carne de cordero. Para ello, se comparó la cría de corderos en régimen semi-extensivo e intensivo durante las parideras de primavera y otoño, en una granja englobada dentro del sello de Indicación Geográfica Protegida del Cordero Segureño. Dicha granja disponía de amplias zonas de pasto con monte mediterráneo, rastrojeras y zonas de barbecho. Los piensos para corderos de cebo se fabricaron incorporando SDS adquirido a productores locales a la que se le analizó el perfil polifenólico. Se evaluó el efecto combinado de la dieta materna (pastoreo estacional de rastrojera de cereal, barbechos y monte Mediterráneo *vs* cría intensiva con grano de cereal y pellets de alfalfa) y la suplementación de la dieta de los corderos con un 10% de SDS sobre la calidad de la carne almacenada durante 0, 6 y 12 días en atmósfera modificada (70% O₂ y 30% CO₂), simulando condiciones de venta al por menor.

Los tratamientos dietéticos testados no permitieron incrementar la estabilidad oxidativa y microbiológica de la carne de cordero. La aportación de compuestos antioxidantes y/o antimicrobianos a través el pasto no mejoró los resultados obtenidos cuando las ovejas fueron alimentadas con grano de cereales y pellets de alfalfa. La incorporación de SDS tampoco permitió obtener un efecto tecnológico conservante en la carne,

posiblemente debido a una insuficiente biodisponibilidad de los compuestos activos presentes a las dosis utilizadas. El contenido en compuestos bioactivos de los diferentes lotes de SDS presentó una gran variabilidad estacional, aumentando el contenido de polifenoles con la salvia recolectada en verano, lo que pudo ser debido a la mayor insolación y deshidratación. Como aspecto positivo, el pastoreo materno aumentó la proporción de ácidos grasos poliinsaturados (AGP) n-3 (linolénico e eicosapentanoico) en comparación con los n-6 (araquidónico y docosatetraenoico), reduciendo así la proporción n-6/n-3 en la carne de cordero, lo que implica una mejora del perfil nutricional. En cambio, el contenido de ácido linoleico conjugado solo se vio incrementado en los corderos de otoño, lo que sugiere ciertas diferencias entre estaciones en el tipo de pasto consumido por las ovejas. Por su parte, la suplementación dietética con SDS no tuvo efectos claros sobre el perfil lipídico de la carne de cordero en ninguna de las parideras.

A la vista de las diferencias encontradas en el perfil lipídico, se procedió a estudiar la composición de la grasa y la estabilidad oxidativa en la carne recién cocinada y mantenida en condiciones de catering teniendo en cuenta solo el efecto del pastoreo materno. Los objetivos en este caso fueron dos: (i) comprobar si la mejora nutricional del perfil lipídico obtenida en el lomo se mantenía en productos cárnicos cocinados; y (ii) mejorar la estabilidad oxidativa de los lípidos aplicando cocinado a vacío a temperatura moderada (*sous vide*). Para ello, se elaboraron hamburguesas a partir de las piernas de los corderos de otoño, donde la dieta de las ovejas tuvo una mayor influencia sobre el perfil lipídico, que fueron alternativamente cocinadas en plancha (150 °C durante 2 min) o al vacío en un baño termostático (75 °C durante 35 min), alcanzado en ambos casos una temperatura interna final similar (72 °C). Posteriormente, las hamburguesas se mantuvieron a 65 °C durante 4 h simulando condiciones de catering en caliente.

Las mejoras del perfil lipídico asociadas al pastoreo materno se mantuvieron, tanto en la carne recién cocinada, como tras el posterior mantenimiento en caliente. La fusión y posterior pérdida de grasa debido al

tratamiento térmico pudo contribuir a reducir el contenido en ácidos grasos saturados, por ser más abundantes en la grasa intermuscular, permitiendo un incremento relativo del contenido en AGP. Por tanto, los beneficios derivados de la cría semi-extensiva de las ovejas pueden llegar al consumidor a través de la carne de cordero cocinada. Sin embargo, las diferencias dietéticas observadas en el perfil lipídico no implicaron cambios en el conjunto de marcadores de la oxidación lipídica (TBARS, compuestos volátiles y óxidos del colesterol relacionados con la salubridad de la carne cocinada. El cocinado *sous vide* no proporcionó ninguna ventaja nutricional en cuanto a la retención de ácidos grasos más saludables, aunque redujo la oxidación lipídica y, en particular, la formación de óxidos del colesterol en la carne recién cocinada. Ello se vio reflejado en una mayor retención de AGP y en una menor formación de compuestos secundarios derivados de la oxidación lipídica en la carne cocinada durante el periodo de catering.

En definitiva, la cría semi-extensiva de ovejas permite mejorar la calidad nutricional de la carne de cordero Segureño alimentado con pienso concentrado, aunque no mejora su capacidad de conservación. Por su parte, los SDS pueden ser incluidos hasta un 10% en la dieta de los corderos de cebo sin detrimento sensorial, nutricional y tecnológico de la calidad de la carne, aunque sería conveniente mejorar el método de suplementación y, en caso necesario, emplear estrategias antioxidantes, para intentar mejorar su capacidad de conservación. Finalmente, el cocinado *sous vide* puede contribuir a reducir el grado de oxidación de la carne durante el cocinado y el posterior mantenimiento en caliente tipo catering, lo que permite incrementar la retención de ácidos grasos saludables y reducir la ingesta de compuestos potencialmente dañinos para el consumidor, ofreciendo un producto más nutritivo y seguro.

This doctoral thesis is part of the national project (RTA 2013-00104-Co2-00) developed by the University of Murcia and the Institute for Agri-Food Research and Development of Murcia (IMIDA). This project deals with the possibility of promoting semi-extensive rearing of *Segureña* sheep, taking advantage local aromatic plants by-products as feed. This sheep production system is oriented towards obtaining meat products that are nutritionally, environmentally and socio-economically sustainable, in line with the strategy “From farm to fork” promoted by the European Union. The objective was to determine the combined effect of maternal grazing and dietary supplementation of weaned lambs with sage distillation by-products (SDB), rich in rosmarinic acid and other bioactive compounds, on the quality of lamb meat. Spring and autumn lambs reared indoors with maternal grazing or not in a farm included in the “*Segureña* Lamb Protected Geographical Indication” were compared, which had wide areas of grazing with Mediterranean stubble, cereal straw and fallow. The concentrate feeds for weaned lambs were manufactured with local SDB whose polyphenol content was analysed. The combined effects of maternal rearing (seasonal grazing *vs.* indoors fed on cereal grain and lucerne pellets) and lamb diet supplementation with 10% SDB on the meat quality were evaluated. Loin fillets were packed under modified atmosphere (70% O₂ and 30% CO₂) and kept for up to 12 days, simulating retail conditions.

The dietary treatments tested did not allow increase the oxidative and microbiological stability of lamb loin fillets kept in retailing conditions. This reveals that the contribution of dietary antioxidants and/ or antimicrobials through graze did not improve the results obtained when the ewes were fed indoors. The incorporation of SDB did not produce any technological preservative effect in meat, possibly because the insufficient bioavailability of the active compounds present at the dietary doses used. The content of bioactive compounds of the different SDB batches showed great seasonal variability, with a higher polyphenol content in the by-product obtained from the sage collected in summer, which may due to the greater insolation and dehydration. As a positive aspect, maternal grazing resulted in a higher

proportion of n-3 polyunsaturated fatty acids "PUFA" (linolenic and eicosapentaenoic) compared to the n-6 (arachidonic and docosatetraenoic), thus reducing the n-6/n-3 ratio in lamb meat, which implies a nutritional improvement. On the other hand, the content of conjugated linoleic acid was only increased in autumn lambs, which suggests certain seasonal differences in the type of grazing plants consumed by the sheep. For its part, dietary supplementation with SDB had no clear effect on the lipid profile of lamb meat in both seasons.

In view of the differences found in the lipid profile, fat composition and oxidative stability were studied in cooked hot-held patties, assessing the maternal grazing as treatment. The objectives in this case were: (i) to check if the nutritional improvement seen in the lipid profile remained in cooked meat products; and (ii) to limit lipid oxidation by applying vacuum cooking at mild temperature (*sous vide*). For this, patties with the intermuscular fat were made using the legs from autumn lambs, in which ewe rearing had a marked influence on the lipid profile. The patties were alternately grilling (150 °C for 2 min) or cooked under vacuum in a thermostatic bath (75 °C for 35 min), reaching in both cases a similar final internal temperature (72 °C). Subsequently, the patties were kept at 65 °C for 4 h simulating hot catering conditions. The improvements in the lipid profile associated with maternal grazing were maintained in both freshly-cooked and cooked/hot-held lamb patties. The loss of melted patty fat during heating may have contributed to reduce the proportion of saturated fat, which is more abundant in intramuscular fat, allowing a relative increase in PUFA content. Therefore, the benefits derived from ewe rearing can reach through the consumption of cooked lamb meat products. However, the dietary differences seen for the lipid profile did not imply relevant changes for the set of lipid oxidation markers (TBARS, volatile compounds and oxysterols), related to cooked meat healthiness. *Sous vide* cooking did not provide any nutritional advantage in terms of retention of healthier fatty acids in the freshly-cooked meat, although reduced lipid oxidation and, in particular, the formation of oxysterols. This was reflected in a higher retention of PUFA and in a lesser

increase in the formation of secondary compounds from lipid oxidation in the cooked/hot-hold lamb.

In sum, semi-extensive sheep rearing improves the nutritional quality of *Segureña* grainfed lamb meat, although does not increase its preservation capacity. On the other hand, SDB can be included up to 10% in the diet of weaned lambs without sensory, nutritional and technological detriment to the meat quality, although it would be convenient to improve the supplementation method and, if necessary, using additional antioxidant strategies to enhance meat preservation. Finally, the use of *sous vide* cooking may contribute to reducing meat oxidation during cooking and a subsequent catering-type hot-holding. This may favour the retention of more healthy fatty acids and may inhibit the formation of potentially harmful oxidized lipids, offering a more nutritious and safe product to the consumers.

INTRODUCCIÓN

Introduction



La imagen de un pastor con su rebaño de ovejas va camino de convertirse en una imagen del pasado. Cada vez resulta más difícil encontrarse con este reflejo de la actividad ganadera extensiva a pequeña escala en las zonas rurales. Es evidente que cada vez quedan menos pastores, y los pocos que quedan van envejeciendo, y en la mayoría de casos, sin jóvenes que tomen el relevo (García, Rouco y Correal, 2005; Vidal-González *et al.*, 2016). Históricamente la ganadería ovina ha sido de tipo extensivo, “ligada a la tierra”, donde los animales eran criados al aire libre, desplazándose allí donde se producían los pastos o forrajes disponibles con el consiguiente ahorro en la adquisición de pienso (Correal y Sotomayor, 1998; Castel, Ruiz, Mena y Sánchez-Rodríguez, 2010). Sin embargo, la ganadería intensiva está avanzando a pasos agigantados. Estas concentraciones de animales no solo afectan al bienestar animal, sino que también provocan problemas en el medio ambiente, ya que, cuando la carga animal es elevada para el terreno, el estiércol no puede ser totalmente absorbido, por lo que los excesos acaban por filtrarse contaminando las aguas subterráneas y produciendo el fenómeno conocido como eutrofización. En este sentido, la Política Agraria Común (PAC), tampoco ayuda a limitar el desarrollo de la ganadería intensiva, ya que las ayudas que otorga, favorece un modelo de grandes explotaciones en detrimento de sistemas tradicionales más sostenibles (Veterinarios sin Fronteras, 2012).

El consumo de carne de cordero también se ha visto resentido en estos últimos años. Los consumidores son cada vez más conscientes del impacto de las elecciones de los alimentos sobre su salud y, a este hecho han contribuido diferentes organismos a través de pautas que recomiendan evitar el excesivo consumo de los ácidos grasos saturados o el reciente estudio de la Organización Mundial de la Salud (OMS) sobre la carcinogenicidad del consumo de la carne roja y procesada. En 2015 la Agencia para la investigación del Cáncer (IARC), dependiente de la OMS, emitió un informe donde el consumo de carne roja fue clasificado como “probablemente cancerígeno para los seres humanos” (grupo 2A). Tal fue la alarma social, que la OMS tuvo que emitir un comunicado en el que aconsejaba a la población reducir el consumo de carne roja con el objetivo de reducir el riesgo de cáncer, ya que este tipo de carne, como la carne de cordero, es una fuente

importante de nutrientes altamente disponibles para el ser humano. A pesar de los beneficios de su consumo, la carne roja también puede contener compuestos presentes de forma natural, como los ácidos grasos y el colesterol, cuya ingesta está asociada con un aumento de desarrollar enfermedades crónicas (Simopoulos, 2002). Por su variedad de cortes y el tipo de animales, la carne roja es muy versátil desde el punto de vista gastronómico ya que ofrece multitud de posibilidades culinarias. La carne se suele consumir cocinada ya que mejora sus propiedades organolépticas, sin embargo, un cocinado a altas temperaturas también puede favorecer la formación de compuestos cancerígenos, como los óxidos del colesterol (COP). Los COP se forman cuando los alimentos que contienen colesterol son sometidos a condiciones que facilitan su oxidación como pueden ser los tratamientos térmicos. Se han descrito numerosos efectos biológicos atribuibles a los COP como la capacidad de producir un cambio en la actividad y expresión de las enzimas involucradas en la biosíntesis del colesterol, sin embargo, de entre todos los efectos atribuidos a estos compuestos, los que resultan más impactantes son el rol que éstos pueden tener en la aterogénesis, concretamente induciendo la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad o LDL. Con el objetivo de reducir la formación de estos compuestos cancerígenos, se están desarrollando nuevas técnicas de cocinado como la cocción a vacío o *sous vide*, que permite mantener mejor las propiedades de los alimentos de forma segura.

Muchas de las estrategias utilizadas por los ganaderos para aumentar el consumo de la carne de cordero pasan por la mejora nutricional. En este sentido, la cría tradicional ovina comporta múltiples beneficios, no solo a bienestar animal, sino también en la calidad de la carne. Esto es debido a que las especies vegetales que forman parte de pastos frescos y forrajes suelen ser ricas en principios activos antioxidantes y/o antimicrobianos que, en algunos casos, pueden ser asimilados por los animales proporcionando buenos resultados. Asimismo, numerosos estudios han encontrado relación entre el pastoreo y el aumento del contenido de ácidos grasos poliinsaturados (AGP) n-3, (Gatellier, Mercier y Renerre, 2004; Cividini, Levart, Žgur y Kompan, 2014). A grandes rasgos, el pasto proporciona a la dieta de los animales un mayor aporte de AGP (Bas y Moran-Fehr, 2000) en comparación con las

dietas a base de grano de cereal (Popova, Gonzales-Barron y Cadavez, 2015). Además, el perfil lipídico del cordero se puede mejorar a través de la incorporación de alimentos ricos en AGP, como semillas y aceites (Bonano *et al.*, 2012). Sin embargo, la susceptibilidad de los AGP a la oxidación aumenta a mayor grado de insaturación, pudiendo desencadenar cambios y aromas no deseados, afectando a la calidad sensorial de la carne y de la leche. Esto puede dar lugar a rechazo e insatisfacción por parte del consumidor y, por ende, a pérdidas económicas (Pateiro *et al.*, 2018). Por lo tanto, es necesario el aporte de antioxidantes naturales que mejoren la estabilidad oxidativa de la carne y que, a su vez, sean económicos y accesibles para los ganaderos.

Entre las fuentes de compuestos naturales antioxidantes que se pueden emplear en alimentación animal cabe destacar las plantas aromáticamente medicinales (PAM). En general, estas plantas contienen gran cantidad de compuestos fenólicos y polifenólicos considerados como GRAS (generalmente reconocidos como seguros), por lo que su utilización no conlleva efectos negativos para la salud de los animales y los humanos (Pateiro *et al.*, 2018). Las posibilidades de uso de PAM locales son considerables, ya que el Sureste Español es una de las zonas que cuenta con una mayor diversidad de ellas (Alcaraz, Sánchez y Correal, 1989) y existen diversas industrias de destilación que generan gran cantidad de subproductos que podrían aprovecharse para la alimentación del ganado. Por este motivo, existe un particular interés en la Región de Murcia por fomentar el cultivo y aprovechamiento de este tipo de plantas. Así, el Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDA), viene trabajando desde hace años en la selección de PAM ricas en componentes activos con demostrada actividad antioxidante y antimicrobiana, para ofrecer a los agricultores alternativas que puedan ser utilizadas en la alimentación animal. Diversas publicaciones han confirmado que la utilización de algunos extractos de PAM en alimentación animal, como el de romero (Ortuño, Serrano y Bañón, 2015^a y 2015^b; Yagoubi, Joy, Ripoll, Mahouachi, Bertolín y Atti, 2018), tomillo (Moñino, 2010; Nieto, 2013) u orégano (Simitzis *et al.*, 2008), proporciona beneficios para la calidad de la carne. Esto invita a pensar que el uso de otras PAM, como la salvia, podría resultar de gran interés para los productores de ovino debido a que estas plantas comparten algunos sus principios activos. La salvia contiene una gran

proporción de AGP (Bakoglu, Kilic y Kokten, 2016; Farida, Radjabian, Salami, Ranjbar y Rahmani, 2014) y de diversos compuestos antioxidantes como el ácido rosmarínico y el ácido carnósico (Cuvelier, Berset y Richard, 1999), entre otros, que pueden no ser extraídos en su totalidad durante la destilación de los aceites esenciales. Los aceites esenciales y extractos son productos que encarecen considerablemente los costes de fabricación de los piensos, por lo que las nuevas estrategias de suplementación animal van encaminadas a rentabilizar los subproductos de destilación resultantes, que son asimilables por los animales y que pueden mejorar la calidad nutricional de esta. Así, el empleo del subproducto de destilación de salvia (SDS), rica en ácido rosmarínico y otros compuestos fenólicos (Lu y Fo, 2002) como suplemento en la alimentación de los corderos podría, por un lado, mejorar el perfil lipídico de la carne y, por el otro, aportar un efecto estabilizador, actuando como antioxidante y/o antimicrobiano. Actualmente apenas existen estudios en los que se haya utilizado la SDS en alimentación animal, sin embargo, sí se ha estudiado el efecto de las hojas secas de salvia en la alimentación de los conejos de engorde en los que no se observaron efectos adversos en la estabilidad oxidativa (Rotolo *et al.*, 2013). Por su parte, Coates y Ayerza (2009) probaron con éxito las semillas de *Salvia Hispánica*. *L* en la alimentación de cerdos con el objetivo de mejorar su perfil lipídico. Por tanto, la hipótesis de partida es que la incorporación de SDS a la dieta del cordero Segureño, combinado con el pastoreo materno, podría mejorar la calidad y la estabilidad de la carne de cordero.

Con todo ello, la presente tesis está orientada al desarrollo de estrategias dietéticas que sean rentables para los ganaderos y que proporcionen una carne de cordero más saludable nutricionalmente, promoviendo la ganadería tradicional ovina. Se pretende diferenciar y revalorizar las producciones ganaderas de ovino Segureño criado en régimen semi-extensivo, en beneficio de una ganadería más sostenible, que permita mantener la población rural en zonas desfavorecida.

REVISIÓN

BIBLIOGRÁFICA

State of the art



2.1. SITUACIÓN ACTUAL DEL SECTOR OVINO

Durante los últimos años el consumo de carne en los hogares españoles ha descendido ligeramente. Según el informe del consumo de alimentación en España para el año 2018, el consumo de carne en los hogares retrocedió un 2,6%, en comparación con el año 2017, alcanzando los 2.114,78 millones de kg. Este descenso en la demanda de carne se produjo a consecuencia del aumento del precio medio pagado, que aumentó en un 2,1%, cerrando en 6,07 €/kg (MAPA, 2019. Informe consumo de alimentación en España para el año 2018). Esto supone, en el caso del ovino-caprino, un descenso en el consumo en el último año (de septiembre'17 a agosto'18) a nivel nacional, de unos 4 millones de kg (desde 69,41 millones de kilos hasta 65,45 millones). El resultado de combinar un aumento en el precio con el descenso de consumo, es que el gasto total de los hogares españoles en carne ovina y caprina en el último año fue de 729,2 millones de euros, frente a los 740,6 millones que se gastaron entre agosto de 2016 y agosto de 2017. A parte del precio, existen diferentes factores que pueden alterar el consumo de carne, como la presencia de hijos, la situación del mercado laboral, la edad, la situación económica de cada hogar e incluso la percepción del consumidor (MAPA, 2019. Informe consumo de alimentación en España para el año 2018). El último estudio presentado por el Instituto de Estudios de Mercado y Marketing Estratégico (IKERFEL) sobre las percepciones del consumidor con respecto a la carne de cordero establece que su consumo presenta una serie de aspectos diferenciales con respecto a otras carnes, entre las que destacan:

- La asociación a precio elevado.
- El desconocimiento de las posibilidades de consumo que ofrece.

- El propio desconocimiento de las características nutricionales del producto.
- Un consumo más vinculado a ocasiones especiales (festivos y situaciones lúdicas).
- Menor consumo por parte de los jóvenes.

La carne de cordero es un producto circunscrito a la restauración, principalmente en hoteles y restaurantes. El cordero lechal es más consumido en Andalucía, Canarias, Castilla-La Mancha, Castilla León y País Vasco, mientras que el recental es más habitual en los establecimientos del centro peninsular y Baleares. En cuanto a los cortes más habituales, la pierna de cordero es el más habitual, especialmente en los restaurantes, mientras que los hoteles muestran preferencia por las chuletas, paletas y costillar (c.f. Oviespaña, 2015).

2.1.1. Problemática actual del sector ovino

La ganadería extensiva es un sector que ha estado presente en la cuenca mediterránea desde antaño. El pastoreo de ganado extensivo juega un papel socioeconómico muy importante para el sostenimiento del medio rural. Participa de forma activa en la preservación medioambiental, social y económica de ahí el gran interés del mantenimiento de esta actividad como generadora de productos de calidad en aprovechamientos sostenibles, a la vez que proporciona otros servicios esenciales (funciones de regulación, empleo, beneficios ambientales, actividad económica, etc.) (Informe del impacto, vulnerabilidad y adaptación al cambio climático en los sistemas extensivos de producción ganadera en España. MAPAMA, 2017). Según la OMS, en los últimos años la producción ganadera ha crecido con rapidez, comprometiendo los recursos naturales mundiales como los pastizales, bosques, recursos hídricos, etc. Gran

parte de este incremento de la producción procede de granjas industriales situadas a las afueras de las ciudades y que, en muchas ocasiones ocasionan importantes efectos sociales y medioambientales. Entre los efectos sociales, cabe destacar la desaparición de la ganadería campesina y modos de vida ligados a esta. Por otro lado, entre los efectos medioambientales, hay que destacar los problemas de contaminación a consecuencia de residuos animales, antibióticos, fertilizantes, plaguicidas, y la contribución a las emisiones de gases de efecto invernadero.

Un informe de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación sobre ganadería señala que la ganadería es responsable del 18% de las emisiones de gases de efecto invernadero. La ganadería intensiva es, además, la mayor fuente de contaminación del agua, contribuyendo a la eutrofización y degradación de ríos y litorales. Las fuentes de contaminación proceden de las heces, residuos de los piensos (antibióticos, metales pesados), así como de los pesticidas y fertilizantes utilizados en los monocultivos de grano para pienso. Además, la ganadería intensiva industrial tiene efectos devastadores en la propia biodiversidad animal como la desaparición de las razas domésticas tradicionales. Las propuestas de la FAO no pasan por una disminución del consumo de carne, pero sí ofrece algunas soluciones interesantes, como la promoción de los sistemas silvopastoriles y una disminución de los residuos, a partir de cambios en los distintos elementos del sistema productivo.

Lo cierto es que, a pesar de las recomendaciones de la FAO y la creciente demanda de productos cárnicos sostenibles basados en sistemas de pastoreo (Joy, Ripoll y Delfa, 2008), la situación actual del sector ovino tradicional es poco esperanzadora. Tal y como señalan numerosos estudios (De Rancourt, Fois, Lavin, Tchakérian and Vallerand, 2006; Gaspar, Escribano, Mesías, Escribano y Pulido, 2011; Castel *et al.*, 2010), la pérdida de competitividad en los

sistemas de producción de pequeños rumiantes es un hecho. Diferentes factores, tanto a nivel de granja, como en el entorno socioeconómico, han contribuido de forma significativa al deterioro del sector (Vidal-González *et al.*, 2016). Los altos costes operacionales, la pérdida de rendimiento económico, las limitaciones propias de las zonas de pastoreo y la falta de relevo generacional, junto con la crisis económica que atraviesan los hogares españoles, han agravado la situación (García, Rouco y Correal, 2005; Vidal-González *et al.*, 2016).

Conscientes de esta problemática, desde la Organización Interprofesional Agroalimentaria del Ovino y Caprino (Interovic), junto con el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPAMA) lanzaron una campaña de promoción de la carne de cordero y lechal en España para los años 2015, 2016 y 2017. A través de esta campaña se pretendía lograr un nuevo posicionamiento del cordero, promocionando su consumo, con el objetivo de revertir la crisis de consumo que padece el sector dese 2007. Europa ha incluido en su política nuevas estrategias para fomentar el desarrollo rural, modificando el entorno agrario en favor de una ganadería más sostenible y respetuosa con el medio ambiente y el bienestar animal. La promoción de este tipo de ganadería despierta un gran interés político, ya sustenta la economía de las zonas rurales en peligro de despoblación. Además, a través del reconocimiento de los beneficios de los sistemas de pastoreo, tanto ambientales, como sociales, ha logrado impulsar la ganadería ovina tradicional (Toro-Mujica *et al.*, 2012).

A pesar de todo, es necesario el uso de estrategias y medidas de fomento y apoyo que resulten atractivas y rentables para las futuras generaciones de ganaderos ovinos, ya que sólo de esta forma podremos conseguir frenar la decadencia de este sector. El uso de marcas de calidad diferenciada son estrategias comerciales

de gran utilidad que permiten vincular el producto a un determinado procedimiento, resaltando y diferenciando sus cualidades. El Reglamento (CE) 1151/2012 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 21 de noviembre de 2012, sobre los regímenes de calidad de los productos agrícolas y alimenticios, determinó la Denominación de Origen Protegida (DOP) y la de Indicación Geográfica Protegida (IGP). Si bien en España ya existía una larga tradición de productos agroalimentarios de protección geográfica, ésta solo se aplicaba a los vinos, sin embargo, con el nuevo reglamento, se estableció la posibilidad de autorizar nuevas denominaciones de origen a otros productos alimentarios ([García et al., 2005](#)).

2.1.2. El sector ovino en la UE y en España

España es, actualmente, el 2º país de la UE-28 en número de cabezas de ovino con el 15,9 % del censo, solo superado por el Reino Unido (23,31%) y seguido por Rumanía (10%) (**Figura 1**) (Oficina Europea de Estadística (EUROSTAT), 2017).

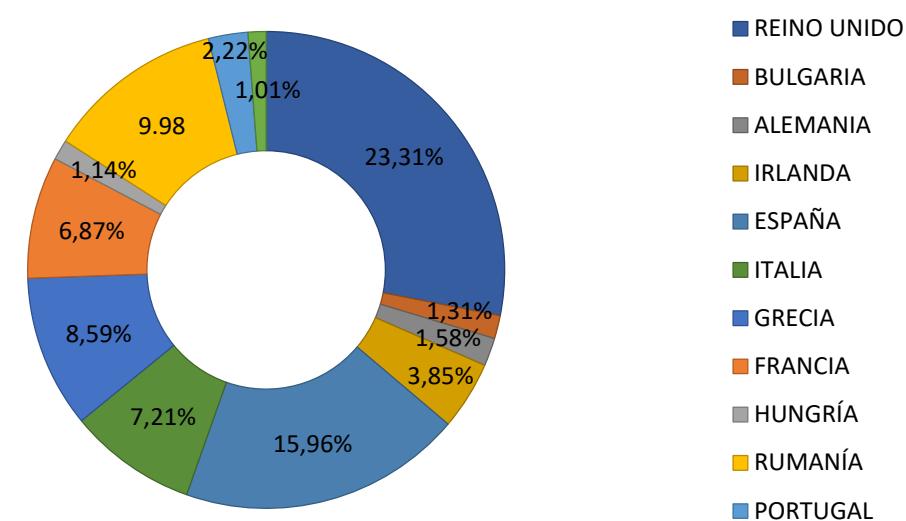


Figura 1. Porcentaje de distribución del censo ovino por países en la EU-28.

(Fuente: Eurostat, 2017).

A nivel nacional, cinco comunidades autónomas suponen más del 80% del censo, en el siguiente orden: Extremadura, Castilla y León, Castilla La Mancha, Andalucía y Aragón (MAPAMA. El sector ovino y caprino de carne en cifras. 2018). Además, se trata de un sector fracturado, con un elevado número de explotaciones (en torno a 110.000 en el año 2014) de pequeño tamaño (<150 animales/explotación). Sin embargo, a pesar de su estabilidad, la cabaña ovina ha sufrido una serie de altibajos en los últimos 12 años, que posiblemente esté relacionado con la pérdida de rentabilidad de las explotaciones (García *et al.*, 2005). Este hecho se justifica con los altos costes operacionales y reglamentarios, que en ocasiones superan los precios de venta, así como una enorme

carga administrativa que ha dado lugar al abandono de las producciones. Sin embargo, como vemos, se trata de un elemento retenedor de población en zonas rurales de tradición agropecuaria, teniendo una mayor presencia en 4 de las 5 comunidades autónomas con menor densidad de población, con la excepción de Andalucía. Paralelo al censo de animales, el número de explotaciones también disminuyó para el periodo 2010-2013 (**Figura 2**), pasando de 120.000 explotaciones a no más de 110.000. Sin embargo, a partir del año 2014, el número de explotaciones ha ido aumentado ligeramente, manteniéndose estable hasta la actualidad.

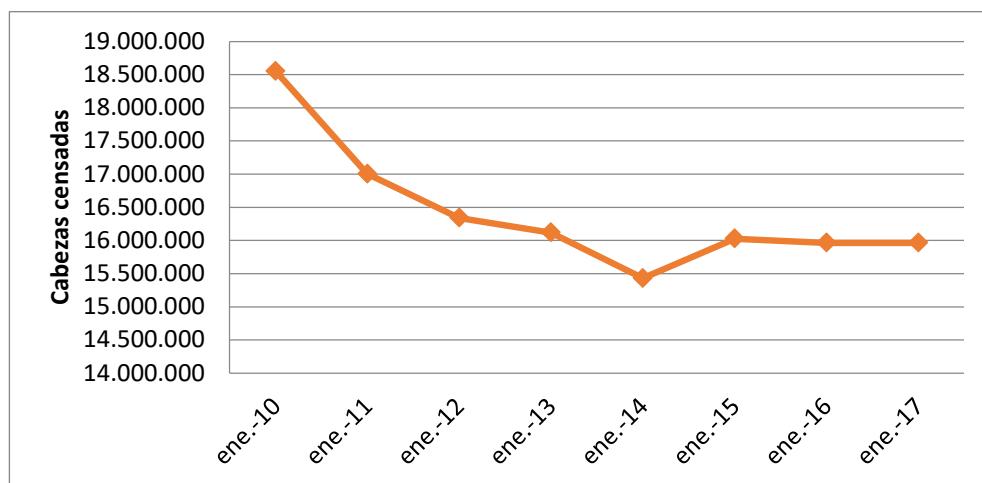


Figura 2. Evolución censo ovino en España 2010-2017. (FUENTE: MAPAMA. EL SECTOR OVINO Y CAPRINO EN CIFRAS, 2018).

Por otro lado, el número de exportaciones de ovinos vivos para el año 2019 ha aumentado hasta alcanzar el 54,8% en comparación con el año anterior. Durante el primer semestre, España exportó un total de 632.497 ejemplares ovinos, lo que representa un incremento del 54,8% frente a los 408.563 animales del mismo periodo de 2018. Por lo que respecta a las exportaciones, Libia continúa siendo el país al que se envían la mayor parte de los ovinos que salen de las explotaciones españolas, con 267.757 ejemplares de

enero a junio del presente año. Destaca también Alemania que recibió en el periodo analizado hasta 150.638 animales; y Portugal, en 3º lugar.

Por tanto, es necesario el desarrollo de estrategias orientadas a incrementar el valor añadido de la producción cárnica de razas autóctonas a través de marcas de calidad que permitan diferenciar tanto las características como las cualidades del producto, con el objetivo de mejorar la estabilidad socioeconómica y, por ende, la situación del mercado ovino español

2.1.3. Principales razas de ovino comerciales, clasificación de canales y tipos comerciales

Se calcula que a nivel mundial existen más de 450 razas de ovinos. Las explotaciones de ganado ovino se caracterizan por los diferentes tipos que pueden obtenerse, en función de las razas explotadas. En España, las producciones principales a las que se dedican el ganado ovino son la leche y carne, tal y como establece el informe de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. (2002). Según el Catálogo Oficial de Razas de Ganado en España que recoge la clasificación de todas las razas y variedades ganaderas reconocidas en España, podemos encontrar 10 razas ovinas: Carrazana, Castellana, Churra, Latxa, Manchega, Merina, Navarra, Ojinegra de Teruel, Aragonesa y la Segureña. En la siguiente tabla (**Tabla 1**) se pueden observar las diferentes peculiaridades de cara raza autóctona. Sin embargo, las condiciones de manejo que se describen en MAPAMA hace referencia a la ganadería tradicional, lo que no corresponde con la realidad, debido a que cada vez hay un mayor número de explotaciones intensivas, mientras que la ganadería extensiva queda limitada solo a unas cuantas explotaciones.

Tabla 1.

Clasificación de las razas ovinas autóctonas de fomento.

Raza	Distribución geográfica	Uso	Productos	Condiciones de manejo tradicional
CARRANZA	Zonas montañosas de Asturias, Cantabria, León y Vizcaya	Leche	D.O.P: Queso Idiazábal IGP: Cordero lechal de Label vasco	Sistema semi-extensivo. Raza adaptada a zonas montañosas y de elevada pluviometría.
CASTELLANA	Principalmente en Zamora. También en Salamanca, Ávila, Segovia, Soria y Valladolid	Carne	D.O.P: Queso Zamorano, IGP: Lechazo de Castilla y León	Raza rústica, capaz de pastorear en cualquier tipo de terreno.
CHURRA	Valle del Duero, coincide con la Comunidad autónoma de Castilla y León	Leche	D.O.P: Queso Zamorano IGP: Lechazo de Castilla y León	Extensivo Semi-extensivo, Intensivo
LATXA	Noroeste de Navarra, Guipúzcoa, Este de Vizcaya y Noreste de Álava	Leche	D.O.P: Queso Idiazábal, Queso Roncal IGP: Cordero de Navarra	Sistema semi-extensivo
MANCHEGA	Región de la Mancha	Leche	D.O.P: Queso Manchego IGP: Cordero Manchego	Sistema semi-extensivo

Fuente: Catálogo oficial de razas, MAPAMA, última consulta el 15/01/2019.

Tabla 1.

(Continuación). Clasificación de las razas ovinas autóctonas de fomento.

Raza	Distribución geográfica	Uso	Productos	Condiciones de manejo tradicional
MERINA	Por todo el mundo. En la península Ibérica: Sur u Oeste peninsular	Carne	IGP: Cordero de Extremadura	Sistema extensivo.
NAVARRA	Distribuida por Álava, Burgos, Soria, La Rioja, Navarra y Aragón	Carne	IGP: Cordero de Navarra	Combinación de pastoreo con semiestabulación
OJINEGRA DE TERUEL	Provincia de Teruel y zonas limítrofes de Tarragona y Castellón.	Carne	D.O.P: Ternasco de Aragón	Sistema extensivo
RASA ARAGONESA	Valle del Ebro	Carne	IGP: Ternasco de Aragón	Sistema semi-extensivo
SEGUREÑA	Zona montañosa del Segura	Carne	IGP: Cordero Segureño	Sistema extensivo, semi-extensivo

Fuente: Catálogo oficial de razas, MAPAMA, última consulta el 15/01/2019.

2.1.4. Clasificación de canales y tipos comerciales

En relación a la clasificación de las canales de ovino, según la Normativa Europea de Clasificación de Canales de Ovino (Reglamento CE 1249/2008), las canales ovinas pueden clasificarse de la siguiente manera: L (Canales de ovejas menores de 12 meses de edad: corderos) y S (para otras canales de ovino).

➤ **Modelo comunitario de clasificación de canales de cordero ligero.**

Las canales de cordero ligero se pueden clasificar según:
(Reglamento CE 1249/2008)

- 3 categorías de peso: **A:** ≤ 7 kg; **B:** 7,1-10 kg; **C:** 10,1-13 kg
- Calidad: 1^a y 2^a

En España, los principales **tipos de corderos comerciales** se clasifican según la edad, el tipo de alimentación y el peso del animal (MAPAMA, Denominaciones comerciales de la carne del ovino). Dependiendo de su edad, el tipo de alimentación y peso, podemos distinguir las siguientes denominaciones comerciales: Lechal, ternasco, pascual y ovino mayor. Otros autores como Sañudo, Sánchez y Alfonso (1998), realizaron una clasificación más detallada tal y como se muestra en la **tabla 2**. Actualmente el uso de marcas de calidad diferenciadas se consideran una estrategia comercial deseable en el sector ovino, ya que son muy apreciados por el consumidor (Gaspar *et al.*, 2011). El Reglamento (CE) 1151/2012 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 21 de noviembre de 2012, sobre los regímenes de calidad de los productos agrícolas y alimenticios, establece las definiciones de marcas de calidad tales como la Denominación de Origen Protegida (DOP) y de la Indicación Geográfica Protegida (IGP). En el caso de la carne, por su forma de producción, la IGP es utilizada como marca de calidad siendo definida en el artículo 5 por dicho reglamento como:

Tabla 2.

Clasificación de los tipos de corderos comerciales.

Cordero	Edad	Peso	Alimentación
LECHAL	1 -1,5 meses edad	8 kg peso vivo	Lactancia materna
LIGERO			
• Ternasco/recental	<4 meses	8,5-11,5 kg peso canal.	Leche materna+ pienso/pastos
• Pascual	>4 meses	12-14 kg peso canal	Piensos/pastos
CEBO PRECOZ	90-100 días edad	13-15 kg peso canal	Concentrados
CEBO PESADO	-	18 kg peso canal	Concentrados
PASTENCO	4- 7 meses edad	12-14 kg peso canal	Pienso + pastos
OVINO MAYOR	>1 año		Exportación

Fuente: Sañudo, Sánchez y Alfonso (1998)

“Un nombre que identifica un producto originario de un lugar determinado, una región o un país, que posea una calidad determinada, una reputación u otra característica que pueda esencialmente atribuirse a su origen geográfico, y de cuyas fases de producción, al menos una tenga lugar en la zona geográfica definida.” En definitiva, los productos bajo el amparo de la IGP se reconocen mediante el símbolo de la Unión Europea (**Figura 3**). Este símbolo es de carácter obligatorio para los productos agroalimentarios y de carácter voluntario en el caso de bebidas espirituosas y vinos.



Figura 3. Logotipo para el etiquetado de productos bajo la IGP. (Fuente: MAPAMA. Calidad diferenciada)

Actualmente se establecen 6 Indicaciones Geográficas Protegidas (IGP) de cordero reconocidas por toda España, y son las siguientes: Ternasco de Aragón, Lechazo de Castilla y León, Cordero Manchego, Cordero de Extremadura, Cordero de Navarra (Nafarroako Arkumea) y Cordero Seguro (MAPAMA. Catálogo oficial de razas de ganado en España, 2019). A través de estas marcas de calidad, se consigue diferenciar las características y cualidades de la carne de ovino, como en el caso del cordero Segureño. Este reconocimiento implica que los animales bajo IGP se encuentran protegidos por la propia legislación europea frente a imitaciones y fraudes, de esta forma, no solo se consigue proteger al producto, sino también a los productores y a los consumidores.

2.2. CORDERO SEGUREÑO

2.2.1. Condiciones establecidas para la Indicación Geográfica Protegida (IGP)

El ovino Segureño es una raza rústica y adaptada al medio montañoso que debe su nombre a la sierra y río Segura, dónde tuvo lugar su origen y donde se explota en la actualidad. Lo que diferencia al cordero de las Sierras de la Segura y La Sagra es su procedencia, su raza y su cría en altitud. Los corderos nacen y se crían siempre dentro de la zona protegida IGP, hasta que se llevan al matadero. De acuerdo con la normativa de la Unión Europea, para que un producto agroalimentario pueda ser protegido bajo una IGP, al menos, una de las etapas de su producción, transformación o elaboración debe realizarse en la zona protegida. Lógicamente, esta etapa es la decisiva en cuanto a las características, cualidades o reputación del producto. En el caso del Cordero Segureño, el nacimiento y cría de los corderos se deben realizar en la zona delimitada mientras que su sacrificio y despiece se pueden llevarse a cabo tanto dentro como fuera de la zona. El Reglamento de Ejecución (UE) 1242/2013 sobre sistemas de calidad para productos agrícolas y alimentarios, culminó con el tedioso proceso de constitución de la IGP del Cordero Segureño. La Asociación Nacional de Criadores de Ovino Segureño (ANCOS) fue la promotora de este proyecto y, tras casi 10 años de duro trabajo, en diciembre de 2013, la IGP Cordero Segureño fue inscrita en el registro europeo de Denominaciones de Origen e Indicaciones Geográficas Protegidas. Gracias a este reconocimiento, el Cordero Segureño está protegido por la legislación europea, por lo que no solo se protege al producto de posibles imitaciones y fraudes, sino también se protege a los productores, garantizando una competencia leal, y a los consumidores, garantizándoles productos de gran valor añadido.

➤ **Características de las canales**

Los animales se deberán sacrificar antes de los 95 días de vida, una vez que hayan alcanzado un peso vivo de entre 20 y 25 kg. Sólo se podrán comercializar con la etiqueta IGP “Cordero Segureño” aquellas canales oreadas que pesen de 9 a 13 kg sin cabeza ni asaduras. Para llevar a cabo la maduración de la carne del cordero Segureño, ésta deberá airearse al menos 24 h después del sacrificio para obtener carne de rosácea, sin sabor ni olor a sebo de cordero. A modo de resumen y de acuerdo a lo establecido en el Reglamento (CE) nº 510/2006 del Consejo y el pliego de condiciones decordero Segureño, sobre la protección de las indicaciones geográficas y de las denominaciones de origen de productos agrícolas y alimenticios; las características de la canal que deben poseer los animales para ser incluidos bajo la Indicación Geográfica Protegida serán las siguientes:

- ✓ Peso de la canal completa: 9.0-13.0 kg
- ✓ Clasificación de la canal: Categoría B y C (Según la Normativa Europea de Clasificación de Canales de Ovino: Reglamento CE 1249 /2008)
- ✓ Conformidad de la canal: Categoría R y O (Según la Normativa Europea de Clasificación de Canales de Ovino: Reglamento CE 1249 /2008)
- ✓ Cobertura grasa de la canal: Entre 2 y 3 (escala propia)
- ✓ Color carne: rosa pálido a rosa

➤ **Zona geográfica definida para la IGP**

La raza Segureña debe su nombre a la zona geográfica que ocupa: la sierra del entorno del río Segura. La zona geográfica para la IGP está formada por 144 municipios ubicados a más de 500 metros de altitud sobre el nivel del mar, condicionando las características agroclimáticas y los

sistemas de producción. Convencionalmente, la raza Segureña se ha explotado principalmente en las provincias de Albacete, Almería, Granada, Jaén y Murcia, (**Figura 4**), situadas dentro de las Cordilleras Béticas Orientales y formada por 144 municipios. Las zonas geográficas protegidas de dichas zonas son: la Sierra de Alcaraz, la Sierra del Segura, el Noroeste de Murcia, la Campiña Norte de Jaén, el condado d Jaén, la Sierra del Segura, la Loma y las Villas, la Sierra de Cazorla, el Altiplano de Granada, Comarca de Guadix, Comarca de los Vélez, Valle de Almanzora y Filabres-Alhamilla.

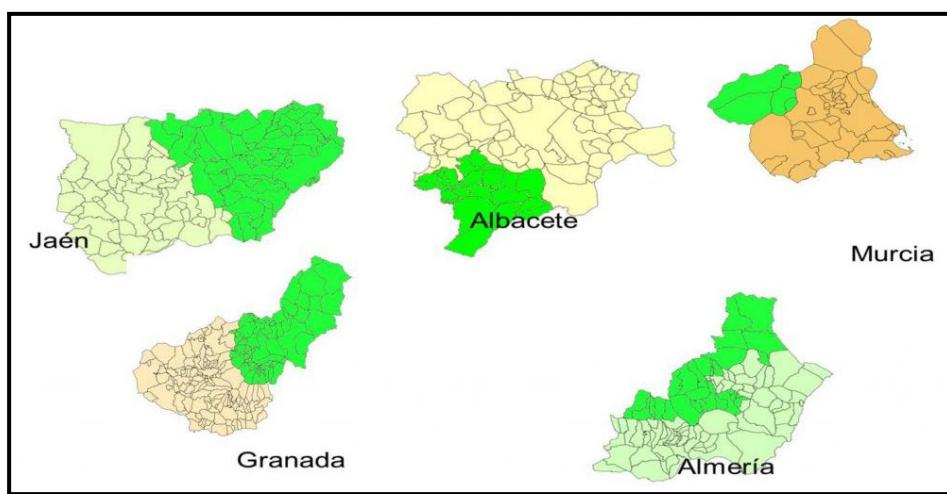


Figura 4. Territorios dónde se localiza el Cordero Segureño IGP. (Fuente: ASODECO. Condadodejaen.net).

Concretamente, en la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia la IGP se concentra principalmente en la Comarca del Noroeste (Caravaca de la Cruz, Moratalla, Bullas, Cehegín y Calasparra). Estas zonas se caracterizan por tener una altitud media de 500 metros y comparten características geográficas y condiciones climatológicas homogéneas, en cuanto al medio natural y los métodos de producción. La temperatura media en los meses más fríos comprende entre los -10 °C y los 7 °C y el tipo de clima que prevalece es el continental, con inviernos fríos y duros, veranos calurosos y secos.

➤ Sistemas de producción

Las condiciones agroclimáticas han condicionado en gran medida el sistema de producción del ovino Segureño. Las características de la zona, condicionan que el sistema de producción de las ovejas de raza Segureña se haya adaptado a dichas condiciones, donde se explotan en régimen extensivo o semi-extensivo, siendo un modelo de explotación mixta oveja/pasto natural y oveja/cereal, dentro del cual se desarrollan las prácticas tradicionales. Los animales adultos se mantienen en pastoreo durante todo el año, pernoctando en los apriscos o, en algunos casos, directamente en el campo. Se aprovecha, mediante pastoreo, la vegetación espontánea autóctona de la zona, así como pastos de rastrojeras de cereal y leguminosas forrajeras y, ocasionalmente, praderas permanentes de regadío, utilizando en cada época la potencialidad de la zona de producción (**Figura 5**). El pastoreo se puede complementar, cuando sea necesario, con la administración de suplementos alimenticios. Cabe destacar que un número reducido de explotaciones practica la trashumancia-tranterminancia, realizándose desplazamientos largos de los rebaños hasta las zonas tradicionales de pastoreo temporal. Estas zonas estarán siempre dentro de la delimitación geográfica de la IGP. En caso contrario, los corderos nacidos y cebados durante la estancia temporal del rebaño fuera de la zona delimitada, no podrán ser amparados por la IGP.



Figura 5. Trashumancia de la oveja Segureña. Fuente: Elaboración propia .(Fotógrafo: J. Otal).

La alimentación de estos corderos se basa en la leche materna, no salen a pastorear, si no que permanecen en la cuadra, protegidos del frío y el calor. El destete se realiza a los 40/ 50 días de edad, y transcurrido ese se les suplementará su dieta con productos ricos en fibra y suplementos alimenticios vegetales, hasta el momento del sacrificio. Los piensos de iniciación, crecimiento y acabado son concentrados autorizados a base de cereales, leguminosas, vitaminas y minerales.

➤ **Marcado y etiquetado**

La IGP «Cordero Segureño» cuenta con un logotipo que identifica a todos los productos amparados (**Figura 6**). Las canales que cumplan los requisitos señalados en este pliego de condiciones, se marcarán desde el cuello a la grupa, con tinta indeleble de uso alimentario, con el distintivo de la Indicación Geográfica Protegida «Cordero Segureño» y quedarán identificadas mediante una etiqueta numerada, colocada en una de las extremidades traseras, en la que se recoge el peso y el distintivo de la Indicación Geográfica Protegida. Las partes despiezadas se identificarán o marcarán con una etiqueta numerada que contendrá el distintivo de la Indicación Geográfica Protegida «Cordero Segureño». Por último, también hay que mencionar la enorme labor de los grupos de investigación de la Universidad de Murcia, el Instituto Murciano de Investigación y desarrollo agrario y alimentario (IMIDA), así como a los criadores y productores locales que con sus esfuerzos y su larga trayectoria de investigación con cordero Segureño, contribuyeron a la instauración de la IGP, lo que muestra la enorme importancia de la colaboración académica con la industria alimentaria.



Figura 6: Logotipo para el etiquetado e identificación del IGP. Cordero Segureño.
(Fuente: Pliego de Condiciones Cordero Segureño. Última consulta el 1/05/19).

2.3. LA CARNE DE CORDERO

2.3.1. Consumo de carne y salud

En 2015, tras una exhaustiva revisión de la literatura científica, la Agencia para la investigación del Cáncer (IARC), agencia oncológica de la OMS emitió un informe sobre la carcinogenicidad del consumo de carne roja y carne procesada. En este informe, la carne roja fue clasificada “como probablemente cancerígena para los seres humanos” incluyéndose en el grupo 2A ya que, hay pruebas suficientes de asociación con el cáncer en animales de experimentación. Tal fue la alarma generada, que la OMS tuvo que emitir una declaración al poco tiempo en el que se le recomendaba a la población moderar el consumo de este tipo de cáncer con el fin de reducir el riesgo de cáncer. Sin embargo, el Fondo Mundial de Investigación del Cáncer (WCRF) demostró evidencias en la asociación del consumo de carne roja y procesada con el cáncer colorrectal, por ese motivo, recomendó limitar el consumo de carne roja a menos de 500 g /semana y eliminar el consumo de la carne procesada (World Cancer Research Fund, 2011). Hay

que tener en cuenta, que tanto el informe publicado por la IARC, como las recomendaciones establecidas por el WCRF, no recomiendan que se elimine por completo la carne roja de la dieta, ya que la carne contiene proteínas y micronutrientes de alto valor biológico, esenciales para el mantenimiento de una buena salud. La carne también contiene hierro, zinc y vitaminas como niacina, cobalamina y riboflavina. Sin embargo, la carne roja también puede contener, en diferente proporción, compuesto cuya ingestión se asocia con un aumento en el riesgo de desarrollar enfermedades crónicas. Por ejemplo, se ha visto que la ingestión ácidos grasos saturados (AGS) de cadena larga produce un incremento en las concentraciones de colesterol total y del LDL, y, además, ejercen cierta actividad protrombótica (Rubio, 2002). Por otro lado, en el caso del hierro hemo, un consumo excesivo también puede comprometer la salud, ya que se ha visto que el hierro promueve los cambios oxidativos en la carne, reduciendo su vida útil y dando lugar a la formación de peróxidos lipídicos, con actividad mutagénica, genotóxica y citotóxica (Carlsen, Møller y Skibsted, 2005 ; Czerwonka y Torkarz, 2017). Sin embargo, investigaciones más recientes ponen en duda esta hipótesis. Por lo tanto, la reducción de la ingestión de AGS sin tener en cuenta el nutriente de reemplazo puede tener efectos desfavorables en el riesgo de desarrollar una enfermedad, especialmente si el nutriente de reemplazo más común son hidratos de carbono (CHO) refinados y azúcares agregados; ya que se ha asociado con dislipidemia aterogénica y un mayor riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares (Siri Tarino, Sun, Hu y Krauss, 2010; Ruíz-Núñez, Dijk-Brouwer y Muskiet, 2016).

El problema reside, ya no en los nutrientes que contiene la carne en sí, sino más bien en la forma de prepararlos. En el caso de la carne roja, se suele consumir cocinada, ya que mejora su digestibilidad y palatabilidad, sin embargo, puede provocar la formación de compuestos cancerígenos como son las aminas heterocíclicas, los hidrocarburos aromáticos policíclicos, o los óxidos del colesterol (en inglés, COP) dependiendo principalmente del tipo de cocinado. Aquellos que llevan elevadas temperaturas (por encima de 150 °C), durante largos períodos de tiempo y en contacto directo con la llama o una superficie caliente, son los que favorecen una mayor producción de aminas heterocíclicas y los hidrocarburos aromáticos policíclicos. Por

ejemplo, las aminas heterocíclicas son compuestos mutagénicos y cancerígenos que están presentes, principalmente, en la carne y pescado cocinados como consecuencia de la reacción de Maillard con precursores como los aminoácidos y azúcares (Janoszka, Blaszczyk Damasiewicz-Bodzek y Sajewicz, 2009). La concentración y el tipo de HA dependen del método de cocción, tiempo y temperatura de cocción, la presencia de precursores, agua y grasa en el producto crudo (Janoszka *et al.*, 2009). Por otro lado, la oxidación de los lípidos que ocurre en la carne durante la cocción también puede promover la formación de sustancias peligrosas con actividad mutagénica y enfermedades coronarias como los COP (Gil, Bañón, Laencina y Garrido, 2004).

Desde el punto de vista de la alimentación/nutrición, la carne es un alimento fundamental en la dieta, no obstante, debemos poner atención en el método, el tipo y la temperatura empleada durante el cocinado.

2.3.2. Características de calidad

El Código Alimentario Español define a la carne como la parte comestible de los músculos de bóvidos, óvidos, suidos, cápridos, équidos y camélidos sanos sacrificados en condiciones higiénicas (BOE, 1967). El concepto de calidad ha sido ampliamente analizado por numerosos autores en las últimas décadas, ya que se trata de un concepto muy subjetivo que varía en función de los eslabones de la cadena alimentaria que lo evalúe. El número de investigaciones para establecer criterios de calidad en la carne ha aumentado de forma significativa, como consecuencia de las nuevas demandas de los consumidores cada vez más informados. Según el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, el concepto de calidad alimentaria se define como “*el conjunto de propiedades y características de un alimento, como consecuencia de las exigencias previstas en las disposiciones obligatorias relativas a las materias primas o ingredientes utilizados en su elaboración, a los procesos utilizados en la misma, así como a la composición y presentación del producto final*”. No obstante, el concepto de calidad es muy variable y se establece en función de la

adecuación del producto frente a las exigencias del mercado. Según la FAO, la calidad de la carne se puede definir en función de su calidad composicional y otros factores como su aspecto, olor, firmeza, jugosidad, ternura y sabor y se puede definir teniendo en cuenta los siguientes factores:

- ✓ Apariencia visual: Se basa en el color de la carne, el veteado y la capacidad de retención de agua. El veteado juega un papel importante en la jugosidad y sabor de la carne.
- ✓ Olor: El producto debe tener un olor característico en función de la especie animal, sin presentar olores extraños.
- ✓ Firmeza: La carne debe ser más firme que blanda. Debe ceder a la presión, pero no estar blanda.
- ✓ Jugosidad: Depende de la cantidad de agua retenida por un producto cárnico cocinado. La jugosidad potencia el sabor.
- ✓ Terneza: Relacionada con factores como la edad o el sexo del animal.
- ✓ Sabor: El sabor y el aroma son fundamentales, ya que son las sensaciones que el consumidor experimenta al comer. El sabor de la carne puede variar en función de la especie animal, la dieta, el método de cocción y el método de preservación

En definitiva, hoy en día la nutrición y la sostenibilidad se están convirtiendo en factores decisivos de compra en consumidores, cada día más preocupados por su salud y el medio ambiente (Erasmus, Muller y Hoffmann, 2017). En consecuencia, la demanda de alimentos está cambiando, centrándose más en la calidad del producto en vez de en la cantidad. La calidad de los alimentos está vinculada a parámetros como los nutritivos o sensoriales (apariencia, flavor, textura, color). Por último, existen otros parámetros que podríamos considerarlos como “intangibles” ya que son parámetros que no se pueden medir de forma física, pero que tienen gran

repercusión en la decisión de compra de los consumidores como son, la religión, ideología ética, el bienestar animal o la producción sostenible de los alimentos (Font-i-Furnols y Guerrero, 2014). En este sentido, la presente tesis va en la línea de mejorar nutricionalmente la calidad de la carne de cordero Segureño a través de la producción sostenible como es la cría en semi-extensivo.

2.3.3. Factores que influyen en la calidad de la carne

❖ Factores *antemortem*

La calidad de la carne está influenciada por factores *antemortem* y *postmortem* (Buxadé, 1998). Los factores *antemortem* están relacionados con la condición del animal antes del sacrificio, la raza, la edad, el sexo, el sistema de explotación, la castración, la dieta, el transporte, la estabulación en matadero y el manejo *antemortem*.

➤ Individuo, raza, cruce y sexo

La calidad de la carne depende de factores genéticos como el individuo, la raza, el cruce o el sexo (Dal Bosco, Mugnai, Roscini, Paci y Castellini, 2014), así como del entorno de producción y procesado (Hopkins y Mortimer, 2014). El efecto del **sexo** en rasgos de calidad no está claro, ya que hay disparidad de resultados en las investigaciones, sin embargo, se ha visto que hay parámetros menos susceptibles al sexo que otros, como es el caso del pH, el color o la grasa intramuscular (Tejeda *et al.*, 2008; Díaz *et al.*, 2003; Kaic, Mioč, Kasap y Levart, 2016). Sin embargo, existen otros rasgos como es el perfil de ácidos grasos que si puede verse modificado por el sexo del animal (Santos *et al.*, 2015; Cividini, Levart y Žgur, 2008; Díaz *et al.*, 2003).

Por ejemplo, Kaic *et al.* (2016) encontraron diferencias significativas en el perfil de ácidos grasos de los corderos machos y hembras. Ellos atribuyeron estas diferencias entre sexos a que los corderos machos presentaron mayor proporción de ácido linoleico (c18:2 n-6) y linolénico (c18:3α n-3). Borys, Borys, Oprządek y Przegalińska-Gorączkowska (2011) también obtuvieron resultados similares en cuanto al efecto del sexo sobre el perfil lipídico. En su estudio, los corderos machos presentaron menor contenido de ácido palmítico (C16:0), pero mayor relación de ácidos grasos insaturados (AGI), principalmente C18:2 n-6 y C18:3 n-3; sin embargo, no encontraron diferencias significativas entre sexo y colesterol. Tejeda *et al.* (2008), también encontraron una mayor proporción de ácidos grasos poliinsaturados (AGP) en la carne de corderas que de corderos, aunque atribuyeron estas diferencias al peso de sacrificio del animal. El mayor grado de saturación de la grasa de las corderas se relaciona con que las hembras rumiantes alcanzan el peso al sacrificio antes que los corderos, influyendo en la deposición grasa. Sin duda, el nivel y el tipo de hormonas, afectan la expresión de ácidos grasos, aunque ese efecto es relativamente pequeño (Ponnampalam *et al.* 2014). En ocasiones, la **raza** puede afectar a determinados parámetros de calidad como el color. Teixeira, Batista, Delfa y Cadavez (2005) presentaron valores significativamente más altos de luminosidad (L^*) en la carne de corderos que en la carne de las corderas con el mismo peso de sacrificio, lo que podría ser debido a que las hembras presentan mayor precocidad que los machos. Geay, Bauchart, Hovquette y Culoli (2001) determinaron que la cantidad de grasa está relacionada la raza. Las características más importantes que pueden variar son la cantidad de grasa y el lugar dónde se deposita (Sañudo *et al.*, 1998). En función de la raza, la grasa puede ser mayor o menor y puede depositarse por vía subcutánea, intermuscular o intramuscular. Desde el punto de vista sensorial, la grasa de la carne juega un papel importante, por lo que cabe esperar una variación en la calidad de la carne de rumiantes en función de la raza (Erasmus *et al.*, 2017). Por otro lado, el porcentaje de grasa intramuscular en la carne de cordero también puede verse influido por este factor. Por ejemplo, según Blasco (2017), la raza Segureña pura, presentó mayor contenido graso en comparación con otras razas, lo que concuerda

con los datos reportados por Blasco, Campo, Balado y Sañudo (2018) en ovino Segureño.

Por lo que respecta a los **cruces genéticos**, en ocasiones el mestizaje puede ser una herramienta útil para la producción de carne de cordero de calidad, ya que puede mejorar la rentabilidad al mejorar el rendimiento de los animales. Por ejemplo, Blasco *et al.* (2018) mostraron una mejora en cuanto a la proporción de proteínas siendo superior en los cruces de Texel con Segureña; sin embargo, dicho cruce también presentó una menor proporción de ácido oleico (C18:1) en su contenido. Sin embargo, Faria *et al.* (2012), no encontraron diferencias significativas en los dos cruces de corderos, ya que presentaban características de calidad de carne similares y posiblemente, las diferencias fueron demasiado pequeñas para ser percibidas por el consumidor. El cruce entre razas puede ser útil en función del objetivo que se pretenda conseguir, sin embargo, hay otros efectos, como la alimentación, que predominan (Fisher *et al.*, 2000).

➤ Dieta materna y de los corderos

Como se verá en detalle más adelante en el apartado de “**estrategias dietéticas para mejorar la calidad de la carne**”, el tipo de dieta puede influir en aspectos como la tasa de crecimiento del animal, el peso del canal, la proporción músculo/ grasa de la carne, características organolépticas como el sabor (Zervas y Tsipakou, 2011), el perfil lipídico, la oxidación de lípidos, deposición de grasa (Luciano *et al.*, 2012) y el color de la carne y de la grasa (Priolo, Micol, Agabiel, Prache y Dransfield, 2002). La mejora en el contenido de ácidos grasos poliinsaturados (sobre todo los omega-3) en el cordero se ha convertido en una prioridad para el sector cárnico (Flakmore, Malau-Aduli, Nichols, Malau-Adlui, 2017). Sin embargo, los esfuerzos para satisfacer con éxito la demanda de productos cárnicos más saludables son complejos. Factores como la dieta, el metabolismo del rumen, el nivel y la fuente de lípidos de la dieta pueden ser decisivos (Hess, Moss y Rule, 2008). En rumiantes, casi más de la mitad de los ácidos grasos son

saturados, prevaleciendo C16:0, el esteárico (C18:0) y el mirístico (C14:0). De los ácidos grasos monoinsaturados (AGM), destacan en mayor proporción el C18:1 y el C16:0 (Cividini *et al.*, 2014); mientras que, de los AGP, el que presenta mayor concentración en la carne son el C18:2 n-6 y el C18:3 α n-3 (Blasco, 2017).

El metabolismo en el rumen adquiere un papel importante en la hidrogenación de los ácidos grasos omega-3 de cadena larga. La biohidrogenación (BH) del rumen está formada por un conjunto de procesos bioquímicos mediante el cual los AGI de la dieta (principalmente el C18:1, C18:2 n-6 y C18:3 α n-3) se isomerizan e hidrogenan para finalmente convertirse en C18:0 por la microbiota de rumen (Santos- Silva *et al.*, 2019). Las dietas ricas en forrajes proporcionan ácidos grasos como el vaccénico (C18:1 11t) y el ruménico (C18:2 c9, t11) que se depositan en sus tejidos pudiendo modular el perfil de ácidos grasos poliinsaturados de la carne de rumiante (Bessa, Alves y Santos-Silva, 2015). Los forrajes más verdes son fuente de ácidos grasos de tipo omega-3, aunque puede variar según la madurez, las especies forrajeras o los procesos de producción. Por ejemplo, se ha visto que los procesos de producción de heno conllevan a una pérdida de los ácidos grasos precursores del ácido linoleico conjugado (en inglés, CLA) (Tsiplakou, Mountzouris y Zervas, 2006), reduciendo el total de estos ácidos grasos en más de un 50% (Doreau y Poncet, 2000).

Autores como Morales y Ungerfel (2015) y Gallardo *et al.* (2014) estudiaron el impacto de la calidad de los pastos y forrajes sobre la composición de ácidos grasos en la carne de rumiante y en particular, de cordero. Los compuestos secundarios presentes en forrajes desempeñan un papel importante en la composición de los ácidos grasos en rumiantes ya que modulan la BH ruminal (Jayanegara, Kreuzer y Leiber, 2012). Durante la BH del C18:2 n-6 y del C18:3 α n-3 se forman un gran número de isómeros C18:1 y C18:2 n-6 y productos intermedios como el C18:2 c9, t11. En el último paso de la BH se forma el C18:0 (**Figura 7**) (Vasta *et al.*, 2010). En la BH participan principalmente, bacterias del género *Butyrivibrio* como *B. fibrisolvens* que se encargan de convertir el C18:2 n-6 en C18:2 c9, t11 y el C18:2 c9, t11 en C18:1 11t (Paillard *et al.*, 2007). La proporción de ácidos grasos transformados durante la BH puede variar

dependiendo de los cambios en las poblaciones microbianas, reflejándose en el perfil de ácidos grasos intramuscular (Vasta *et al.*, 2009). Diferentes compuestos secundarios como los compuestos fenólicos, que presenta la salvia, cuando son ingeridos pueden reducir la actividad y la proliferación de los microorganismos ruminantes (Min, Barry, Attwoos y McNabb, 2003). Por ejemplo, los taninos, son capaces de reducir la BH de los AGP (Cabiddu *et al.*, 2010), mejorando la transferencia de estos AGP a la carne. Estos efectos están relacionados con la toxicidad de ciertos fenoles sobre las especies microbianas que participan en la BH (Vasta *et al.*, 2010).

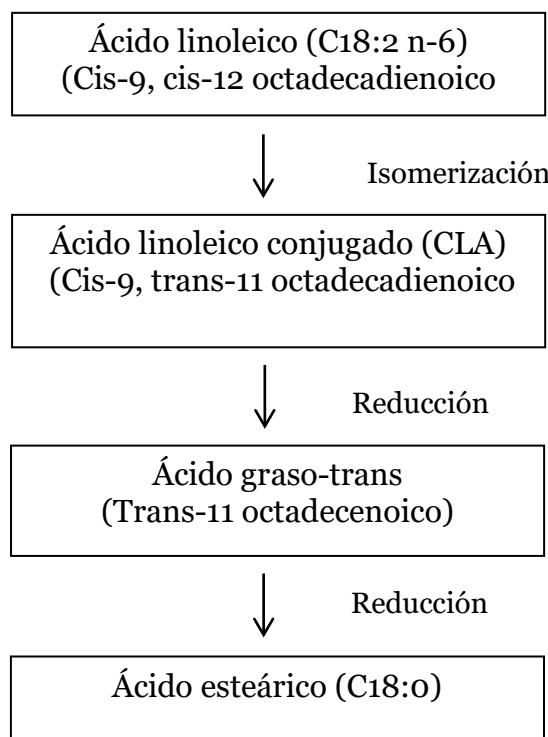


Figura 7. Esquema de la biohidrogenación del ácido linoleico en el rumen. (Fuente: Harfoot y Hazelwood, 1988).

Las especies pastables presentan mayor concentración de C18:2 n-6 que el grano y se ha visto que estos ácidos grasos se hidrogenan rápidamente en el rumen, dando lugar a la formación de AGS como el C18:0, lo que explicaría la diferencia en la composición de la grasa de los

animales rumiantes, con su alto contenido de AGS, frente a la de los no rumiantes (Ward, Scott y Dawson, 1964). Además de proporcionar niveles más altos de C18:3 α n-3, el pastoreo también aumenta el tiempo de tránsito en el rumen debido al tamaño del alimento. El grano, por el contrario, al tener un menor tamaño, reduce el tiempo de tránsito limitando el proceso de BH (Wood *et al.*, 2008). Por ejemplo, Boughalmi y Araba (2016) analizaron el efecto del tipo de dieta (pastoreo vs concentrado) en el perfil de ácidos grasos en corderos de 41 kg de peso vivo. Los resultados mostraron que la alimentación con pastos mejoró el porcentaje de AGP, especialmente en la proporción de omega-3, y CLA.

Por otro lado, la alteración de la composición de ácidos grasos en la carne también afecta directamente a la formación de compuestos volátiles (en inglés, VOC) durante el almacenamiento de la carne fresca o durante el cocinado (Elmore *et al.*, 2005; Gandamer, 2002). Se ha observado que la dieta puede modificar la composición de compuestos volátiles que se forman. Por ejemplo, en ovejas, una alimentación a base de pastos genera compuestos como el 2,3-octanediona, el heptanal, o el ácido octanoico entre otros (Young, Berdague, Viallon, Rousset-Akrim y Theriez, 1997; Calkins y Hodgen, 2007), mientras que una alimentación a base de granos, se ha asociado con una mayor concentración de γ -lactonas (Mottram, 1998). Entre los diferentes VOC, la formación de lactonas parece estar fuertemente ligada a las dietas a base de grano derivadas de la oxidación de los ácidos C18:2 n-6 y del C18:1, presentes en el grano (Vasta y Priolo, 2006). Tal y como observaron Marmer, Maxwell y Williamns (1984), las dietas a base de grano son más ricas en ambos AG en comparación con las dietas a base de pasto. La aparición de compuestos fenólicos como el fenol y el 4-metil-fenol, también está relacionada con el pastoreo ya que se ha demostrado que las plantas pastables son ricas en este tipo de compuestos (Almela *et al.*, 2010). Por otro lado, el 1- butanol se ha determinado como uno de los compuestos volátiles característicos en los animales alimentados a base de concentrados (Almela *et al.*, 2010). También se ha visto, que un aumento en la proporción de ácido C18:2 n-6 en la carne de rumiante, puede aumentar la formación de compuestos volátiles como 1-pentanol, 1-hexanol y 1-octen-3-ol (Fruet *et al.*, 2018). Este efecto se asocia a que la formación

de volátiles como los aldehídos, y se correlacionan positivamente con la autoxidación de ácidos grasos poliinsaturados (Vasta y Luciano, 2011). En definitiva, la dieta influye en el flavor de la carne. El “flavor pastoral” es característico de la carne de cordero criado en sistemas extensivos y se relaciona con el sabor a “hierba”, “animal”, “fecal” y “establo” entre otros. Sin embargo, para los consumidores que están acostumbrados a la carne de sistemas intensivos, este atributo les resulta desagradable (Schreurs, Lane, Tavendale, Barry y McNabb, 2008). Como ya se ha comentado anteriormente, las dietas a base de grano aumentan el contenido de ácidos grasos ramificados, lactonas y aldehídos, ya que se producen fermentaciones bacterianas más intensas. Los compuestos formados dependerán un poco del tipo de cereal empleado en la alimentación. Sañudo *et al.*, (2000) establecieron la relación entre el aroma y el sabor de la carne de cordero y el tipo de dieta. Por ejemplo, se ha visto que los pastos son más ricos en C18:3 n-3, es el precursor de varios aldehídos insaturados como el 4-heptanal, 2,4-heptadienal y 2,6-nonadienal y ácidos grasos volátiles como el 4-metiloctanoico, isononanoico y el 4-etilcaprílico. Además, las dietas a base de pasto también favorecen la deposición de alquifenoles en la grasa ovina, como el 4-metilfenol, que ha sido relacionado con el “olor a animal” (Almela *et al.*, 2009; Young *et al.*, 1997). Existen determinados compuestos que pueden ser utilizados como indicadores de los animales alimentados con pasto. Young *et al.*, (1997), observaron que la 2,3-octanediona se encuentra en los animales que pastan, ya que este compuesto es producido por una lipoxygenasa que se encuentra en las hojas de las plantas y no en las semillas. Este compuesto se formaría durante la masticación de los forrajes verdes, acumulándose en la grasa tras su absorción. Las notas de olor a “cordero” están claramente vinculadas a la formación de indoles, concretamente, al escatol. El escatol (3-metil-indol) es el principal compuesto característico del flavor pastoral en la carne de rumiante (Young *et al.*, 1997; Young, Lane, Priolo, y Fraser, 2003). El escatol es un producto de degradación del triptófano en el rumen, por lo que las dietas basadas en forrajes ricos en proteínas y carbohidratos no fibrosos generan una mayor degradación del triptófano y como resultado, una mayor producción de escatol (Sheath, Coulon y Young,

2001).

La suplementación dietética con grasas y aceites también puede modificar el perfil de ácidos grasos de la carne y, tanto, los compuestos volátiles. Por ejemplo, se ha observado que, cuando los corderos son suplementados con productos ricos en AGP, son más susceptibles a la oxidación (Gravador *et al.*, 2015^a) y debido a esta condición, son más susceptibles al desarrollo de compuestos volátiles asociados a la oxidación de AGP. Por ejemplo, la carne de rumiantes suplementados con aceite de pescado (rico en omega-3), presenta mayor proporción de compuestos volátiles asociados a la oxidación de AGP n-3 como son el 2-pentenilfurano, 2- etilfurano y el 1-penten-3-ol (Elmore *et al.*, 2005). Esto es debido a que, los AGI presentes en la carne contienen dobles enlaces susceptibles de ser atacados por el oxígeno, lo que dar lugar a compuestos carbonílicos derivados (Elmore *et al.*, 2005). Se ha observado que la formación de compuestos como el 1-octan-3-ol proviene de la degradación del C18:2 n-6, mientras que el 1-penten-3-ol resulta de la oxidación del C18:3 n-3, por lo tanto, un aumento de la proporción de estos ácidos grasos en la carne de cordero envasada y/o cocinada a consecuencia de la dieta, puede traer consigo un aumento en la formación de dichos compuestos volátiles (Elmore *et al.*, 2005). Por otro lado, la inclusión de antioxidantes dietéticos ricos en compuestos polifenólicos también puede disminuir la formación de compuestos volátiles de la oxidación lipídica (Rivas-Cañedo *et al.*, 2013). Estos antioxidantes pueden ser efectivos, aunque pueden verse alterados por los procesos digestivos y metabólicos, variando así su capacidad antioxidante y su biodisponibilidad. En ocasiones, existen ingredientes dietéticos que presentan actividad antioxidante *in vitro*, pero no consiguen mejorar la estabilidad oxidativa de la carne, posiblemente a consecuencia de los procesos digestivos y metabólicos (Salami *et al.*, 2019).

La alimentación también puede influir sobre el color del magro y de la grasa, aunque existe cierta confusión en la literatura. Se ha observado que el pastoreo generalmente proporciona una coloración más oscura a la carne en comparación con la carne de animales alimentados a base de concentrado (Priolo, Micol y Agrabiel, 2001), sin embargo, estos resultados no son concluyentes, ya que otros estudios similares no han encontrado

cambios de coloración con dietas similares (Santé- Lhoutellier y Gatellier, 2008). Las diferencias en la coloración de la carne podrían estar más relacionadas con la edad del animal durante el sacrificio y la concentración muscular de vitamina E. Por ejemplo, Ponnampalam *et al.*, (2016) observaron que la carne de cordero pesado alimentado con pasto contiene más vitamina E que la carne de cordero alimentado con pellets comerciales; sin embargo, ambas presentaron un nivel reducido de vitamina E que no ayudó a retrasar la pérdida del enrojecimiento. Por otro lado, si comparamos estos resultados con los que obtenidos en un estudio posterior por los mismos autores (Ponnampalam, Butler, Burnett, Jacobs y Hopkins, 2013^a), con condiciones similares de alimentación, el enrojecimiento de la carne no se vio afectado, pero la concentración de vitamina E en el músculo fue mayor (3.2 mg/kg de carne) porque los animales se sacrificaron con más edad y tuvieron más tiempo para acumular mayor proporción de vitamina E procedente de la dieta. En conclusión, a pesar de que la dieta pastoral mejoró la proporción de vitamina E en el músculo, la edad del animal al sacrificio fue determinante en el retraso del deterioro del color.

La búsqueda de nuevos antioxidantes naturales ha aumentado en los últimos años. Entre los antioxidantes naturales que podrían utilizarse en alimentación animal, los extractos de plantas ricos en polifenoles podrían ser una opción interesante. La inclusión de hierbas y especias como aditivos en el pienso es un hecho, sin embargo, se requieren más estudios que muestren los efectos de la inclusión de estas plantas como antioxidantes dietéticos en rumiantes, ya que, en ocasiones, los polifenoles son poco absorbidos o pueden ser rápidamente excretados. Si a todo ello le añadimos los procesos de fermentación ruminal, la biodisponibilidad de estos compuestos y su actividad antioxidante se puede ver comprometida (Manach, Scalbert, Morand, Reme y Jiménez, 2004). Por ejemplo, Gladine, Rock, Morand, Bauchart y Durant, (2007), analizaron la biodisponibilidad del romero, la uva, cítricos y caléndula en rumiantes. Las plantas fueron introducidas directamente en el rumen de las ovejas y se extrajo sangre cada 3 h durante un periodo de 30 h. Los resultados mostraron que los procesos de BH no inhibieron las propiedades antioxidantes de estas plantas, lo que no impediría que cierta cantidad de compuestos

antioxidantes pasen a la sangre tras su ingesta. Ortúñoz *et al.* (2015^a) analizaron la actividad antioxidante de la suplementación con extracto de romero (rico en ácido carnósico y carnosol) en la dieta de los corderos segureños. Los resultados mostraron que la incorporación del extracto de romero en la dieta del cordero permitió una deposición de metabolitos diterpénicos en la carne mejorando su estabilidad oxidativa. Sin embargo, no siempre una mayor capacidad antioxidante implica una mayor estabilidad oxidativa. Por ejemplo, Aouadi *et al.* (2014) analizaron el efecto de la suplementación dietética de corderos con aceite de romero y artemisa. Los resultados mostraron que, a pesar de que ambos aceites presentaban propiedades antioxidantes y su administración mejoró la capacidad de reducción y eliminación de radicales del músculo, los aceites no fueron capaces de proteger frente a la oxidación. Los autores atribuyen este efecto al hecho de que los aceites en la dieta aumentaron la concentración de los ácidos grasos oxidables en el músculo, disminuyendo la capacidad antioxidante. Valenti *et al.* (2018) también obtuvieron resultados similares suplementando la dieta de los corderos con taninos (condensados e hidrolizables) de mimosa, castaño y tara, sin embargo, la estabilidad oxidativa de la carne no se vio mejorada, posiblemente al bajo contenido de tocoferoles en la carne. Aunque la mayoría de los compuestos fenólicos se absorben a lo largo del tracto intestinal, como es el caso de los taninos hidrolizables, los taninos condensados en alimentación animal no han dado buenos resultados, ya que no se degradan en el rumen y por lo tanto no se absorben (López-Andrés *et al.*, 2013). A pesar de todo, no hay muchos estudios que investiguen la biodisponibilidad de los compuestos fenólicos en rumiantes, sin embargo, autores como Moñino, Martínez, Sotomayor, Lafuente y Jordán (2008) encontraron compuestos fenólicos en el músculo de los corderos que fueron alimentados con leche de ovejas suplementadas con romero. Además de su capacidad antioxidante, la carne procedente de animales suplementados con plantas ricas en compuestos fenólicos también puede mostrar actividad antimicrobiana como el estudio realizado por Ortúñoz, Serrano y Bañón (2017). En él, evaluaron el uso del extracto de romero (600 mg/kg alimento) y la vitamina E (600 mg/kg) en las dietas de los corderos. Los resultados mostraron que los extractos de romero

tuvieron una mayor actividad antimicrobiana que la vitamina E, posiblemente debido a la sensibilidad de las bacterias a los compuestos fenólicos presentes en el extracto de romero como es el ácido carnósico. Otros estudios como Simitzis *et al.* (2014) adicionaron aceite esencial de canela en corderos. Sin embargo, a pesar de que diferentes estudios *in vitro* abalaban las propiedades antimicrobianas de la canela, el grupo de Simitzis no reportaron ningún efecto antimicrobiano. Los autores establecieron la necesidad de aumentar la concentración de los aceites esenciales para lograr los mismos efectos que los obtenidos *in vitro*.

➤ Sistema de cría

Los sistemas de producción pueden ser intensivos, mixtos o extensivos, aunque en la actualidad no quedan muchas explotaciones ovinas que se dediquen a la producción extensiva. Como ya hemos comentado previamente en el apartado del “**cordero Segureño**”, la cría tradicional de la oveja Segureña, se basa en animales ligeros, criados en un corto periodo de tiempo, alimentados *ad libitum* hasta alcanzar un peso de sacrificio entre 20 y 25 kg de peso vivo (Armero y Falagán, 2015). El sistema intensivo generalmente supone una mejora en la productividad frente a los sistemas extensivos (Ekiz *et al.*, 2019). Este hecho se ha justificado, entre otros factores, por el incremento del tamaño digestivo y la disminución de la cobertura grasa en los animales criados en pastos (Borton, Loerch, McClure y Wulf, 2005). Por otro lado, la tasa de crecimiento también puede verse alterada por el sistema de cría, ya que los corderos criados en sistemas de pasto suelen tener una conformación más delgada debido a la práctica de ejercicio (Joy, Álvarez-Rodríguez, Revilla, Delfa y Ripoll, 2008). La práctica de ejercicio, asociado a los sistemas extensivos, también puede afectar al color del músculo del animal. Generalmente, estos animales producen una carne mucho más oscura, tal y como informaron Dunne, Monahan y Moloney (2011). Esto es debido a que la actividad física aumenta la capacidad oxidativa y la actividad mitocondrial tal y como informaron Dunne, O’Mara, Monahan, French y Moloney (2005). En su estudio mostraron que existe una relación entre el

color de la carne, la práctica de actividad física, la cantidad de oximoglobina y la tasa de consumo de oxígeno. La oximoglobina es la forma oxigenada de la mioglobina cuando este se une una molécula de oxígeno al grupo hemo de la mioglobina y da como resultado carnes de color rojo brillante. Dependiendo del tipo de músculo, la proporción de oximoglobina puede variar en función de la actividad física (Vestergaard, Oksbjerg y Henckel, 2000). Por ejemplo, un aumento de la capacidad de las enzimas respiratorias, a consecuencia del ejercicio, en músculos como *longissimus dorsi*, puede dar lugar a un aumento de los pigmentos hemo. En general, los corderos alimentados con concentrados obtienen mayores ganancias de peso diarias, y por tanto crecen más rápido que los alimentados con pasto (Armero y Falagán, 2015). Sin embargo, dependiendo del tipo de pasto y la disponibilidad de nutrientes, el rendimiento de los corderos puede ser comparado al de los sistemas intensivos. Recientemente se ha demostrado que los corderos alimentados con pastos de alfalfa tuvieron tasas de crecimientos similares a los obtenidos por los corderos alimentados con piensos de engorde (Ponnampalam, Norng, Burnett, Dushea, Jacobs y Hopkins, 2014^b).

Otro factor a tener en cuenta y que puede afectar a la calidad de la carne es el estrés generado en el destete del animal. Tras el parto, los corderos desarrollan un vínculo muy fuerte con sus madres. Con el paso del tiempo, el amamantamiento disminuye gradualmente hasta que los corderos ganan independencia nutricional y social (Weary, Jasper y Hötzl, 2008). En muchos sistemas de producción, los corderos son separados de las ovejas muy jóvenes y de forma abrupta cuando alcanzan entre los 2 y 5 meses de edad tras el parto. Esta separación genera un malestar en el animal, lo que puede empeorar la calidad de la carne (Napolitano, Cifuni, Pacelli, Riviezzi y Girolami, 2002). El destete artificial conlleva factores estresantes para el cordero, relacionados con los cambios físicos y sociales que se dan en el entorno del animal (fin de la lactancia, reemplazo de leche por alimentos sólidos, nuevo entorno, etc.) alterando, la calidad de la carne (Freitas –de-Melo y Ungerfeld, 2016). En el sureste de España los sistemas extensivos de cría de corderos no son muy abundantes, debido

principalmente a la escasez de pastos, agua y a la salinidad del suelo (Armero y Falagán, 2015). Sin embargo, la creciente demanda de productos cárnicos más respetuosos con el medio ambiente, la mejora del bienestar animal, así como la PAC de la UE, están estimulando el interés de los sistemas de producción extensivos, que mejoren la calidad de la carne. Aunque este apartado se desarrollará en profundidad más adelante en el apartado de “**Estrategias dietéticas para mejorar la calidad de la carne**”, numerosos estudios han mostrado el efecto beneficios del pastoreo sobre la calidad de la carne, mejorando el ratio n-6/n-3 y el perfil de ácidos grasos) (Díaz *et al.*, 2002 ; Joy *et al.*, 2012^a, Fritas-de-Melo y Ungerfeld, 2016, Nuernberg, Fischer, Nuernberg, Ender y Dannenberger, 2008; Hamdí *et al.*, 2016).

➤ Edad y peso al sacrificio

Además de la dieta y el sistema de cría, otro de los factores que afecta en gran medida a la calidad de la carne es el peso y la edad al sacrificio de los corderos. La edad puede afectar en la calidad de la carne a consecuencia de las diferencias en el tracto digestivo y en la deposición del tejido adiposo. Los animales jóvenes presentan un rápido crecimiento muscular que da lugar a la formación de colágeno altamente soluble, lo que aumenta la terneza de la carne (Ito, Valero, Prado, Rivalori, Perotto y Prado, 2012). Por otro lado, los animales de más edad pesan más y esto puede influir en el enfriamiento de las canales, disminuyendo el pH y, en consecuencia, alterando características de la calidad de la carne como la terneza y el color (Hopkins y Mortimer, 2014), lo que coincide con lo reportado por Della Malva *et al.* (2016). Por tanto, los animales más viejos pueden tener una mayor deposición de compuestos químicos generadores de olor en el tejido graso. De esta forma, a medida que estos compuestos se acumulan en la grasa, generarán un sabor más acentuado. También se ha visto que la edad influye en la insaturación de los triglicéridos del tejido adiposo de los corderos (Webb y Casey, 1995). El olor y sabor característico en la carne de cordero se debe a la presencia de ácidos grasos de cadena ramificada como son el 4-metiloctanoico o el 4-metilnonanoico, presentes en los triglicéridos

(Wong, Johnson & Nixon, 1975). La concentración de estos ácidos grasos y, por tanto, la intensidad de los olores y sabores característicos del ovino, tiende a ser mayor en corderos enteros en comparación con los castrados, y aumenta con la edad del animal (Young *et al.*, 2006). El color también experimenta un cambio a medida que aumenta la edad del animal. Se ha observado que hay un aumento del color de la carne a medida que aumenta la edad del animal y esto es porque los animales con más edad presentan un aumento de la mioglobina en los músculos (Hopkins, Stanley, Martin, Toohey y Gilmour, 2007; Ledward y Shorthose, 1971). Esto refleja el aumento de la capacidad oxidativa muscular a medida con que los animales envejecen, lo que se traduce en una mayor concentración de hierro (Pannier *et al.*, 2010). Otro estudio realizado por Zgur, Cividini, Kompan y Birti (2003), confirmó que la carne de los corderos con mayor peso al sacrificio presentaba menores valores de L* y mayor coloración rojiza. Por último, hay que señalar el efecto del estrés. Los animales, al igual que los seres humanos, son sensibles a las situaciones de estrés, de esta manera si un animal sufre estrés durante la cría, éste afectara posteriormente a la calidad de la carne. Dentro de los tipos de estrés que pueden afectar a la calidad de la carne, podemos encontrar, en primer lugar, el estrés que pueda existir en la granja y, en segundo lugar, el estrés previo al sacrificio (las condiciones de manejo, transporte, etc.) (Sañudo *et al.*, 1998); que, aunque el tiempo que deben permanecer los animales en los corrales a la espera del sacrificio puede variar en función de las características del matadero, no se debe exceder las 72 horas (FAO; Manejo presacrificio y métodos de aturdimiento y de matanza).

La carne es el resultado de dos cambios bioquímicos que ocurren en el periodo de *postmortem* y que son el establecimiento del *rigor mortis* y la maduración. El principal proceso que se lleva a cabo durante el *rigor mortis* es la acidificación muscular y en ella, el pH del músculo desciende desde valores en torno a 7 hasta valores alrededor de 5.5 durante las 12- 24 h tras el sacrificio, en el caso de ovinos. En este sentido, el estrés previo al sacrificio es un factor muy importante ya que hace que se reduzcan las reservas de glucógeno muscular, de tal manera que, al momento del

sacrificio, se inicia la glucólisis anaerobia en el músculo dando como resultado un pH superior a 5.8 24 h después del sacrificio. La carne con un pH superior a 5.8 refleja una menor cantidad de luz, aumenta la cantidad de agua retenida y presenta una apariencia oscura, seca y/o firme. Estas características le dan a la carne la condición de DFD (por sus siglas en inglés: dry, firm, dark) (Pérez-Linares, Sánchez-López, Rios-Ricon y Olivas-Valdez, 2013). Apple *et al.* (1995) estudiaron el efecto de distintos factores estresantes en ovinos y encontraron que aquellos animales que fueron sometidos a tratamientos estresantes presentaron valores de pH significativamente mayores ($> 6,0$) a los que no fueron sometidos a estrés (5,72 - 5,74).

❖ Factores postmortem

Los factores postmortem comprenden el sacrificio, el pH muscular, el despiece, el enfriamiento y el grado de refrigeración tras el sacrificio y la maduración (Erasmus *et al.*, 2017). El procesado de la carne cruda y cocinada (manipulación, condiciones de conservación, etc.) también forma parte de los factores postmortem.

➤ Sacrificio del animal

Para llevar a cabo el sacrificio, los animales, por razones éticas, deben ser insensibilizados antes de la matanza. Este periodo de aturdimiento va desde el momento en el que se inicia la matanza hasta el tiempo que se necesita para que el animal se desangre hasta morir. Todos los métodos de aturdimiento provocan un aumento de la presión sanguínea y de la velocidad de los latidos cardiacos, facilitando el desangrado posterior, sin embargo, si el tiempo entre la sangría es excesivamente largo se producirán hemorragias vasculares por extravasación de sangre y por lo tanto disminuirá la calidad de la carne. En España, el método de aturdimiento más común en ovejas y corderos es el aturdimiento eléctrico, sin embargo,

los movimientos reflejos del animal pueden ser un problema para el operario, además, este tipo de aturdimiento puede causar un ataque cardíaco, pérdida de presión sanguínea y pérdida de oxígeno en el cerebro (Lambooij, Potgieter, Britz, Nortje y Pieterse, 1999). Además, puede hacer que la carne madure más rápido a consecuencia de una alteración en el pH de la carne (Vergara y Gallego, 2000). Aunque no hay muchos estudios que analicen el efecto del tipo de aturdimiento en la calidad de la carne de cordero se ha visto que el aturdimiento por gas en corderos da como resultado carnes más tiernas, con menores pérdidas por goteo y marcas de sangre (Vergara, Linares, Berruga y Gallego, 2005; Linares, Bórnez y Vergara, 2008). Sin embargo, a pesar de los beneficios, en 2018, la Directiva del Consejo de la UE 93/119/CE (1993) no estipula la concentración de gas y tiempo de exposición en ovejas.

➤ Obtención de canales

En España, la canal ovina se refrigerará tras el sacrificio, permaneciendo alrededor de 24 h a una temperatura entre 0º y 4 ºC. Tanto las condiciones de refrigeración, como el tiempo y la temperatura, afectan al color, a la carga microbiana y a la terneza de la canal (Fernández y Vieira, 2012). El objetivo principal del enfriamiento es evitar la contaminación microbiana, pero sus efectos sobre el metabolismo del músculo son diversos e influyen sobre la calidad final de la carne. Según Sentandreu, Coulins y Ouali (2002), el proceso de conversión del músculo en carne puede dividirse en tres fases: La fase pre-rigor (durante la cual el músculo permanece excitado), el rigor (ocurre tras el sacrificio del animal, las reservas de glucógeno se agotan y se alcanza la rigidez máxima) y la fase post-rigor (periodo de maduración donde se produce el ablandamiento de la carne). Las condiciones de **refrigeración** de las canales en el desarrollo del *rigor mortis* es uno de los factores asociados a las variaciones en la calidad de la carne de cordero (Sañudo *et al.*, 1998). La **temperatura del músculo** durante las fases pre- rigor y post-rigor también es otro factor a tener en cuenta. La temperatura del músculo en estas fases modula la velocidad de

la glucolisis, lo cual afecta a su vez, al descenso del pH y a la aparición del *rigor mortis* (Olivan, Sierra y Espina, 2013). El **ritmo de enfriamiento** de las canales puede afectar a la calidad de la carne, en concreto puede alterar el pH final. La actividad enzimática depende de la temperatura, por tanto, el grado de enfriamiento incide en la caída de pH. Esta caída viene dada por la producción de ácido láctico en el músculo, lo que altera la velocidad de la aparición del *rigor mortis*. Si el músculo se enfría por debajo de los 10 °C antes de la instauración del *rigor mortis*, la carne obtenida será más dura tras el cocinado (Warris, 2003). El **tiempo de oreo o maduración** también puede alterar la calidad de la carne. La maduración es el conjunto de modificaciones fisiológicas y bioquímicas del músculo llevadas a cabo por los procesos enzimáticos endógenos. Un aumento en la temperatura durante el oreo puede dar un incremento de la velocidad de ablandamiento de la carne a consecuencia de una mayor actividad enzimática de las proteasas que participan en el proceso, como son las catepsinas lisosomales, el complejo de las proteinasas multicatalíticas y el sistema de proteasas dependientes del calcio (calpaínas) (Kooohmaraie y Geesink, 2006; Bianchi *et al.*, 2006^b).

➤ Procesado de la carne fresca

Los hábitos de consumo han cambiado en los últimos años. La proliferación y el desarrollo de las cadenas de "gran distribución", con su oferta de venta en libre servicio, han representado un cambio importante en la venta de la carne de cordero (ALIMARKET, 2001^c). Los cambios en el consumo de este tipo de carne se han visto reflejados en el lugar de compra, dejando atrás las tiendas tradicionales para dejar paso a los grandes supermercados e hipermercados. Ante tal situación, las industrias de carne de ovino han tenido que reinventarse, a través de la ampliación de la gama de sus productos, introduciendo nuevos tipos de envase o diferentes tipos de presentación (ALIMARKET, 2000). De esta forma, actualmente la carne de cordero la podemos encontrar en diferentes presentaciones: piezas (piernas, paletillas y chuleteros), filetes, o en forma de carne picada (Almela

et al., 2009). La tendencia actual para poder comercializar este tipo de cortes frescos va enfocada en el empleo de diferentes tipos de envasado como es el vacío o la atmósfera modificada. Este tipo de envasados utilizan plásticos con baja permeabilidad a los gases (para O₂: 20 ml/m² por 24 h y para el CO₂: 50 ml/m² por 24 h). El envasado al vacío es un buen método para controlar las reacciones de oxidación y el crecimiento de bacterias aerobias, debido a la falta de oxígeno en su interior (Reis, Reis, Mils, Ross y Brightwell, 2016), sin embargo este tipo de envasado no está muy extendido en carne roja, ya que la ausencia de oxígeno trae consigo un cambio de color, por lo que la carne acaba adquiriendo un color pardo (poco deseable para el consumidor) a consecuencia de la aparición de la metamioglobina. El color de la carne es clave en la decisión del consumidor, por lo que una carne que ha perdido el color rojo brillante puede ser percibida por el consumidor como una carne poco fresca, rechazando el producto por completo.

Una alternativa al envasado al vacío es el uso de atmósferas modificadas (AM), que es uno de los métodos más utilizados en carne fresca. Este sistema utiliza una mezcla de gases, aunque principalmente está compuesta por oxígeno y dióxido d carbono (CO₂) en proporciones variables (20-30% de CO₂ y 70-80% O₂). El CO₂ es utilizado para inhibir el crecimiento microbiano ya que alarga la fase de latencia reduciendo el crecimiento. Por otro lado, el O₂ se emplea para la reducir el crecimiento de bacterias anaerobias y mantener el color rojo brillante de la carne (Jeremiah, 2001). Sin embargo, la elevada exposición al oxígeno puede producir fenómenos adversos como rancidez o incluso puede llegar a alterar su sabor (Reid, Young y Braggins, 1993), de ahí la importancia de aumentar la estabilidad oxidativa de la carne a través de antioxidantes naturales. Los procesos oxidativos a los que está sometida la carne durante el envasado de la carne en AM induce la modificación de lípidos y proteínas deteriorando el sabor, la textura y el color de la carne; así como el desarrollo de compuestos tóxicos, pérdida de valor nutritivo y diminución de la vida útil de producto (Falowo, Fayemi y Muchenje, 2014). La oxidación lipídica, es un proceso complejo, que depende de la composición química de la carne, la luz, el acceso al oxígeno y la temperatura de

almacenamiento (Kanner, 1994). Representa una de las causas más importantes del deterioro en la carne y productos cárnicos. Afecta, principalmente, a los ácidos grasos poliinsaturados y al colesterol. A parte del daño nutricional, la oxidación lipídica genera compuestos citotóxicos y genotóxicos perjudiciales para la salud (Botsoglou, Govaris, Ambrosiadi, Fletourisc y Papageorgioud, 2014). La decoloración de la carne también ocurre durante el proceso de oxidación, debido a que el efecto secundario de la oxidación lipídica es la formación de prooxidantes capaces de reaccionar con la oximoglobina, que da lugar a la formación de metamioglobina (Franquel, 1998). La oxidación lipídica puede reducirse o inhibirse mediante el uso de antioxidantes. Los antioxidantes son considerados aditivos alimentarios cuando se añaden a los alimentos de forma intencionada con la finalidad de favorecer su conservación. Aunque el uso de aditivos conservantes no está autorizado en la carne fresca, si se pueden utilizar ingredientes naturales con propiedades antimicrobianas y antioxidantes, como alternativa a los conservantes artificiales. En este sentido, diferentes estudios han demostrado con éxito que el empleo de antioxidantes naturales en las estrategias de alimentación animal puede ayudar a retardar o prevenir las reacciones de oxidación, dificultando el desarrollo de sabores desagradables (De Mello, Calkins, Jenschke, Dugan and Erickon, 2012; De Mello *et al.*, 2018; Fruet *et al.*, 2018). Este apartado se desarrollará más en profundidad en el apartado de “**Uso de PAM en alimentación animal**”

Por último, los métodos habituales de venta al por menor en los que se comercializa la carne de cordero suelen ser principalmente en vitrinas refrigeradas, envasados en atmósferas protectoras bajo iluminación fluorescente, lo que mantiene aceptable entre 8 y 9 días (Ortuño, 2014). La temperatura del almacenamiento influye en los parámetros de calidad de la carne, por ejemplo, la aplicación de frío (0-4 °C refrigeración) puede producir cierta deshidratación superficial de la carne. Por el contrario, la congelación (-18 °C) reduce las pérdidas por goteo y evaporación, permitiendo alargar la vida útil de la carne. Por otro lado, el envasado en atmósfera protectora también puede alterar la calidad de la carne, por ejemplo, se ha visto que el envasado al vacío provoca un cambio de color de

rojo a púrpura al reducir la presencia de oxígeno en contacto con la carne. Aunque esta pérdida de color es reversible, el consumidor puede rechazar el producto por resultar poco atractivo. Al contrario de lo que ocurre con en el envasado al vacío, el envasado en atmósferas modificadas (ricas en oxígeno y dióxido de carbono), favorecen la preservación del color rojo brillante, gracias a la hiperoxigenación de la superficie de la carne. Sin embargo, el empleo de altas concentraciones de oxígeno potencia la oxidación lipídica, lo que puede limitar la vida útil de la carne por enranciamiento (Ortuño, 2014).

➤ Tratamiento culinario

El cocinado de la carne afecta a todos los parámetros sensoriales, además mejora la higiene, el sabor y la terneza de la carne (Rodríguez-Estrada, Penazzi, Caboni, Bertacco y Lercker, 1997). Los métodos de cocinado se pueden dividir en **secos** (como por ejemplo el asado), y **húmedos** (como el hervido o el *sous vide*). El cocinado en seco, como puede ser la parrilla, o el asado, se caracteriza por el empleo de tiempos cortos y temperaturas altas que rondan los 150-200 °C. Por otro lado, en los métodos de cocción húmedos se emplea agua y alcanzan temperaturas que oscilan entre los 70 °C (si es cocción a vacío) o los 110 °C (si es cocción a presión). En resumen, los métodos de cocinado pueden comprender un amplio rango de temperaturas, que pueden ir desde 50 °C en el centro de un filete a la parrilla hasta los 200 °C en la superficie de la carne asada, incluso la temperatura puede ser constante, como en el guisado que alcanza alrededor de los 100 °C. No solo la temperatura sino también el tiempo de cocción y el grado de deshidratación de la carne dependen del tipo de cocinado. Por la temperatura que alcanzan, los métodos de cocción con calor seco a altas temperaturas favorecen la deshidratación y las reacciones de Maillard, mientras que los métodos de cocción húmedos, dificultan esta reacción (Kanokruangrong, Birch y Berkhit, 2019; Sanchez del Pulgar, Roldán y Ruiz-Carrascal, 2013). El flavor de la carne cocinada va a depender en gran medida del método de cocinado empleado. Durante el

tratamiento térmico se generan una serie de compuestos aromáticos y sápidos a partir de la reacción de Maillard y la oxidación de lípidos. La reacción de Maillard es una reacción entre el grupo carbonilo de un azúcar reductor y el grupo amino de los aminoácidos de los alimentos cuando estos son sometidos a altas temperaturas, generando ese color y olor a tostado (Kanokruangrong *et al.*, 2019). La oxidación de los lípidos, que, junto con las degradaciones de aminoácidos de Strecker y la degradación térmica de la tiamina, son los responsables la formación de compuestos volátiles en la carne cocinada (Roldán, Ruiz, Sánchez del Pulgar, Pérez-Palacios y Antequera, 2015).

El **sous vide (SV)** es un tipo de cocción a vacío que consiste en cocinar los alimentos bajo condiciones controladas de temperatura y tiempo dentro de bolsas de vacío termoestables (Ruiz, Calvarro, Sánchez del Pulgar y Roldán, 2013). El sellado a vacío permite que el calor se transfiera desde el agua al alimento, inhibiendo la oxidación y evita la pérdida de compuestos volátiles y humedad durante la cocción. Esta técnica es cada vez más utilizada, por cocineros, servicios de catering y empresas de alimentos que producen comidas para llevar (Roldán *et al.*, 2015). Estudios, como los reportados por Rodríguez-Estrada *et al.* (1997) y Hernández, Navarro y Toldrá (1999), han demostrado que el asado produce un aumento de la oxidación de lípidos en comparación con otros métodos de cocinado, posiblemente debido a que en el asado se alcanzan temperaturas más altas durante un periodo de tiempo más largo. Sin embargo, Rodríguez-Estrada *et al.* (1997) observaron que el cocinado en el microondas (menor tiempo y menor temperatura) también eleva la oxidación lipídica. Varios autores han explicado este hecho por la diminución de la concentración de ácidos grasos poliinsaturados en los alimentos tras su cocción en microondas, relacionando este hecho, con un posible aumento de los productos de oxidación procedentes de esos ácidos grasos (Hernández, Navarro y Toldrá, 1999; Yoshida, Hirakawa, Tomiyama, Nagamizu y Mizushina, 2005). Silva, Ferreira, Madruga y Estévez (2016), también analizaron el impacto de los diferentes métodos de cocinado (asar, parrilla, fritura y *sous vide*) sobre el color y la textura de carne de pollo y determinaron que la técnica *sous vide* mejoraba la textura

de la carne y disminuía la pérdida de agua por cocción.

El efecto del calor sobre el flavor de la carne cocinada depende de la temperatura alcanzada, el tiempo de exposición y la humedad ambiente. El calor no es uniforme por toda la carne. Por ejemplo, en el asado, la zona que está en contacto directo con la fuente de calor puede alcanzar los 150 °C, mientras que la carne se mantiene en el centro a 70 °C (Almela *et al.*, 2009). De esta forma, en función del tratamiento culinario, se formarán unos compuestos u otros. Por ejemplo, el asado aumenta la velocidad de formación de compuestos como aldehídos, cetonas y pirroles, sin embargo, disminuye la formación de alcanos, alquenos y furanos. Algunos compuestos como los tioles están asociados a la carne hervida, mientras que los compuestos sulfurados, triazoles y piridinas se asocian más con la carne asada (Almela *et al.*, 2009). Por ejemplo, Roldán *et al.* (2015), analizaron el efecto de las diferentes combinaciones de temperatura (60 y 80 ° C) y el tiempo de cocción (6 y 24 h) en la formación de compuestos volátiles en los lomos de cordero cocinados mediante *sous vide*. Los resultados mostraron que, a mayor tiempo y temperatura de cocción, menor formación de aldehídos. Este descenso a temperaturas altas y tiempos más largos pudo deberse a las reacciones adicionales de los compuestos carbonílicos con los grupos amina de lisina, cisteína y glutatión, formando otros compuestos volátiles (Zamora, Gallardo e Hidalgo, 2008). Sin embargo, se observó el efecto contrario para el 2-metilpropanal y el 3-metilpropanal, ya que estos compuestos se ven favorecidos por temperaturas altas y tiempos largos (Roldán *et al.*, 2015). La vía principal de formación de estos aldehídos ramificados es la degradación de los aminoácidos de Strecker, concretamente estos aldehídos se forman a partir de la degradación de la valina y la leucina (Huang y Ho, 2001). Bueno *et al.* (2011), describieron los compuestos característicos que contribuyen al olor de la carne de cordero asada: (Z)-2-heptenal, 2,5-dimetilpirazina, (Z) -2-decenal y (E, E)-2,4-decanienal. Además, analizaron el efecto de la congelación en la carne de cordero cocinada y concluyeron que la carne de cordero cocinada previamente congelada contenía una mayor concentración de etilhexanoato, ácido butanoíco y ácido 3-metil-butanoico, mientras que la carne fresca cocinada presentaba una mayor proporción de ácido octanoico y pirazinas.

Esto sugiere la existencia de algún proceso de transformación durante el congelado, alterando el sabor final.

Sin duda el cocinado causa varios efectos positivos sobre la carne, como una mejora en la digestibilidad y en el sabor del producto (Rodríguez-Estrada *et al.*, 1997) o un aumento de la vida útil del producto. Sin embargo, el cocinado de la carne, también conlleva efectos negativos como la generación de productos oxidados del colesterol (en inglés, COP) (Broncano, Petrón, Parra y Timón, 2009). Diferentes estudios han confirmado la relación entre los productos de oxidación de lípidos y enfermedades como el cáncer (Boyd y McGuire, 1991) o la arterioesclerosis (Esterbauer, Wág y Puhl, 1993). La oxidación lipídica también afecta al colesterol y a la formación de COP. Los COP son grupos de esteroles con una estructura similar a la del colesterol, pero que tienen un grupo adicional (hidroxi, cetona o un epóxido) en sus moléculas. Los COP no se encuentran en los alimentos frescos, pero si en alimentos expuestos a calor, ya que su formación está relacionada con la temperatura del cocinado, el tiempo, las condiciones de almacenamiento y el envasado. Por otro lado, la iluminación también puede favorecer la formación de COP, ya que induce a la oxidación. Se ha visto que los COP predominantes en los alimentos son el 7-quetocolesterol, el β -epoxicolesterol y el α -epoxicolesterol (Hur, Park y Joo, 2007). La determinación de estos compuestos es de suma importancia ya que numerosos estudios han demostrado que estos compuestos son un peligro para la salud por su estrecha relación con enfermedades coronarias, ateroesclerosis entre otras (Broncano *et al.*, 2009). Por tanto, se necesitan nuevas estrategias culinarias que contribuyan a reducir la formación de estos compuestos no deseados, sin alterar las cualidades organolépticas de la carne.

➤ Catering

Hoy en día se ha incrementado el uso de platos preparados, tanto refrigerados, como cocinados, para su uso en servicios de restauración. Durante un servicio, la carne cocinada puede permanecer varias horas en refrigeración o atemperada, expuesta a la oxidación del aire y la luz,

acelerando el deterioro microbiano (Ahn, Grün y Mustapha, 2007). Los primeros signos sensoriales del deterioro de la carne cocinada son la decoloración de la superficie y el deterioro del sabor. Cuando la carne es expuesta en condiciones de catering se mantiene en calor durante un largo periodo largo de tiempo y, aunque, no existen estudios que analicen el efecto del catering sobre la calidad y la estabilidad de la carne. En cierta manera, el efecto del catering se puede comparar con estudios que analizan el recalentamiento y el cocinado a bajas temperaturas durante largos tiempos. El recalentamiento de los alimentos tiene un impacto en los compuestos volátiles porque durante la cocción, las membranas se rompen y deshidratan, lo que hace que los fosfolípidos sean más propensos a la oxidación (Kanokruangrong *et al.*, 2019). Khan *et al.* (2015) analizaron los efectos del cocinado, el almacenamiento y el recalentamiento sobre la formación de óxidos del colesterol en carne procesada. En el estudio recalentaban los productos con microondas, horno y asado. Los resultados mostraron que el recalentamiento posterior al cocinado aumentaba notablemente la cantidad de productos de oxidación del colesterol. Choe *et al.* (2018) evaluaron la influencia del cocinado, el tiempo de almacenamiento y el recalentamiento en muslo de pollo y encontraron que la combinación del cocinado a vapor y el cocinado por microondas junto con el recalentamiento en el microondas llevan a la formación de óxidos del colesterol, sin embargo, la cantidad total de óxidos del colesterol en el muslo de pollo crudo no fue diferente a los obtenidos en carne calentada y recocida a los 6 días de almacenamiento. En cualquier caso, existe poca información sobre el efecto del mantenimiento en caliente en el estado oxidativo y sus consecuencias sensoriales, en particular, sobre los compuestos derivados de la oxidación de lípidos que se forman en la carne de cordero.

Por otro lado, en los últimos años la industria de restauración está implementado, cada vez más, el uso del cocinado a bajas temperaturas durante tiempos prolongados ya que permite una mejora de la terneza y la jugosidad, así como mantiene el color del alimento durante más tiempo (Christensen, Bertram, Aaslyng y Christensen, 2011). La temperatura que se suele emplear suele estar alrededor de 65 °C y 90 °C., mientras que el

tiempo de cocción se sitúa en torno a las 2-8 h, en función del tipo de alimento (Hrdina-Dubsky, 1989). Este cocinado permite una menor pérdida de agua, sabor y aroma en el producto. Sin embargo, a pesar de las ventajas, varios autores han destacado el posible desarrollo de microorganismos como *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*, productores de exotoxinas termostables que pueden poner en riesgo la seguridad alimentaria. Por tanto y con el objetivo de reducir el desarrollo de microorganismos patógenos, se recomienda mantener a temperaturas mayor o igual a 65 °C, las comidas destinadas a conservarse en caliente hasta su servicio, permitiendo que el centro del alimento alcance temperaturas superiores a 65 °C (Departamento de Sanidad y Consumo, Gobierno Vazco, 2010). En cuanto a la oxidación lipídica, se ha visto que un cocinado a menores temperaturas durante más tiempo reduce el ratio de oxidación en comparación con muestras cocinadas a más temperatura durante menos tiempo. Por ejemplo, Vaudagna *et al.* (2002) informaron que la carne de vaca cocinada a 50 °C durante 6,5 h tuvieron menor ratio de oxidación que la carne cocinada a 65 °C durante 1,5 h. Para explicar este efecto los autores sugirieron que hay que tener en cuenta que el hierro es un catalizador importante para la rancidez oxidativa de la carne. En el caso de las carnes rojas cocinadas es el hierro no hemo. Las temperaturas que se alcanzan en los tratamientos se sitúan dentro del rango de desnaturalización de proteínas, por lo que el hierro liberado podría actuar como un catalizador en el proceso de oxidación de lípidos (Christensen *et al.*, 2011). Siguiendo esta línea, Sánchez del Pulgar *et al.* (2013), observaron que la carne de cerdo cocinada en *sous vide* a 80 °C durante 5 h en mostró mayor proporción de compuestos volátiles en comparación con las muestras cocinadas a 80 °C durante 12 h. Los autores atribuyeron estos resultados al efecto promotor del calentamiento sobre la degradación de los ácidos grasos poliinsaturados como el C18:3α n-3, aumentando también la cantidad de radicales libres capaces de atacar otros ácidos grasos menos susceptibles a la oxidación como C18:1., lo que conlleva a la formación de otros compuestos volátiles como el heptanal, o el octanal (Vaudagna *et al.*, 2002).

2.4. ESTRATEGIAS DIETÉTICAS PARA MEJORAR LA CALIDAD DE LA CARNE

Como ya se ha indicado anteriormente, la dieta de las madres y los corderos es, quizás, el factor con mayor influencia en la calidad de la carne. En el caso de las ovejas, las posibilidades son tres: madres alimentadas con piensos, subproductos agrícolas y/o pastos disponibles. La carne de rumiante, como el cordero, tiene un alto contenido de AGS, y, por lo tanto, es considerada menos saludable que otras (Popova *et al.*, 2015). En este contexto, los ganaderos buscan estrategias que permitan mejorar el perfil lipídico de la carne de cordero, aumentando la proporción de AGP. En los países mediterráneos se suele consumir carne de cordero lechal y de corderos ligero de cebo con el objetivo de obtener una carne con un sabor débil a cordero. Sin embargo, este sistema de alimentación no ayuda a mejorar la proporción de AGP de la carne. Los cereales utilizados en este tipo de alimentación son ricos en ácidos C18:2 n-6 y C18:1, que una vez hidrogenados en el rumen, forman ácidos C18:0 y C16:0 (Enser, Hallet, Hewitt, Fursey, Wood y Harrington, 1998). El perfil nutricional de la carne de cordero, puede ser mejorado a través de la alimentación materna. Dentro de las estrategias que se pueden emplear para mejorar la calidad de la carne de cordero encontramos el pastoreo o la suplementación dietética con subproductos agrícolas, aceites, etc. (Scerra *et al.*, 2007; Elmore *et al.*, 2005). Por ejemplo, un aumento de AGP en la dieta de las ovejas puede mejorar la proporción de AGP de la carne de cordero a consecuencia de la transferencia de esos AGP a través de la leche materna. Se ha visto que este efecto es más acentuado en los corderos lechales, ya que al ser alimentados exclusivamente con leche materna y sacrificados a edades muy tempranas (30 y 60 días) no tienen desarrollado el rumen, por lo que su carne reflejará cómo ha sido la dieta de la madre (Vieira, 2019). En el caso del cordero ligero, la dieta materna también influye en la calidad de su carne, sin embargo, estos animales ingieren alimento y han desarrollado el rumen, por lo que son capaces de transformar los AGI de la dieta en AGS, modificando el perfil nutricional de la carne (Gloria-Trujillo *et al.*, 2018). En este sentido,

si sólo tenemos en cuenta la dieta materna, es posible que la mejora nutricional no sea muy marcada, ya que el animal ingiere alimento vegetal y la carne reflejará su dieta. Por lo tanto, si queremos mejorar la calidad nutricional de su carne, necesitamos suplementar su dieta para observar un efecto más marcado.

2.4.1. Dietas mejoradas para ovejas gestantes y lactantes

Investigaciones anteriores realizadas en cordero han demostrado que es posible mejorar la calidad de la carne a través de dieta de las ovejas. Para ello, las estrategias utilizadas principalmente por los ganaderos son la cría en extensivo y semi-extensivo y la suplementación dietética con ingredientes naturales. Las dietas a base de granos se utilizan principalmente en la cría intensiva. Estas dietas proporcionan más hidratos de carbono y mayores niveles de ácido C18:1 y C18:2 n-6. Este tipo de dieta aumenta los niveles de ácidos grasos ramificados, aldehídos, cetonas y lactonas, lo que le da a la carne, un aroma más intenso a cordero, aunque con ciertas notas dulces (Sebastián, Viallon, Berge, Dransfield y Berdagué, 2003). En ocasiones, las dietas de las ovejas también se complementan con residuos agrícolas como subproductos agrícolas (Tsiplakou y Zervas, 2008; Kotsampasis *et al.*, 2018), subproductos del vino (Gómez-Cortes *et al.*, 2018; Pascual-Alonso *et al.*, 2018), semillas (Guerrero *et al.*, 2018; Berthelot, Bas, Pottier y Normand, 2012; Bonano *et al.*, 2012), quebracho (Lobón *et al.*, 2017), aceites vegetales (Cruz-Hernández *et al.*, 2007; Manso, Bodas, Vieira, Mantecó y Castro, 2011; Vieira, 2019), aceites de pescado (Gallardo *et al.*, 2014; Cruz-Hernández *et al.*, 2007), jabones (Gallardo *et al.*, 2014) y subproductos de plantas aromáticas como subproductos de destilación (Jordán, Moñino, Martínez y Lafuente, 2010; Nieto, 2013 ; Moñino, Martínez y Sotomayor, 2008), hojas (Nieto, Díaz, Bañón y Garrido, 2010). Generalmente, las estrategias dietéticas que se suelen utilizar para la mejora de la calidad de la carne se pueden englobar en 3 grandes grupos: mejora del

perfil lipídico, mejora de la estabilidad antioxidante o combinado de ambas a través del pastoreo materno.

En primer lugar, la **1º estrategia** a destacar es el uso de suplementos dietéticos para mejorar el perfil lipídico. Son numerosos los estudios que avalan los beneficios de la suplementación ovina en la mejora del perfil lipídico de la carne de cordero. Se ha comprobado que la inclusión de semillas y aceites ricos en AGP pueden mejorar el perfil lipídico de la carne de cordero (Vieira, 2019). Berthelot, Bas, Pottier y Normand (2012), analizaron el efecto de la suplementación con linaza extruida en la dieta de ovejas y corderos durante la lactancia y el destete. Los resultados mostraron que la suplementación con linaza solo fue efectiva en corderos destetados ya que mejoró la proporción del C_{18:3} n-3 en la carne. Sin embargo, la suplementación materna con linaza no aumentó la proporción de este ácido graso, debido a que la leche presentaba poca proporción de C_{18:3} n-3. La proporción de AGP en el músculo dependerá del tipo de alimento, la ingesta y los procesos de biohidrogenación, que serán diferentes en función de la forma en la que se suplemente el lípido (aceite o extrusionado). Manso *et al.*, (2011) analizaron el efecto de la suplementación de la dieta de ovejas lactantes con diferentes tipos de aceites (palma hidrogenado, oliva, linaza y soja) y observaron que la composición de ácidos grasos de la leche varió en función del tipo de aceite agregado. Por ejemplo, la inclusión de aceite de oliva, aumentó la proporción de C_{18:1} en la leche y en la carne del cordero lactante, ya que este ácido graso es el que se encuentra en mayor cantidad en el aceite de oliva. Por tanto, se ha visto que la dieta materna rica en AGP puede mejorar el perfil lipídico de la carne de cordero, mediante la transmisión de estos ácidos grasos al tejido del cordero (Lanza *et al.*, 2006). Sin embargo, un aumento de AGP puede comprometer la estabilidad oxidativa de la carne (Vieira, 2019), por lo que, en estos casos, es recomendable el uso de antioxidantes naturales (Gravador *et al.*, 2015^a; Muiño, Apeleo, De la Fuente, Pérez-Santaescolástica y Rivas-Cañedo, 2014). Es más, se pueden buscar que estos suplementos, además de mejorar el perfil lipídico, tengan actividad antioxidante y/o antimicrobiana ya que pueden contener compuestos antioxidantes como los polifenoles, que pueden transmitirse desde la oveja al cordero durante la gestación y la

lactancia. Se ha comprobado que el empleo de fitoquímicos puede ser una buena alternativa, ya que estos productos, a menudo son materiales baratos, con buenas propiedades sensoriales y nutricionales y aceptadas por las ovejas.

Como ya hemos visto anteriormente, un aumento de los AGP compromete la estabilidad de la carne, por lo que la **2º estrategia** dietética va encaminada al empleo de ingredientes naturales que puedan mejorar la capacidad antioxidante de la carne como es el empleo de fitoquímicos. Los fitoquímicos son sustancias presentes en los alimentos de origen vegetal y se encuentran extensamente distribuidos por todas las plantas, donde intervienen en el crecimiento, reproducción y procesos defensivos frente a patógenos (Bravo, 1998). Los antioxidantes naturales son principalmente polifenoles (ácidos fenólicos, flavonoides, antocianinas, lignanos y estilbenos), carotenoides (xantofilas y carotenos) y vitaminas (vitamina E y C) (Baiano y Nobile, 2015). Los efectos protectores de estos metabolitos son atribuidos, principalmente, a su capacidad de transferir radicales libres a los electrones (Heim, Tagliaferro y Bobilya, 2002), activar enzimas antioxidantes (Elliott, Scheiber, Thomas y Pardini, 1992) e inhibir oxidadas (Cos *et al.*, 1998). Este punto, cabe hacer especial atención al uso de las plantas aromático-medicinales (PAM). Las PAM presentan un elevado contenido de estos principios activos como son los compuestos fenólicos, que podrían actuar como antioxidantes y/o antimicrobianos. Además, la industria genera residuos procedentes del proceso de destilación que son desechados, pero que se ha demostrado, que también pueden ser empleados en alimentación animal con buenos resultados por ser ricos en compuestos antioxidantes y/o antimicrobianos (Nieto, 2013). Numerosos estudios han confirmado el efecto de la suplementación ovina con subproductos y/o extractos de plantas aromáticas sobre la carne de cordero Segureño (Moñino *et al.*, 2008; Nieto *et al.*, 2010; 2012; Jordán *et al.* 2010, Jordán, Castillo, Bañón, Martínez-Conesa y Sotomayor, 2014; Serrano, Jordán y Bañón, 2014). Aunque este aparato se ha desarrollará posteriormente, se ha observado que la mayoría de las dietas experimentales suplementadas con PAM presentaron un efecto antioxidante y antimicrobiano en la carne Nieto (2013).

Por último, la **3º estrategia** a destacar combina la mejora del perfil lipídico y de la capacidad oxidante, como es la cría en extensivo y semi-extensivo. Este tipo de ganaderías están ligadas al aprovechamiento de zonas pastables y superficies agrícolas marginales como barbechos de cereal. En general, las dietas a base de pastos proporcionan más proteínas y más C_{18:3} n-3 precursor de diversos aldehídos insaturados y ácidos grasos volátiles. Además, el pasto es rico en compuestos como clorofillas, taninos, terpenos, por lo que las dietas a base de pastos pueden ser una alternativa para obtener una carne de cordero con perfil lipídico más saludable (Almela *et al.*, 2010). Según Daley, Abbott, Doyle, Nader y Larson (2010) en bovinos, aunque la alimentación con pastos proporcionaba una menor proporción de grasa en comparación con las dietas de grano, curiosamente no había diferencias en el contenido total de AGS entre ambas dietas. Sin embargo, sí que encontraron diferencias entre algunos AGS mayoritarios como el C_{14:0} y el C_{16:0}, que fueron más altos en la carne de vacuno alimentada con grano. La falta de diferencias en el total de AGS puede ser debido a que la carne de animales de pasto contiene más proporción de C_{18:0} y posiblemente acabe compensando el balance total. Curiosamente tampoco encontraron diferencias en el total de n-6 entre dietas de pasto y de grano, sin embargo, la carne de vacuno de pastoreo presentó mayor proporción de n-3 y CLA y mejor ratio n-6/n-3.

Varios estudios como los de Joy *et al.* (2008); Joy, Ripoll, Molino, Dervishi y Álvarez-Rodríguez (2012 ^b); Scerra *et al.* (2007); Dervishi, Joy, Álvarez-Rodríguez y Calvo (2011); Mazzone, Giammarco, Vignola, Sardi y Lambertini (2010); Cividini, Levart, Zgur and Kompan (2014); Lobón *et al.* (2017) mostraron la eficacia del pastoreo de la oveja en la mejora la calidad de la carne del cordero. Según Scerra *et al.* (2007), la alimentación materna con pastoreo proporcionó mayor concentración de ácidos grasos monoinsaturados (AGM) en los animales alimentados con concentrados, posiblemente fue debido a la diferencia del contenido C_{18:1}. Los corderos alimentados con concentrados presentaron mayor nivel de engrasamiento que los de pasto y, por lo general, este ácido graso aumenta con el grado de engrasamiento, debido al aumento de la actividad de la enzima D-9-desaturasa, que sintetiza C_{18:1} a partir de C_{18:0} (Bauman, Baumgard, Corl y

Griinari, 2000). Por otro lado, la dieta materna a base de pasto también mejoró la proporción de AGP sobre C18:3 n-3 y CLA. Resultados similares también fueron informados por Mazzone *et al.* (2010) y Joy, Ripoll, Molino, Dervishi y Álvarez-Rodríguez, (2012). Se ha observado que el pastoreo presenta una mayor proporción de C18:3 n-3, principalmente si los pastos frescos (Chilliard, Ferlay y Doreau, 2001). En consecuencia, una mayor ingesta de α -linolénico conllevará a una mayor proporción de AGP como el ácido eicosapentaenoico (C20:5 n-3; en inglés, EPA) y el ácido docosahexaenoico (C22:6 n-3; en inglés, DHA). También se ha observado mayores niveles de CLA y de C18:1 11t en la carne de animales alimentados con pastos frescos en comparación con la carne de animales alimentados con forrajes secos, debido a que la hierba fresca mejora el crecimiento de las bacterias específicas en el rumen (Nudda, McGuire, Battaccone y Pulina, 2005). Existen diferentes factores que pueden afectar a la contribución del forraje a la transferencia de CLA a la grasa de la leche. La composición de ácidos grasos de los pastos y forrajes, depende del desarrollo en el que se encuentra la planta (fase fenológica) en el momento de la ingesta. Por ejemplo, se ha observado que los animales que se alimentan con pastos en fase vegetativa (etapa de crecimiento) presenta un mayor contenido en CLA y C18:3 n-3 en la leche. Sin embargo, si el mismo pasto está en fase reproductiva, la concentración de CLA en la leche disminuye notablemente (Cabiddu *et al.*, 2005). Se ha observado que el contenido de C18:2 n-6 aumenta en las plantas, mientras que el linolénico disminuya durante el paso de la fase vegetativa a la fase reproductiva, dando como resultado una disminución del C18:1 11t y CLA (Cabiddu *et al.*, 2005).

Por otro lado, la estación del año también puede afectar a la composición de ácidos grasos de los forrajes (Mel'uchova *et al.*, 2008) analizaron las variaciones en la composición de ácidos grasos de diferentes plantas forrajeras en función de la estación. Los ácidos grasos predominantes en dichas plantas fueron C18:3 n-3; C18:2 n-6 y, C16:0 y, su contenido varió en función de la estación. El ácido graso más abundante y que más varió fue el C18:3 n-3. Así su contenido disminuyó de un 62% en mayo a un 39% en agosto, aunque posteriormente aumentó ligeramente de agosto a septiembre. Según Revello-Chion, Tabacco, Peiretti y Borrean

(2011), el C_{18:3} n-3 disminuye durante las etapas de crecimiento en las plantas de pasto. Se ha observado que las condiciones climáticas también pueden afectar negativamente la composición de AG el forraje, por ejemplo, se ha visto que, en las sequías, bajo un severo estrés hídrico, las hojas podrían perderse y los nutrientes podrían trasladarse a las raíces, lo que conllevaría a una pérdida de la calidad general del forraje (Buxton, 1996).

En definitiva, la inclusión de dietas mejoradas (pastoreo, incorporación de subproductos vegetales y/o plantas aromáticas) en la dieta de las ovejas gestantes y lactantes pueden mejorar la calidad nutricional de la carne de cordero. Se ha visto que, en ocasiones, una dieta materna mejorada puede ser incluso más efectiva que la suplementación dietética en el propio cordero (Lobón *et al.*, 2017). Por tanto, la inclusión de dietas mejoradas en las ovejas puede ser una estrategia interesante en la producción animal.

2.4.2. Dietas mejoradas para corderos de engorde

A pesar de que no hay muchos estudios sobre el efecto de la suplementación de la oveja en la carne de cordero, afortunadamente sí que existen muchos estudios sobre el efecto de la incorporación de dietas mejoradas en la calidad de los corderos de engorde. Al igual que en las ovejas, las estrategias utilizadas en la alimentación de los corderos son, principalmente, el pastoreo y la suplementación con subproductos agrícolas y/o plantas medicinales.

❖ Empleo de dietas mejoradas en corderos pesados

La bibliografía publicada hasta el momento en cordero demuestra el beneficio del pastoreo de los corderos sobre la calidad de la carne (**Tabla 3**). En este sentido, se han realizado diferentes estudios en los que se pone de manifiesto la capacidad de mejora del perfil lipídico de la carne de cordero

pesado a partir de la alimentación con dietas forrajeras acompañadas (Ponnampalam *et al.*, 2016; Boughalmi y Araba, 2016; Scerra *et al.*, 2011; Lourenço, Cardozo, Calsamiglia y Fievez, 2008; Aurousseau *et al.*, 2007; Fisher *et al.*, 2000). Cabe destacar que las diferencias en AGP n-3 entre corderos de pastoreo y concentrados puede variar en función del tipo de pasto, la duración del pastoreo, tipo de concentrado utilizado. Por ejemplo, Atti y Mhouachi (2009) compararon corderos terminados con pasto seco con corderos acabados con heno y sus resultados no mostraron diferencias en el contenido de C18:3 n-3, C20:5 n-3 o C22:6 n-3.

Como ya se ha comentado anteriormente, en general, las hierbas pastables son ricas en C18:3 n-3 (precursor de la serie n-3), que podrían depositarse en el músculo, aumentando el contenido de AGP n-3 en la carne (Fisher *et al.*, 2000). Ponnampalam *et al.* (2016) observaron el efecto de los diferentes tipos de pastos (trébol y alfalfa) y concentrados comerciales en la estabilidad oxidativa de la carne de cordero, observando que la alimentación del cordero con pastos mejora la concentración de ácidos grasos n-3 de cadena muy larga en comparación con la dieta a base de concentrados. Estos resultados coinciden con los reportados por Boughalmi y Araba (2016); Cividini, Levart and Zgur (2008). Cividini *et al.* (2014) encontraron una mayor proporción de ácidos C18:1 trans 11 y cis-9, trans-11 CLA en la carne de corderos que pastaban, Por otro lado, la proporción de AGP también fue mayor en la carne de pasto. Aurousseau *et al.* (2007), quienes observaron una disminución de C16:0 en la carne de animales de pastoreo, sin embargo, este efecto duró poco tiempo, ya que la concentración de C16:0 aumentó rápidamente al alimentar los corderos con concentrados durante 20 días. Según estos autores, la alimentación a base de concentrados contiene más energía, por lo que, si la ingesta es mayor, la síntesis de ácido láurico (C12:0)-C16:0 también será mayor. Las diferencias en los contenidos de los AG podrían estar relacionadas con factores como, por ejemplo, un cambio en el ambiente ruminal a consecuencia de la dieta (Daniel, Wynn, Salter y Butterly, 2004). De hecho, Smith, Gill, Lunt y Brooks (2009) demostraron que las diferencias en la actividad de la estearoil-CoA desaturasa (SCD) entre bueyes alimentados con maíz y pastos condujeron a la diferencia en la composición de ácidos grasos de la carne de res. Las dietas a base de grano

aumentan la absorción de los ácidos C18:1 y C18:3 n-3, los principales ácidos grasos presentes en los cereales (Jenkins, 1994) por lo que la diferencia entre la concentración de C18:1 entre los corderos que pastan y los corderos que se alimentan a base de concentrados podría estar relacionado con el contenido de grasa intramuscular ya que, por lo general, los corderos criados en establos presentan mayor proporción de esta grasa (Scerra *et al.*, 2007).

Tabla 3.

Comparación del perfil de ácidos grasos (expresados como g/ 100g de ácido graso) entre los corderos pesados alimentados con pasto y concentrado.

Ácidos grasos							
Referencia	Dieta	C18:2 n-6	C18:3 n-3	C20:5 n-3	AGS	AGP	n-6/n-3
Cividini <i>et al.</i> , 2008	C	6.28 ^b	2.88 ^b	1.08 ^b	46.16 ^a	15.82 ^b	2.1 ^a
	P	9,23 ^a	3,27 ^a	1,48 ^a	41,68 ^b	23,14 ^a	1,6 ^b
Boughalmi <i>et al.</i> , 2016	C	5,83 ^b	0,62 ^b	N.D	47,75 ^a	10,42 ^b	6,21 ^a
	P	8,70 ^a	2,12 ^a	N.D	42,43 ^b	18,67 ^a	3,04 ^b
Cividini <i>et al.</i> , 2014	C	5,73 ^b	2,71 ^b	0,92 ^b	46,26 ^a	14,12 ^b	1,47 ^b
	P	7,80 ^a	3,06 ^a	1,74 ^a	40,50 ^b	26,24 ^a	2,23 ^a
Scerra <i>et al.</i> , 2011	C	12,55 ^a	0,51 ^b	0,38 ^b	44,40 ^a	24,60 ^b	12,70 ^b
	P	9,06 ^b	3,13 ^a	1,25 ^a	38,57 ^b	25,93 ^a	3,03 ^a

^{a,b} Efecto de la dieta ($P < 0.05$) (pastoreo (P) vs. Concentrado (C) en cada estudio.

Al igual que en las ovejas, el tipo de dieta también puede afectar al perfil de compuestos volátiles de la carne de cordero. Existen diferentes tipos de compuestos volátiles derivados de la degradación lipídica en la carne cocinada, entre los que cabe destacar hidrocarburos alifáticos, aldehídos, cetonas, alcoholes, ácidos carboxílicos y ésteres. Durante el almacenamiento a largo plazo, las reacciones de oxidación de los lípidos pueden conducir a sabores desagradables, sin embargo, en la carne cocinada, estas reacciones ocurren de forma rápida, dando como resultado un perfil diferente de compuestos volátiles que contribuyen al desarrollo de sabores deseables (Mottram, 1998). En el caso de la carne de rumiante, el olor a “animal”, está relacionado con la presencia de determinados ácidos grasos volátiles ramificados, específicamente con el 4-metilotanoico, 4-etiloctanoico y 4-metilnonanoico. Por otro lado, la carne de rumiante también se caracteriza por la presencia de determinados compuestos volátiles derivados de la cisteína, así como aldehídos, centonas, índoles y otros cuya formación dependerá del tratamiento culinario, de la genética o la dieta del animal (Almela *et al.*, 2010). Entre los diferentes compuestos volátiles derivados de la oxidación lipídica que se forman en la carne cocinada, destacan el hexano, heptano, octano, pentanal, hexanal, heptanal, octanal, nonanal, 2,3-octanodiona, 2-octen-1-ol y 2-pentil-furano (Frankel, 1982). El perfil de compuestos volátiles puede variar en función de la dieta, por ejemplo, según Fruet *et al.* (2018), el ganado vacuno alimentado con pasto presenta valores más bajos de hexanal, 5-metil hexanal y octanal en la carne cocinada, posiblemente debido a que la alta concentración de α -tocoferol en las dietas de pasto llevó a una menor formación de estos compuestos. Sin embargo, la concentración de 2-metilpropanal aumentó en la carne cocinada procedente de dietas a base de pasto en comparación con las dietas de grano. La formación de este compuesto está asociado a la degradación de Strecker y no a la oxidación lipídica (Frank, Kaczmarska, Paterson, Piyasiri y Warner, 2017). Por otro lado, la presencia de niveles más altos de ácido C18:2 n-6 en la carne de bovino alimentado con grano llevaron a una mayor formación de compuestos como el 1-pentanol, 1-hexano y 1 –octen-3 –ol, asociados a la oxidación lipídica. Según Vasta *et al.* (2012) los corderos que pastan presentan una mayor proporción de

aldehídos en la grasa perirrenal, como 4-heptanal, 2,4-heptadienal, 2,6-nonadienal que los corderos criados a base de concentrados. Esto es debido a que los aldehídos derivan de la autoxidación del ácido C18:3 n-3, que predomina en los pastos verdes

Además de la mejora del perfil lipídico, el pastoreo también puede aportar compuestos antioxidantes, como compuestos fenólicos, entre otros. El efecto positivo del pastoreo sobre la estabilidad oxidativa de la carne se atribuye al alto contenido de compuestos antioxidantes disponibles en el pasto fresco ya que, aporta, además, vitamina E, mejorando la estabilidad oxidativa de los AGP (Hajji *et al.*, 2016). Por ejemplo, Yang, Brewster, Lanari y Tume (2002) encontraron elevadas concentraciones de α -tocoferol y β -caroteno en el hígado del ganado bovino alimentado con pastos en comparación con los alimentados con grano. Resultados similares fueron reportados por Prache, Priolo y Grolier (2003) en corderos. Los resultados mostraron mayor contenido de carotenoides en plasma en los corderos que pastaban. Según los resultados mostrados por Santé-Lhoutellier, Engel y Gatellier (2008), las dietas a base de grano mostraron un incremento de los valores del índice de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) en comparación con los animales alimentados con pastos; por otro lado, la oxidación de proteínas y los parámetros de color no se vieron afectados por la dieta. Por ejemplo, el pastoreo de leguminosas forrajeras, aunque es una fuente de compuestos polifenólicos como isoflavonas, taninos y polifenoles. Sin embargo, se ha visto que, en determinadas ocasiones, el consumo de este tipo de forraje también puede comprometer la deposición de vitamina E o α -tocoferol en el músculo (Phelan *et al.*, 2015; Luciano *et al.*, 2019). Aunque no hay estudios disponibles para explicar este efecto, se puede especular en que las isoflavonas que contienen este tipo de forrajes pueden interferir con la absorción intestinal de vitamina E o con su metabolismo post-absorción, lo que disminuiría su deposición en los tejidos (Luciano *et al.*, 2019). Otras dietas ensayadas en corderos pesados compren incluyen, el empleo de materias primas ricas en AGP como ingredientes en el pienso como aceites (Quiñones *et al.*, 2019; Bessa, Lourenço, Portugal y Santos-Silva, 2008; Flakmore *et al.*, 2017; Smeti, Hajji, Mekki, Mahouachi y Atti, 2018), semillas (Berthelot *et al.*, 2012; Lanza, Fabro, Scerra, Bella y Pennisi,

2011; Sun *et al.*, 2015; Jeronimo *et al.*, 2012); algas (Hopkins y Mortimer, 2014; Ponnampalam *et al.*, 2016) o subproductos agrícolas (Gravador *et al.*, 2015^a; Inserra *et al.*, 2014; Luciano *et al.*, 2013).

La suplementación con productos ricos en AGP n-3 puede aumentar la proporción de AGP n-3 en la carne, e incluso puede llegar a ser equiparable con la proporción de AGP n-3 presentes en la carne de corderos que pastan (Kitessa *et al.*, 2010). Según Le *et al.* (2018) todos los corderos alimentados con pastos con o sin suplementación mostraron un alto contenido en AGP n-3. La suplementación con pellets fortificados disminuyó el contenido de AGP n-3 aumentó el ratio n-6/n-3 y tendió a reducir el contenido de ácido C20:5 n-3, C22:6 n-3 y el ácido docosapentaenoico (C22:5 n-3; en inglés DPA) en el músculo de los corderos alimentados con pastos. Como ya se ha comentado en apartados anteriores el empleo de dietas mejoradas a base de pasto o con subproductos pueden aumentar el contenido de AGP n-3 en la carne de cordero, mejorando su calidad nutricional. Sin embargo, es necesario tener en cuenta que, un aumento de los AGP puede comprometer la estabilidad oxidativa de la carne. La suplementación con subproductos agrícolas puede ser utilizados tanto en la mejora del perfil lipídico como para mejorar la estabilidad oxidativa de la carne de cordero. Por ejemplo, Luciano *et al.* (2013), analizó el efecto de la inclusión de la torta de oliva (35 % y 17 %) en las dietas de los corderos de engorde y los resultados mostraron que la suplementación con torta de oliva redujo la concentración de COP (7-Ketocolesterol (7-KC) y el 7β-hidroxicolesol 7 β -HC) durante el almacenamiento. Posiblemente la inclusión de torta de oliva en la dieta podría haber aumentado la concentración de vitamina E en el músculo, reduciendo la oxidación del colesterol. Sin embargo, en ocasiones, la suplementación dietética no siempre mejora la estabilidad de la carne tal y como muestran los resultados del estudio de Simitzis *et al.* (2014). La inclusión de aceite de canela (1 ml / kg de alimento concentrado) durante 35 días no mejoró ni la estabilidad lipídica ni el color de la carne de cordero. Aunque la literatura muestre que estos compuestos pueden exhibir una fuerte acción antioxidante in vitro, el número de animales utilizados, la variación en el tipo de suplemento utilizado (composición química, constituyentes, dosis) así como el peso o la

genética del animal, pueden influir en la actividad antioxidante y /o antimicrobiana (Simitzis, Bronis, Charismiadou, Mountzouris y Deligeorgis , 2014). En ocasiones, la suplementación dietética puede mejorar el perfil de ácidos grasos de la carne sin que exista, a priori, una mejora significativa de la estabilidad oxidativa. Gravador *et al.* (2015^a) tampoco encontraron una mejora en la estabilidad oxidativa de la carne de cordero con la inclusión de algarroba. A pesar de que la suplementación con algarroba aumentó el contenido de AGP, los daños oxidativos en la carne se redujeron gracias al aporte de los taninos de la algarroba, obteniendo resultados de TBARS similares a los de los animales control que contenían un menor contenido de AGP y por tanto eran menos oxidables. Ponnampalam *et al.* (2016) Informaron que la inclusión de algas en la dieta de los corderos durante 8 semanas modifica el perfil de ácidos grasos de la carne de cordero, aumentando la proporción de c20:5 n-3 y c22:6 n-3 en el músculo, sin embargo, la suplementación con algas llevó una disminución del contenido de vitamina E en el músculo y un aumento de la oxidación lipídica.

❖ Empleo de dietas mejoradas en corderos ligeros

En la mayor parte de España las zonas de pastoreo son escasas y se reservan para los ovinos adultos, por lo que los corderos destetados permanecen en los establos y se alimentan con piensos a base de grano hasta alcanzar un peso vivo de alrededor de 25 kg (cordero ligero), como es el cordero Segureño. Por este motivo, las estrategias empleadas en el cordero ligero suelen ser la suplementación con subproductos naturales (ver **Tabla 4**). Al igual que ocurre para los corderos pesados, para mejorar la proporción de AG saludables en la carne de cordero se han testeado diferentes tipos de ingredientes y suplementos (tabla 4) como las semillas (Lestingi, Facciolongo, Marzo, Nicastro y Toteda, 2015; Facciolongo, Lestingi, Colonna, De Marzo y Toteda, 2018), aceites (Díaz *et al.*, 2011; Vasta, Aouadi, Brogna, Scerra y Luciano, 2013), licopeno (Jiang *et al.*, 2015)

o subproductos (Scerra *et al.*, 2018; Ramírez *et al.*, 2018) y, al igual que ocurre en el cordero pesado, la suplementación con alimentos ricos en AGP mejora el perfil de ácidos grasos de la carne de cordero. Vasta *et al.* (2013) analizaron el efecto de la suplementación con aceite esencial de romero (400 ppm) y artemisa (400 ppm) en la dieta de los corderos durante 95 días. Los resultados mostraron que solo los corderos alimentados con aceite esencial de artemisa presentaban una mayor proporción de C18:3 n-3, C18:1 trans -11 y C18:2 c9, t11, por lo que el contenido total de AGP n-3 fue mayor y el ratio n-6/n-3 menor. Sin embargo, la inclusión de aceite de romero no modificó el perfil de ácidos grasos. Estos autores atribuyeron la falta de actividad del aceite de romero que, posiblemente, los terpenos presentes en el romero fueron menos efectivos contra la biohidrogenación ruminal que los presentes en la artemisa. Además, las semillas también pueden aportar AGP. Las semillas de lino son una fuente de AGP n-3, especialmente del C18:3 n-3, por lo que su suplementación en la dieta de corderos ligeros aumenta el perfil de AGP, disminuyendo el ratio n-6/n-3, tal y como mostraron Facciolongo, Lestingi, Marzo, Nicastro y Toteda (2018). Por otro lado, se ha visto que la inclusión de subproductos agrícolas también puede ser una alternativa de mejora nutricional, permitiendo su aprovechamiento. En ocasiones estos productos son ricos en AGP y polifenoles que pueden ser utilizados en el pienso de los corderos de engorda con buenos resultados. Por ejemplo, Scerra *et al.* (2018) analizaron el efecto de la suplementación con pulpa de bergamota fresca (20% y 35%) en la dieta de corderos de cebo durante 90 días. Los resultados mostraron que la suplementación con 35% de bergamota aumentó el contenido de AGP n-3 como el C18:3 n-3 y el C22:5 n-3. Por tanto, el empleo de subproductos agrícolas puede ser una alternativa válida que ayude a reducir la proporción de pienso concentrado ya que pueden ayudar a mejorar el perfil nutricional de la carne de cordero sin comprometer el crecimiento del animal. La suplementación dietética también va encaminada en mejorar la vida útil de la carne. Se ha visto que es posible incrementar la capacidad de conservación de la carne con un perfil lipídico mejorado utilizando antioxidantes naturales en la dieta de los animales. Andrés *et al.* (2014) analizó el efecto antioxidante del empleo de semillas de lino y/o la quercetina en la dieta de los corderos de engorde. Los

resultados mostraron que las semillas de lino no afectaron a la peroxidación lipídica en la carne debido a la presencia de antioxidantes como la vitamina E en el aceite de las semillas. A pesar de que la suplementación con quercitina redujo el contenido de oxisteroles en la carne fresca tras 7 días de almacenamiento, no redujo el contenido de compuestos volátiles derivados de la oxidación lipídica en la carne cocina almacenada y expuesta a luz. Caputi-Jambreghi *et al.* (2005) analizaron la suplementación con ajo fresco (3,5 g/kg), extracto de ajo (500 mg/kg), extracto de romero (500 o 1000 mg/kg) y vitamina E (500 mg/kg de α -tocoferol) y vieron que la suplementación con vitamina E y extracto de ajo previnieron la oxidación lipídica durante el almacenamiento de la carne debido a la ingesta de compuestos antioxidantes procedentes del extracto de ajo. Así mismo, tal y como se verá posteriormente, es posible incrementar la capacidad de conservación de la carne a través de la suplementación con PAM. La incorporación de conservantes naturales procedentes de estas PAM a la alimentación animal también puede representar una herramienta útil para aumentar la vida útil de la carne, y al mismo tiempo, responder a la demanda de alimentos cada vez más seguros y naturales. En este sentido, algunos compuestos activos presentes en las PAM pueden suponer una alternativa al empleo de conservantes químicos como el butilhidroxitolueno (BHT) o el butilhidroxianisol (BHA).

Sin embargo, en ocasiones el tipo de extractos empleados puede no ser muy efectivo. Por ejemplo, Muíño *et al.* (2014) analizaron el efecto de la suplementación con extracto de vino tinto y vitamina E en la dieta de los corderos. La suplementación con extracto de vino tinto (900 ppm) en el pienso Enriquecido con ácidos grasos omega-3, no obtuvo mejoras en la estabilidad oxidativa (TBARS) de los lípidos y de las proteínas, en comparación con dietas suplementadas con vitamina E (300 mg DL- α -tocoferol/kg alimento). La falta de efecto antioxidante puede ser explicada por el aporte de AGP en el pienso. Además, el nivel de compuestos polifenólicos y, por tanto, la capacidad antioxidante del vino tinto puede ser muy variable dependiendo de la variedad d la uva o la tecnología de vinificación.

Tabla 4.

Cuadro resumen sobre diferentes estrategias dietéticas empleadas en cordero para mejorar la calidad de la carne de cordero.

Referencia	Animal	Dieta	Vida útil	Perfil lipídico
Fisher <i>et al.</i> (2000)	Cordero pesado (1 año)	Pastoreo y concentrado	-	Pastoreo: aumento de AGP n-3 (ALA y EPA)
Santé-Lhoutellier <i>et al.</i> (2008)	Cordero pesado (30 kg)	Pastoreo y concentrado	Pastoreo: reducción TBARS	Pastoreo: aumento de AGP n-3 y CLA
Díaz <i>et al.</i> (2011)	Cordero ligero	Aceite de pescado, linaza extruida y linaza extruida+ microalgas	-	Linaza: Aumento ALA Aceite pescado: Aumento AGP cadena larga
Scerra <i>et al.</i> (2011)	Cordero pesado (167 días)	Pastoreo y concentrado	-	Pastoreo: aumento de AGP n-3 y CLA y reducción de AGP n-6
Vieira <i>et al.</i> (2012)	Cordero lechal	Aceite de palma, oliva, lino y soja	No efecto en TBARS. Mayor % volátiles en aceite de soja	-
Andrés <i>et al.</i> (2013)	Cordero ligero (peso vivo 25 kg)	Concentrado con aceite de palma + quercitina o semilla de lino+ quercitina	Quercitina: reduce la decoloración y los recuentos microbiológicos	-
Hopkins <i>et al.</i> (2014)	Cordero pesado	Algas	Aumento TBARS	Aumento AGP n-3
Gravador <i>et al.</i> (2015 ^a)	Cordero pesado	Algarroba	No afectó a la estabilidad oxidativa	Aumento de AGP, reducción AGS y n-6/n-3

Tabla 4. (Continuación)

Cuadro resumen sobre diferentes estrategias dietéticas empleadas en cordero para mejorar la calidad de la carne de cordero.

Referencia	Animal	Dieta	Vida útil	Perfil lipídico
Bessa <i>et al.</i> (2008)	Cordero ligero	Aceite de soja y/o alfalfa deshidratada	-	Aumento del ácido ruménico
Boughalmi <i>et al.</i> (2016)	Cordero pesado (276 días)	Pastoreo, pastoreo+ suplemento corderos, concentrado	-	Pastoreo: aumento de AGP n-3 y CLA, menor ratio n-6/n-3
Lestangi <i>et al.</i> (2016)	Cordero ligero (97 días)	Semillas de lupino (L) y guisante (G)	-	Lino: menor n-6/n-3, mayor AGS, AI y TI
Díaz <i>et al.</i> (2017)	Cordero ligero	Microalgas ricas en DHA	-	Aumento DHA, n-3. Mejora ratio AGP, AGS y n-6/n-3
Lobon <i>et al.</i> (2017)	Cordero lechal	Pastoreo y quebracho	Reducción TBARS y mejoró estabilidad color	-
Gómez-Cortes <i>et al.</i> (2018)	Cordero lechal	Hollejo de uva	-	No modificó el perfil lipídico
Facciolongo <i>et al.</i> (2018)	Cordero ligero (100 días)	Harina de soja y semillas de lino extrusionadas	-	Lino: aumenta AGP y disminuye n-6/n-3
Guerreio <i>et al.</i> (2019)	Cordero ligero	<i>C. ladanifer</i> y extracto de <i>C. ladanifer</i>	-	Aumentó deposición C18:1 t11
De Oliveira., Maia Parente., <i>et al.</i> (2019)	Cordero pesado	Aceite de Babasau (BAO) y buriti (BUO)	-	BUO aumentó grasa total y AGS, pero no los AGP. BAO aumentó los AGM trans, pero no los AGS

2.5. USO DE LAS PLANTAS AROMÁTICO-MEDICINALES (PAM) EN ALIMENTACIÓN ANIMAL

La suplementación con PAM en la dieta de los animales de abasto no solo ha demostrado ser una estrategia eficaz en la conservación de la carne, sino que también se ha visto que puede modular los procesos fermentativos (alteración de la microbiota ruminal), reducir la presencia de flora patógena intestinal (Caroprese, Ciliberti y Albenzio, 2020), aumentar la resistencia del animal durante períodos de estrés e incluso mejorar el estatus antioxidante (Olagaray y Bradford, 2019). Todo ello es debido a que parte de los principios activos ingeridos son biodisponibles y pueden asimilarse hasta alcanzar concentraciones funcionales. Existen varias formas de incluir las PAM dentro de la alimentación animal, como la planta entera fresca o desecada, aceites esenciales, extractos y subproductos de destilación. Estudios previos (ver **Tabla 5**) han demostrado que los aceites esenciales pueden utilizarse como ingrediente dietético para mejorar la estabilidad oxidativa de la carne. Parvar, Ghoorchi, Kashfi y Parvar (2018) informaron que la suplementación dietética con aceite esencial de *Ferulago angulata* redujo la oxidación lipídica (TBARS) de la carne de cordero. Sin embargo, a pesar de todo su potencial, en ocasiones los resultados pueden ser un poco dispares. Simitzis *et al.* (2014) mostraron que la suplementación dietética con aceite esencial de canela (1 ml/kg pienso) no mejora la vida útil de la carne de cordero. Resultados similares fueron mostrados por Smeti, Atti, Mahouachi y Muñoz (2013) con la suplementación dietética con aceite esencial de romero (0.06%) no mejora la estabilidad oxidativa de la carne de cordero. Del mismo modo, Vasta *et al.* (2013) y Aouadi *et al.* (2014) tampoco encontraron una mejora de la estabilidad oxidativa de la carne de cordero tras su suplementación dietética con aceite esencial de artemisa y romero. La falta de unificación puede ser debida por diferentes factores como la amplia variabilidad de compuestos que presentan las PAM, el estado fenológico en el que se encuentra la planta, factores genéticos,

medioambientales o el proceso de cosecha-recolección entre otros (Ben Farhat, Chaouch-Hamada, Sotomayor, Landoulsi y Jordán, 2014).

Otro aspecto a tener en cuenta es que la suplementación con aceites esenciales de PAM podría aumentar la proporción de AGI más fácilmente oxidables, lo que podría comprometer la estabilidad oxidativa de la carne, tal y como indican Smeti *et al.* (2018). Según estos autores, la suplementación de la dieta de los corderos con 0,6 ml de aceite esencial de romero aumentó el contenido total de AGP n-3 en la carne. Estos resultados coinciden con los reportados por otros autores como Lourenço *et al.* (2008), que sugieren que los metabolitos secundarios de las plantas tienen la capacidad de aumentar el contenido de AGP en los productos animales al inhibir las bacterias ruminantes que participan en la biohidrogenación.

Además de todo lo comentado anteriormente, la forma en la que se incorporan también puede modificar los resultados. Se ha visto que los compuestos presentes en las PAM pueden variar en función de si es un aceite esencial, un subproducto o un extracto. Se ha visto que los aceites esenciales son ricos en compuestos como los terpenos terpenoides y otros fenoles volátiles (Sotomayor *et al.*, 2009) y que estos presentan una fuerte actividad antimicrobiana y antioxidantes (Solórzano-Santos y Miranda-Novales, 2012), por otro lado, los extractos presentan mayor actividad antioxidante por su composición en polifenoles diterpénicos, ácido carnósico y carnosol, como es el caso del romero (Mira-Sánchez, Castillo-Sánchez y Morillas-Ruiz, 2019), mientras que los subproductos del aceite esencial son ricos en diferentes polifenoles como ácidos carnósico, rosmariníco, cafeíco, ferúlico o carnosol entre otros (Moñino *et al.*, 2008). En los últimos años ha aumentado el interés en el uso de subproductos de destilación de PAM como alternativa a los antioxidantes sintéticos. En la Región de Murcia se concentran amplias áreas de cultivos de PAM, como salvia española y espliego, que generan una gran cantidad de subproductos como la hoja destilada, que supone un verdadero problema para el destilador por la acumulación de residuos vegetales en sus fincas, y que en muy pocas ocasiones son aprovechados para el consumo animal, a pesar de ser una fuente de componentes con actividad antioxidante y antimicrobiana.

La hoja destilada es un ejemplo de ello, estudios previos como los realizados por Moñino *et al.* (2008) demostraron los beneficios obtenidos de la inclusión de la hoja destilada de romero en la dieta materna sobre la calidad de la carne del cordero Segureño. Concretamente, el estudio fue realizado con subproducto de destilación de romero y se analizó que la transmisión de compuestos polifenólicos de la madre al cordero mejoró la estabilidad oxidativa. Este aspecto es de gran importancia, ya que permite conocer la transmisión de los polifenoles del romero de la oveja al cordero y su biodisponibilidad en el músculo. Los resultados obtenidos demostraron que las cantidades de polifenoles depositadas en el músculo fueron suficientes para mejorar la capacidad antioxidante y extender la vida comercial de la carne de cordero. En otro estudio posterior realizado por Jordán *et al.* (2010) corroboraron que la introducción de hojas destiladas de romero en la dieta de la cabra Murciano-Granadina proporcionó una mayor proporción de flavonoides, ácido gálico, diterpenos polifenólicos como el carnósico y el carnosol en la leche. También encontraron polifenoles, (principalmente ácido rosmarínico, ácido carnósico y carnosol) en el plasma de los cabritos, debido a la transferencia de estos compuestos durante la gestación y la lactancia. Desde este punto de vista, la introducción de estos residuos de la destilación en la alimentación animal como ingrediente funcional podría suponer importantes beneficios socioeconómicos para estos sectores, ya que revalorizarían la calidad de sus producciones ganaderas. Un estudio complementario realizado por Nieto *et al.* (2012) corroboraron el efecto conservador (microbiológico y estabilidad oxidativa) de la incorporación hojas destilada de romero y tomillo (10% y 20%) en las dietas de las ovejas, obteniendo buenos resultados. Yagoubi *et al.* (2018) estudiaron el efecto de la suplementación con hoja destilada de romero en la dieta de corderos sobre la oxidación lipídica de la carne.

La inclusión de los residuos de romero permitió retrasar la oxidación lipídica durante un almacenamiento prolongado. Posiblemente, los subproductos de destilación de romero retrasaron la oxidación como resultado de la alta cantidad de compuestos polifenólicos presentes en la hoja destilada de romero que contribuyó a la deposición de α-tocoferol en el músculo. Además, los residuos de romero aumentaron los niveles de AGP n-

3 y n-6 en el músculo. Sin embargo, la suplementación con subproductos de tomillo no reprodujo los resultados obtenidos hasta ahora (Nieto, Garrido y Bañón, 2015). La diferencia entre la eficacia del subproducto de romero y el de tomillo radica principalmente en el que el aporte de carnosol en la dieta es muy importante para obtener un efecto conservador en la carne (Moñino, 2010). Además, hay que tener en cuenta que el estado en el que se encuentra las plantas (factores genéticos, condiciones medioambientales, cosecha, estado fenológico de la planta, condiciones de conservación, etc.), podría contribuir a la heterogeneidad de los resultados (Jordán *et al.*, 2014).

En este sentido, los extractos “tipificados” procedentes de subproductos de PAMS surgieron con el objetivo de proporcionar un pienso enriquecido y homogéneo que aporte efecto antioxidante y antimicrobiano a la carne. Ortúñoz *et al.* (2015) observaron que la incorporación de extractos de romero (600 mg/kg) en la dieta de los corderos de cebo protegió a la carne frente a la oxidación comparado con la dieta control. Sin embargo, Caputi- Jambrenghi *et al.* (2005) utilizaron 500 y 1000 mg/kg de extracto de romero y ajo obtuvieron resultados más pobres en comparación con los resultados obtenidos con la suplementación con 500 mg de α-tocoferol. La falta de carnosol en los extractos utilizados podría haber limitado la transferencia de diterpenos al músculo del cordero, lo que explicaría el escaso efecto antioxidante y antimicrobiano. En otro estudio realizado por Ortúñoz *et al.* (2017), se comparó el efecto de la suplementación con extracto de romero rico en ácido carnósico y carnosol (1:1) y la vitamina E, en la carne de cordero envasada al vacío, en aire y en atmósfera modificada. Los resultados mostraron que el extracto de romero proporcionó efecto antioxidante y antimicrobiano pero este efecto fue particularmente más pronunciado en la carne de cordero envasada al vacío ya que la carne está más expuesto al deterioro microbiano de las bacterias anaeróbicas, mientras que la vitamina E permitió un mejor control de la oxidación de la carne envasada en una atmósfera modificada. En el caso de la salvia, no existen muchos estudios que analicen el efecto de su inclusión en la dieta de los corderos, pero si se ha testado su actividad antioxidante *in vitro*. Bozin, Mimica-Dukic, Samojlik y Jovin (2007), analizó la capacidad antioxidante del aceite esencial de salvia demostrando su alta capacidad antioxidante.

Otros autores han testado el aceite esencial y el extracto de salvia en productos cárnicos como ingrediente en la formulación de salchichas frescas de cerdo, demostrando que su inclusión reduce la oxidación lipídica y el crecimiento microbiano (Šojić *et al.*, 2018). Sin embargo, cuando los estudios se realizan en animales vivos, los resultados pueden variar debido a la gran complejidad de los organismos vivos. Rotolo *et al.* (2013) estudiaron la suplementación dietética de las hojas secas de orégano y salvia en la dieta de los conejos, sin embargo, no obtuvieron una mejora en la estabilidad oxidativa, ni en el perfil de ácidos grasos de la carne de conejo.

Tabla 5.

Cuadro resumen de los estudios realizados sobre suplementación dietética con PAM en cordero.

Referencia	Animal	Dieta	Vida útil	Perfil lipídico
Caputi <i>et al.</i> (2005)	Cordero ligero (110 días)	Ajo (fresco y extracto), extracto de romero y Vitamina E	Extracto de ajo y Vitamina E: reducción TBARS	-
Nieto <i>et al.</i> (2010)	Dieta ovejas y efecto en cordero ligero	Hoja destilada de romero	Reducción TBARS, recuento microbiológico y olor a rancio	-
Bañón <i>et al.</i> (2012)	Cordero ligero (25 kg)	Extracto de romero	Reducción TBARS, retraso decoloración y deterioro microbiano	-
Nieto <i>et al.</i> (2012)	Dieta ovejas y efecto en cordero ligero	Hoja destilada de tomillo	-	Reducción de AGS, índice S/P, AI y TI. Aumento de AGP
Nieto (2013)	Dieta ovejas y efecto en cordero ligero	Subproducto de destilación de romero y tomillo	-	Aumento de AGP, reducción índice S/P, AI y TI
Smeti <i>et al.</i> (2013)	Cordero ligero	Aceite esencial de romero	Sin efecto	-
Vasta <i>et al.</i> (2013)	Cordero ligero	Aceite esencial de romero y artemisa	Sin efecto	-

Tabla 5. (Continuación)

Cuadro resumen de los estudios realizados sobre suplementación dietética con PAM en cordero.

Referencia	Animal	Dieta	Vida útil	Perfil lipídico
Aouadi <i>et al.</i> (2014)	Cordero ligero	Aceite esencial de romero y artemisa	Sin efecto	-
Simitzis <i>et al.</i> (2014)	Cordero pesado	Aceite esencial de canela	Sin efecto	-
Serrano <i>et al.</i> (2014)	Dieta ovejas lactantes y gestantes	Extracto de romero	Sin efecto	-
Serrano, Ortúñoz <i>et al.</i> (2014)	Cordero ligero (25 kg). Patties cocinadas	Extracto de romero (ácido carnósico y carnosol 1:1 y 2:1)	1:1 retrasó la descoloración, el deterioro del flavor y la rancidez, mientras que el 2:1 fue inefectivo	-
Ortúñoz <i>et al.</i> (2014)	Cordero ligero (25 kg)	Extracto de romero	Reducción TBARS, retraso decoloración y deterioro microbiano	-
Nieto <i>et al.</i> (2015)	Dieta ovejas lactantes y gestantes	Hoja fresca de tomillo	Reducción TBARS y decoloración	-
Ortúñoz <i>et al.</i> (2015 ^a)	Cordero ligero (25 kg)	Extracto de romero y vitamina E	Vitamina E mayor efecto antioxidante	-
Ortúñoz <i>et al.</i> (2015 ^b)	Cordero ligero (25 kg) patties frescas	Extracto de romero + SO ₂ (0, 150, 300 and 450 mg/kg)	Aumento vida útil en las hamburguesas con 450 mg/kg de SO ₂ , pero con dosis menores de SO ₂	-

Tabla 5. (Continuación)

Cuadro resumen de los estudios realizados sobre suplementación dietética con PAM en cordero.

Referencia	Animal	Dieta	Vida útil	Perfil lipídico
Ortuño <i>et al.</i> (2016)	Cordero ligero (25 kg)	Extracto de romero (ácido carnósico y carnosol 1:1)	Inhibición de formación de compuestos volátiles responsables del flavor rancio	-
Ortuño <i>et al.</i> (2017)	Cordero ligero	Extracto de romero (ácido carnósico y carnosol 1:1)	Inhibición mesófilos totales, bacterias lácticas y enterobacterias, pero no <i>Brochothrix thermosphacta</i> ni <i>Pseudomonas spp.</i> Reducción TBARS y retraso decoloración	
Yagoubi <i>et al.</i> (2018)	Cordero pesado (13 meses)	Hojas destiladas de romero	Reducción TBARS	Aumento AGP n-3 y n-6
Ranucci <i>et al.</i> (2019)	Cordero pesado (32 kg)	Mezcla de aceites esenciales (eucalipto, canela y eneldo)	Reducción deterioro microbiano, retraso decoloración y TBARS	No diferencias

2.5.1. Género *Salvia*

La familia *Labiatae (lamiaceae)* está compuesta por 200 géneros y unas 3000 especies ampliamente distribuidas en las regiones templadas y subtropicales del todo el mundo. Dentro de esta familia podemos encontrar especies como la albahaca (*Ocimum basilicum L.*), el orégano (*Origanum vulgare L.*), la menta (*Menta piperita L.*), el romero (*Rosmarinus officinalis L.*), el tomillo (*Thymus vulgaris L.*) y la salvia (*Salvia Officinalis L.*) (Wagstaff, Hickerson, Spangler, Reeves y Olmstead, 1998). El género *Salvia* es uno de los más grandes de la familia Lamiaceae y está formado por alrededor de 900 especies). Dentro de las especies de *Salvia*, las que más beneficios económicos aporta son *S. officinalis*, *S. fruticosa*, *S. lavandulifolia Vahl* (Salvia española), *S. verbenaca*, *S. sclearea L.* y *S tomentosa* (Sharifi-Rad *et al.*, 2018; Usano-Alemany, 2012). Aunque este género es originario de zonas mediterráneas, se distribuye prácticamente por todo el mundo, siendo especialmente abundante en el área Mediterránea, Asia Central y oriental y América Central y Sudamérica (Walker, Sytsma, Treutlein and Wink, 2004; Porres- Martínez, 2014). El interés del género *Salvia L.* radica en que varias de sus especies se les han atribuido numerosas propiedades curativas en la medicina tradicional y se ha utilizado principalmente como carminativo, espasmolítico, astringente, antiséptico e incluso para el cuidado de la piel (Dweck, 2005).

➤ Clasificación taxonómica

La *Salvia lavandulifolia vahl* es conocida como la Salvia española por ser originaria de la Península Ibérica (Porres-Martínez, 2014). Su clasificación taxonómica se puede observar en la **tabla 6** que se muestra a continuación.

Tabla 6.Clasificación taxonómica de *Salvia lavandulifolia* Vahl.

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	
REINO	<i>Plantae</i>
DIVISIÓN	<i>Magnoliophyta</i>
CLASE	<i>Magnoliopsida</i>
ORDEN	<i>Lamiales</i>
FAMILIA	<i>Lamiaceae</i>
SUBFAMILIA	<i>Nepetoideae</i>
TRIBU	<i>Mentheae</i>
GÉNERO	<i>Salvia</i>
ESPECIE	<i>S. lavandulifolia</i>
NOMBRE CIENTÍFICO	<i>S. lavandulifolia</i> Vahl

Fuente: Porrez-Martínez., González-Burgos., Carretero y Gómez-Serranillos (2014) y Porres-Martínez, (2014)

➤ **Descripción botánica**

La *Salvia lavandulifolia* (**Figura 8**) es un subarbusto aromático con tallos leñosos ramificados que puede alcanzar entre 17 y 100 cm de altura. Sus hojas suelen ser de 50 mm, opuestas, simples y pecioladas, de color verde o grisáceo claro (Palacio, Millard y Montserrat-Martí, 2006; Porres-Martínez, 2014; USano-Alemany, 2012). La floración se produce a finales de primavera y principios de verano (mayo-julio). La época de floración puede variar entre abril y julio y las inflorescencias pueden ser simples o

compuestas, con 2-8 flores agrupadas en el extremo de las ramas, con apariencia de espiga. Presentan de 5 a 7 flores que brotan de un mismo tallo (verticilastros) (**Figura 9**). El cáliz mide entre 8 y 14 mm, y suele ser verde o púrpura (Sáez, 2010). Crece espontáneamente en casi todo tipo de suelos de zonas templadas y cálidas, aunque también la podemos encontrar en terrenos montañosos entre 400 y 2000 m de altitud (Karamanos, 2000).



Figura 8: Planta de *Salvia Lavandulifolia* Vahl (Fuente: floracatalana.net)

➤ Distribución geográfica

La salvia española (*Salvia lavandulifolia* Vahl) es una planta originaria de la Península Ibérica y es la especie que más se cultiva en esta zona (**Figura 9**). Esta planta se puede encontrar en el Mediterráneo occidental, en altitudes comprendidas desde los 300 m a más de 1000 m sobre el nivel del mar (Berdonces i Serra, 2007). Se encuentra ampliamente extendida por el este de España, principalmente en las zonas de Andalucía, Murcia y Castilla, y por el Mediterráneo Occidental: Sureste de Francia y norte de África (Sáez, 2010; Porres-Martínez, 2014).

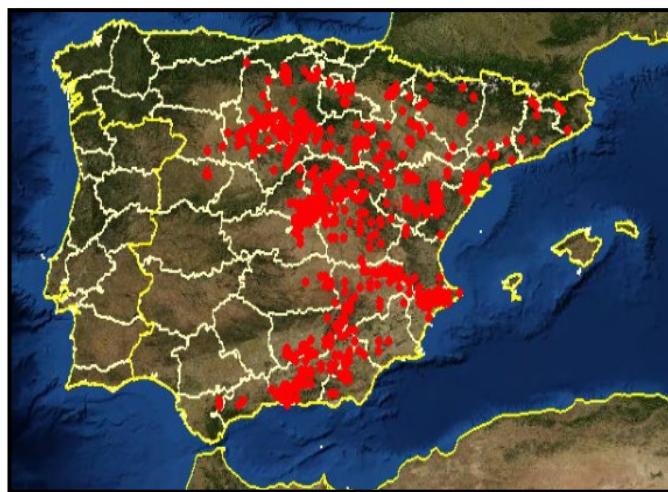


Figura 9. Distribución geográfica de la *Salvia lavandulifolia* Vahl. (Fuente: Anthos, 2019).

➤ Composición química

Todas las especies de salvia presentan una composición química compleja cuyo contenido en compuestos activos puede variar dependiendo de factores intrínsecos, como la genética, y de factores extrínsecos como las condiciones climáticas (ver **Tabla 7**) (Cuvelier, Richard y Beretl ,1996). De forma general, la composición química de la planta muestra la presencia de flavonoides, triterpenos, y monoterpenos (principalmente en las partes aéreas) (Porres-Martínez, 2014). Del cultivo de la *Salvia lavandulifolia* se obtienen principalmente dos productos : las hojas secas (destinadas a la parafarmacia) y el aceite esencial (destinado a la industria farmacéutica y a la industria cosmética) (Usano-Alemany, 2012). Los aceites esenciales del género *Salvia* son ricos en monoterpenos oxigenados, hidrocarburos monoterpénicos, hidrocarburos sesquiterpénicos, sesquiterpenos oxigenados y compuestos aromáticos. La composición del aceite esencial de la salvia puede variar en función de la parte de la planta, la especie o su estado fenológico. En el caso del aceite esencial de *Salvia lavandulifolia* se han identificado compuestos como el 1,8-cineol-alcanfor o alcanfor-1,8-cineol-canfeno (Jordán *et al.*, 2009). Por otro lado, se ha observado que los residuos resultantes durante la obtención del aceite esencial, también

contienen compuestos polifenólicos como ácido salvianico, el ácido cafeico, el ácido rosmarínico o el ácido salvianólico (Sánchez-Vioque et al., 2018).

El estado fenológico en el que se encuentra la planta es muy importante ya que puede modificar la composición química del aceite. Porrez-Martínez et al. (2014) estudiaron la influencia del estado fenológico en la composición química del aceite esencial de *Salvia Lavandulifolia Vahl.*, y vieron que éste contenía sobre todo 1,8-cineol (31,30%), alcanfor (15,59%) y β-pineno (11.83%) durante la etapa de floración, mientras que en la etapa vegetativa los compuestos predominantes fueron 1,8-cineol (25.20%), alcanfor (10.99%) y β-pineno (9.77%). Por ejemplo, si analizamos el contenido en α-pineno, este fue más bajo durante la etapa de floración (7.52%) que en la vegetativa (10,90%). Herráiz-Peñalver et al. (2010) obtuvieron resultados similares en aceite esencial de *S. lavandulifolia*. En otro estudio similar realizado por Santos y Fernandes (2001), en diferentes cultivos de *S. officinalis*, demostraron que durante el mes de diciembre y abril desciende la concentración de monoterpenos oxigenados, como el alcanfor, y aumenta el porcentaje de hidrocarburos monoterpénicos (α-pineno y β-pineno y canfeno). Por tanto, estas diferencias serían debidas a que los derivados hidrocarburos predominan en la etapa vegetativa, mientras que los derivados oxigenados predominan durante la etapa de floración. Estas diferencias también las podemos encontrar en función de la parte de la planta analizada. Se ha visto que el aceite esencial de la *S. officinalis* cultivada en China y recolectada durante la misma etapa fenológica (floración) presenta un quimiotipo diferente en función de si se analiza la hoja o las flores. El aceite esencial procedente de las hojas era rico en β-tujona, eucaliptol y alcanfor, mientras que el aceite procedente de las flores fue rico en α-tujona, β-tujona y eucaliptol (Li et al., 2015). Estos resultados coinciden con los reportados anteriormente por Veličković, Randelović, Ristić, Veličković y Šmelcerović (2003) quienes observaron que el extracto metanólico procedente de las flores de *S. officinalis* era más rico en 1,8-cineol que en el resto que partes (hojas y tallos). Por otra parte, como ya se ha mencionado anteriormente, la proporción de compuestos activos también puede variar según la forma en la que se incorpora la planta (polvo, extractos, aceite esencial, etc.) o, incluso, en función de las prácticas

agrícolas. Estos cambios pueden producir variaciones en los compuestos fenólicos que a su vez pueden conducir a modificaciones en la actividad biológica (Generalic *et al.*, 2012). Factores como el contenido mineral, el nivel del agua son determinantes, ya que, por ejemplo, existen interacciones entre el contenido de nitrógeno y fósforo total y el contenido de α y β -tujonas. Rioba, Itulya, Saidi, Dudai y Bernstein (2015) vieron que aquellas plantas de *S. officinalis* que fueron sometidas a un aumento de los niveles de fertilización de nitrógeno contenían más β -pineno en su aceite esencial. La clasificación de los principales fitoquímicos de los aceites esenciales de las especies de salvia se muestra en la **tabla 8**.

Tabla 7.

Composición química de las diferentes especies de salvia en España en función de la región geográfica, el estado fenológico y la parte de la planta utilizada.

Especie Salvia	Región geográfica	Fase fenológica	Parte planta	Composición aceite esencial	Referencia
<i>S. Deserta</i>	China	Floración	Hojas	Leadol (8.36%), óxido de cariofileno (5.99%), 1-octen-3-ol (4.98%)	Li et al,(2015)
<i>S. greggi</i>	España	Floración	Tallo	β -pineno (20,24%), γ -muroleno (11,48%), 1,8-cineol (11,00%), guaiol (6,15%)	Giuliani, Ascrizzi, Corrà et al, (2017)
<i>S. lavandulifolia</i>	España	Vegetativa	Tallo	1,8- cineol (25,20%), alcanfor (10,99%), β -pineno (9.77%), α -pineno (10.90%)	Porres-Martínez et al, (2014)
<i>S. lavandulifolia</i>	España	Floración	Tallo	1,8- cineol (31, 30%), alcanfor (15,99%), β -pineno (11,83%), α -pineno (7.52%)	Porres-Martínez et al, (2014)
<i>S. lavandulifolia</i>	España	Vegetativa	Tallo	1,8-cineol (13,5-31,9%), alcanfor (14,4-23,9%)	Porres-Martínez et al, (2014)
<i>S. officinalis</i>	España	Floración	Tallo	α -tujona (22,8-41,7%), alcanfor (10,7-19,8%), 1,8-cineol (4.7-15.6%), β -tujona (6.1-15.6%)	Cutillas, Carrasco, Martínez-Gutiérrez et al, (2017 a,b)
<i>S. officinalis</i>	China	Floración	Flores	α -tujona (22,8-41,7%), β -pineno (15.15%), eucaliptol (14.91%)	Li et al, (2015)

Fuente: Sharifi-Rad et al. (2018)

Tabla 8.

Clasificación de los principales fitoquímicos presentes en el aceite esencial de las especies de *salvia*.

Hidrocarburos monoterpenos	Monoterpenos oxigenados	Sesquiterpenos hidrocarburos	Sesquiterpenos oxigenados	Otros
<ul style="list-style-type: none"> • α-Pineno • β-Pineno • Mirceno • Limoneno • β-Ocimeno • α-Tujona • β-Tujona • β-Felandreno 	<ul style="list-style-type: none"> • Acetato de borilo • Alcanfor • Linalol • 1,8-Cineol • Borneol • α-Terpineol • Eugenol 	<ul style="list-style-type: none"> • Aristolona • Aromandrena • α-Humuleno • α-Cadinol • β-Cariofileno • β-Guaieno • γ-Muuruleno • Biciclogermancreno • Germancreno D 	<ul style="list-style-type: none"> • α-Amorpheno • Óxido de Cariofileno • Elemenona • β-Eudesmol • Viridiflorol • Spathulenol 	<ul style="list-style-type: none"> • 1-octen-3-ol • Acetato de linalino • Acetato de sabinilo

Fuente: Sharifi-Rad et al. (2018)

➤ Compuestos polifenólicos

Los ácidos fenólicos polares constituyen la mayor parte de los compuestos hidrosolubles de la salvia. Entre ellos, el ácido cafeico es el que juega un papel importante, ya que es un pilar fundamental para la formación de gran variedad de los metabolitos de la planta, como el ácido rosmarínico o el ácido salvianólico (**Figura 10 y 11**) (Lu y Fo, 2002). El ácido rosmarínico es el dímero derivado del ácido cafeico que se encuentra en mayor proporción en la salvia, y, además, es el principal responsable de la actividad antioxidante de esta, tal y como demostraron Cvetkovikj *et al.* (2013), quienes informaron de que los compuestos predominantes en los extractos metanólicos de las diferentes salvias (*officinalis*, *fruticosa*, *pomifera*) analizadas fueron el ácido rosmarínico, seguido por el ácido salvianólico K y el luteolin-7-o-glucósido. Por otro lado, los flavonoides también se encuentran ampliamente distribuidos en las distintas especies de salvia en forma de flavonas, flavonoles y glucósidos. Dentro del grupo de los flavonoides y las flavonas, cabe destacar la presencia de apigenina, luteolina y sus derivados 6-hidroxiflavona. Las 6-hidroxiflavonas son los flavonoides característicos de la salvia e incluyen una variedad de derivados de la 6-apigenina y 6-luteolina hidroxiladas, como la cirsimarinina, la salvigenina, la hispidulina o la eupatilina (Lu y Fo, 2002). A pesar de las posibles diferencias en el perfil polifenólico que pueden existir entre las distintas especies de salvia, se ha visto que existen compuestos que son comunes en todas las especies como el cafeico o el rosmarínico. Ben Farhat, Landoulsi, Chaouch-Hamada, Sotomayor y Jordán (2014) analizaron el perfil polifenólico de cuatro tipos de extractos metanólicos de salvia (*salvia officinalis*, *salvia verbenaca*, *salvia aegyptiaca* y *salvia argentea*) e identificaron 9 compuestos fenólicos comunes a todas las especies: el ácido cafeico, el ácido ferúlico, el ácido rosmarínico, el ácido p-hidroxibenzoico, el ácido carnósico, el metilcarnosato, la luteolina, la apigenina y la naringina. Sin embargo, cada especie de salvia contenía una pequeña composición química característica, por ejemplo, los extractos de *S. verbenaca* fueron los

únicos que contenían ácido vainílico y p-cumárico, hesperidina y cirsiliol, mientras que compuestos como el cirsimaritina y la salviagenina, fueron detectados exclusivamente en la *S. aegyptiaca*. Los O-glucósidos de flavona también son comunes en salvia, y la mayoría de ellos son flavona -7-glucósidos: apigenina 7-glucósido, luteolina 7-glucósido y sus derivados. Por último, el grupo de los antocianos son particularmente abundantes en las flores rojas y púrpuras de salvia. Las antocianinas de salvia fueron descritas por primera vez por Willstatter y Bolton en 1916, quienes identificaron el pigmento conocido como salvianina, particularmente abundante en las flores rojas y azules de salvia (Kondo, Yoshikane, Goto and Yoshida, 1989). La actividad antioxidante y antimicrobiana de la salvia se debe a la acción que proporcionan cada uno de sus compuestos activos. Por ejemplo, existen compuestos como la cirsimaritna que tienen una alta actividad antimicrobiana, mientras que la hispidulina ha mostrado tener cierta actividad antihepatotóxica. En el caso de los ácidos fenólicos, el ácido rosmarínico es el principal compuesto polifenólico responsable de la actividad antioxidante de las especies de salvia (Lu y Fo, 2002). La actividad antioxidante de estos compuestos deriva de su capacidad para reaccionar con los radicales lipídicos e hidroxilo para convertirlos en productos estables, aunque también pueden actuar como quelantes de iones metálicos disminuyendo la formación de especies reactivas derivadas del oxígeno. Por otro lado, el carnosol disminuye el número y/o la movilidad de las moléculas de agua ubicadas en la región polar de los fosfolípidos de membrana, alterando fuertemente el orden de los lípidos en el núcleo hidrofóbico de la membrana, estabilizando las membranas contra el daño oxidativo (Jordán *et al.*, 2014 y Pérez-Fons, Garzón y Micol, 2010). Recientemente, Pérez-Fons, Garzón y Micol (2010) demostraron que el ácido rosmarínico, el carnósico, el carnosol, el rosmadial y la genkawaina eran los responsables de la actividad antioxidante presente en los extractos de las hojas de romero, aunque el mecanismo de acción de estos compuestos era bastante diferente.

Muchos de estos compuestos polifenólicos activos permanecen en mayor o menor medida en los subproductos de destilación de diferentes PAM como el romero, el tomillo o la salvia. Por ejemplo, Ben Farhat *et al.* (2014) también analizaron el contenido de polifenoles del extracto metanólico procedente del subproducto de destilación de *S. officinalis*, observando que los subproductos contenían altos niveles de ácido rosmarínico y diterpenos, como el metil carnosato, el ácido carnósico y el carnosol, entre otros. Además, la proporción de estos compuestos variaba en función de la fase en la que se encontraba la planta cuando se cosechaba, por ejemplo, en el caso del ácido rosmarínico, su proporción fue más alta durante la fase vegetativa. Torras-Claveira, Jauregui y Bastida (2007) también analizaron el contenido polifenólico de los subproductos de destilación de aceite esencial de la lavanda e identificaron al ácido rosmarínico como el principal compuesto presente en estos residuos. Además, también identificaron flavonas como la luteolina y la apigenina. Por último, Sánchez-Vioque *et al.* (2018), analizaron el contenido polifenólico del residuo sólido seco (compuesto por inflorescencias, hojas y tallos) procedente de la destilación de *Salvia Lavandulifolia Vahl*, determinando los siguientes compuestos polifenólicos: ácido salvianólico, hesperidina, ácido cafeico, luteolina-7-o-rutinósido, ácido ferúlico, luteolina-7-o- glucorónido, apigenina-7-o- neohesperidósido, apigenina-7-o-glucósido, ácido rosmarínico, ácido salvianólico A, luteolina, cirsimartina y salvigenina (ver **Tabla 9**). Por todo lo comentado anteriormente, la suplementación dietética con subproducto de destilación de salvia podría contribuir a mejorar la estabilidad oxidativa y microbiológica de la carne de rumiante y tampoco supondría un problema de rechazo por parte del animal, dado que los animales criados en extensivo ingieren este tipo de plantas de forma habitual durante el pastoreo. En cualquier caso, su eficacia variará en función del periodo de suplementación, la dosis suministrada, y, particularmente, la composición polifenólica de dicho subproducto.

Tabla 9.

Principales compuestos polifenólicos identificados en el residuo seco procedente del subproducto de destilación de *Salvia lavandulifolia* Vahl.

Compuestos polifenólicos	
Ácido Salvianólico	
Ácido Ferúlico	Luteolina-7-o-rutinósido
Ácido Cafeico	Luteolina-7-O-glucorónido
Ácido Rosmarínico	Apigenina-7-glucósido
Ácido Salvianólico A	Apigenina-7-O-neohsperidósido
	Luteolina
	Salvigenina
	Cirsimaritina
	Hesperidina

Fuente: Sánchez-Vioque et al. (2018)

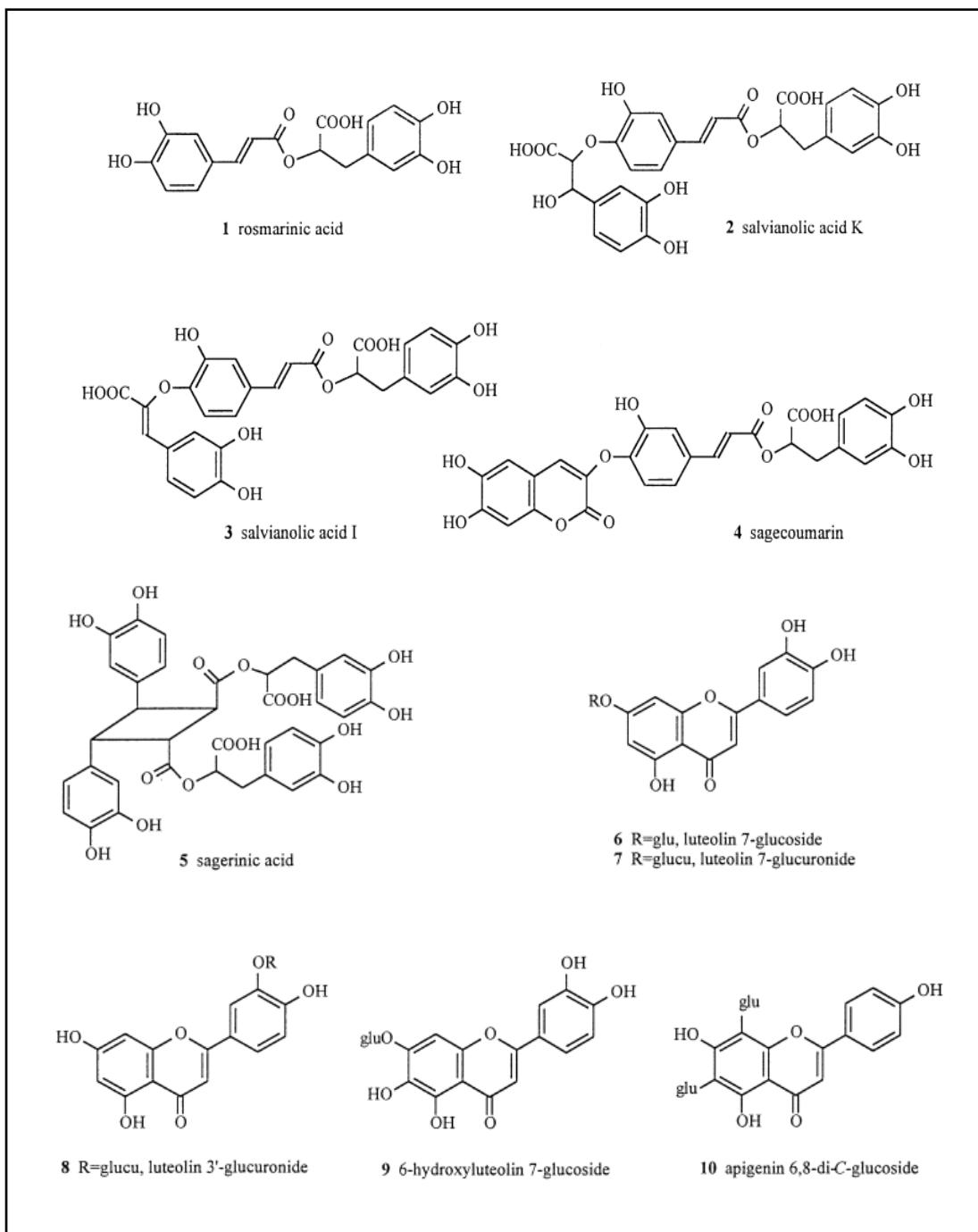


Figura 10. Estructura molecular de los principales compuestos fenólicos presentes en la *Salvia officinalis* (Fuente: Lu y Foo., 2002).

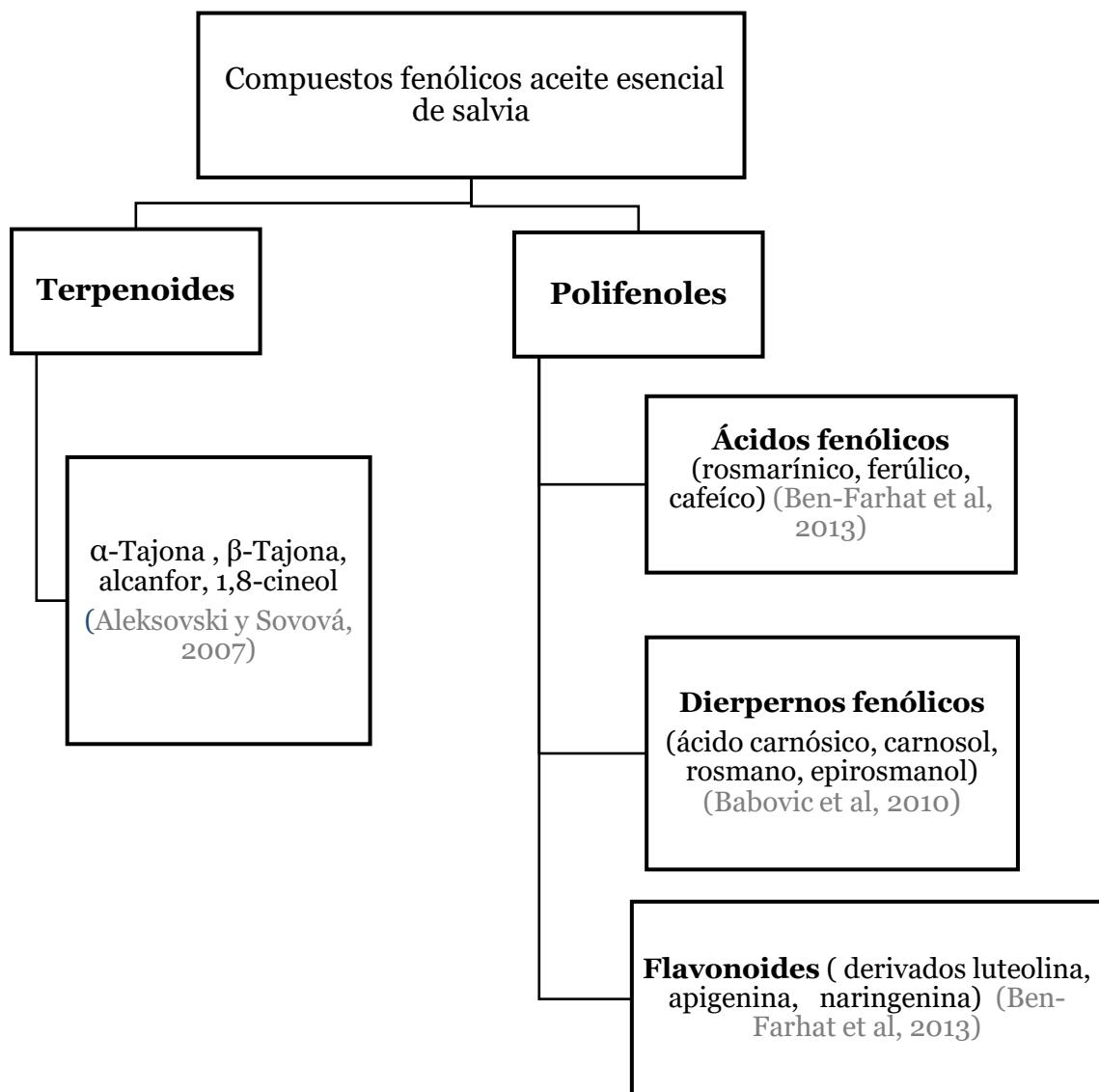


Figura 11. Principales compuestos fenólicos del aceite esencial de *Salvia officinalis*.

(Fuente: Pavlic et al., 2017)

➤ Perfil de ácidos grasos

Las PAM, incluidos los subproductos, también aportan lípidos a la dieta de los animales. De todas las partes que comprende la planta, las semillas son las que presentan la mayor proporción de lípidos. En el caso de la semilla de salvia, los principales ácidos grasos que podemos encontrar son c18:2 n-6, C16:0, C18:1 y C18:3 α n-3 (Tulucku, Yalcin, Ozturk y Sagdic, 2012; Farida *et al.*, 2016), cuya composición puede variar en función del año de la cosecha. El perfil lipídico también puede diferir en función de la parte de la planta analizada o de las condiciones climáticas durante la cosecha. Paralelamente, Bakoglu *et al.* (2016), analizaron el perfil lipídico del aceite procedente de las hojas de 6 muestras de *Salvia taxa* y observaron que los ácidos grasos mayoritarios presentes en las hojas de salvia fueron el C18:3 α n-3, C18:2 n-6, C18:1, C20:5 n-3, C16:0 y C18:0. Otros factores como la lluvia, la diferenciación en el área de cultivo, la fase de vegetación, las zonas geográficas y el nivel de salinidad del suelo, también pueden afectar la producción de plantas y la composición de ácidos grasos. Un déficit de hídrico puede disminuir el contenido de ácidos grasos como el C18:1, C18:2 n-6 y C18:3 α n-3 en las partes aéreas de la *S. officinalis*, ya que el número de glándulas sebáceas aumenta bajo estrés hídrico a consecuencia de la reducción del área foliar, lo que da como resultado un aumento de la acumulación de lípidos en la hoja (Bettaieb, Zakhama, Wannes, Kchouk y Marzouk; 2009).

Por otro lado, Ben Taarit, Msaada, Hosni y Marzouk (2010) informaron que los altos niveles de NaCl en el suelo disminuyen el crecimiento de la planta y reducen gradualmente el contenido de ácidos grasos totales en las hojas de *Salvia Officinalis L.* Además, también se observaron una reducción de AGS y AGP, y un aumento de la proporción de AGM como consecuencia a la adaptación a las condiciones salinas del suelo. Parece ser que un aumento en la salinidad del suelo reduce el grado de insaturación de los ácidos grasos posiblemente debido a una reducción de la

desaturasa como una medida adaptativa frente a la salinidad. También se ha visto que el perfil en ácidos grasos puede variar que función de la especie de Salvia, por ejemplo, las semillas de *S. sclarea* y *S. virgata* presentan un contenido considerable de C18:3 α n-3, mientras que las semillas de *S. multicaulis* y *S. officinalis* presentan una mayor proporción de ácido C18:2 n-6 (Ben-Farida *et al.*, 2016). Por tanto, por su perfil en ácidos grasos, la inclusión de lípidos de salvia en la dieta podría contribuir a mejorar la calidad nutricional de la grasa del cordero. Sin embargo, en la actualidad existen pocos estudios en los que se utilice la suplementación de salvia en la alimentación animal.

➤ **Procesado y subproducto de destilación**

La salvia es ampliamente utilizada en todo el mundo con gran variedad de aplicaciones medicinales (Blumenthal, 2000) y cosmética. En concreto, la *S. lavandulifolia* Vahl ha sido utilizada por sus actividades espasmolíticas, antiséptica, analgésica, sedante y anestésica. Además, también posee actividad antioxidante, antiinflamatoria y estrogénica (Porres-Martínez, González-Burgos, Emilia Carretero y Gómez-Serramillos, 2014). La salvia se procesa para obtener diferentes productos como: la planta fresca, los extractos, los aceites esenciales y los subproductos de destilación de la hoja libre de aceite. Las hojas de la salvia se usan en mezclas de hierbas antisépticas y astringentes mientras que el aceite esencial destilado de salvia puede ser útil en aromaterapia o para tratar infecciones bacterianas (Wolski y Ludwiczuk, 2004). En general, las hojas utilizadas en alimentación animal se secan a 40-60 °C para preservar su calidad, aunque hay algunos autores que indican que el secado podría modificar los compuestos activos en las hojas, alterando su potencial como fitoaditivos (Figiel, Szumny, Gutiérrez-Ortiz y Carbonell-Barrachina, 2010). El cultivo de la salvia, al igual que el del romero, está destinado principalmente a la obtención de aceites esenciales. Los aceites esenciales son una mezcla compleja de metabolitos secundarios aromáticos ricos en

terpenos, compuestos fenólicos y alcoholes que se obtienen mediante prensado en frío, hidrodestilación o destilación con vapor de agua (Chatzopoulou y Katsiotis, 1995). Durante la obtención de los aceites esenciales se genera un gran excedente de subproductos que pueden ser utilizados en la industria alimentaria (Sotomayor, 1998) por su potencial actividad antioxidante y antimicrobiano. Como se ha comentado anteriormente, las condiciones climáticas, la composición del suelo, así como los métodos de cosecha y la época de recolección pueden influir en la calidad del material obtenido, y, en concreto, en su composición en compuestos fenólicos. Actualmente existen diferentes métodos más novedosos para obtener los aceites esenciales, sin embargo, uno de los métodos más convencionales y tradicionalmente más utilizado es la hidrodestilación (Richter y Schellenberg, 2007) pese a que presenta una serie de problemas. Por un lado, los compuestos activos aromáticos no volátiles no se extraen por este método y además de ser un método en el que se consume mucho tiempo, los compuestos altamente volátiles y/o solubles en agua pueden perderse durante la destilación (Blum, 1999). Por otro lado, los residuos resultantes del tratamiento, envasado y cultivo de hierbas frescas pueden ser útiles para la recuperación de productos de alto valor (Lin *et al.*, 2014). En la elaboración de aceites esenciales por destilación a vapor se generan dos subproductos principales que son los materiales residuales de la planta y las aguas residuales de destilación. En algunas industrias, estos residuos se utilizan para generar energía o compost, sin embargo, este sistema de reciclaje requiere una gran inversión. Es por tanto que el uso de subproductos como ingredientes funcionales en la alimentación animal podría ser una estrategia que permita reutilizar y revalorizar un residuo de escaso valor económico, pero de gran interés para la industria alimentaria (Nieto *et al.*, 2010; Yagoubi *et al.*, 2018).

JUSTIFICACIÓN

Justification



La cría extensiva y semi-extensiva de rumiantes implica una serie de beneficios medioambientales. Este tipo de sistemas permite aprovechar recursos vegetales que de otra forma se perderían y, además, mantienen el sotobosque del monte en buenas condiciones, lo que resulta de suma importancia en la prevención de incendios. Por otro lado, también suelen comportar una mejora en la calidad de la carne, ya que son muchos los estudios que han demostrado que, a diferencia de las dietas a base de grano, el pasto aporta más cantidad de AGP n-3 y compuestos polifenólicos con potencial actividad antioxidante y antimicrobiana sobre el animal y sus productos derivados. Ejemplo de productos procedentes de la ganadería extensiva o semi-extensiva, como el jamón Ibérico, son reconocidos a nivel mundial y su calidad viene dada, en gran parte, a una alimentación natural y crianza sostenible de los animales, así como el bienestar animal asociado a una vida en semilibertad, algo que los consumidores demandan cada día más. Sin embargo, en el caso del cordero Segureño IGP producido bajo condiciones semi-extensivas, a pesar de su gran calidad, todavía no se encuentra bien implementado comercialmente, debido en gran parte a la falta de definición de sus atributos diferenciadores. Ello justifica el interés de cualquier estudio encaminado a promocionar la ganadería tradicional ovina.

La presente propuesta de tesis abarca dos estrategias para mejorar la calidad de la carne de cordero Segureño: (i) el pastoreo materno y (ii) la inclusión de subproductos de destilación de salvia. El empleo del **pastoreo de las ovejas** viene dado por las condiciones de cría del cordero Segureño. Las zonas de pastoreo disponibles en la Región de Murcia son escasas, por lo que éstas se reservan a los animales adultos, mientras que los corderos se crían en establos alimentados con concentrados hasta alcanzar el peso de sacrificio. A pesar de la escasez de pastos para corderos, investigaciones anteriores han puesto de manifiesto que el pastoreo materno puede mejorar la calidad de la carne de cordero, ya que los compuestos activos que ingiere

la oveja a través del pasto pueden ser transmitidos al cordero durante la lactancia y la gestación.

La elección del cordero Segureño IGP para el estudio es otra importante característica de la presente propuesta de tesis. Hoy en día, sellos como la IGP, que aseguran un sistema de alimentación medioambientalmente sostenible, certifican el origen local de la producción y garantizan el bienestar animal, son cada vez más demandados por los consumidores como criterio de calidad dentro del proceso de decisión de compra. Por tanto, el uso de estrategias dietéticas capaces de mejorar aún más la calidad de la carne amparada por la IGP del cordero Segureño podría ayudar a fomentar la ganadería tradicional a través de la oferta de una carne de más calidad, en su concepto más amplio, claramente diferenciada.

La flora que podemos encontrar en los pastizales del Noreste (NO) de la Región de Murcia está compuesta principalmente por matorrales de coscoja, enebro, además de romerales y tomillares ricos en compuestos antioxidantes y antimicrobianos. No obstante, el tipo de pasto que ingiere la oveja cambia considerablemente según la estación. En función del periodo de cría, las ovejas pueden pastar básicamente rastrojeras, barbechos y monte bajo durante la gestación y la lactancia. Por ello se deben analizar las dos parideras anuales de primavera y otoño que conforman el ciclo natural del cordero. El perfil de ácidos grasos y la composición polifenólica pueden variar en función de la especie forrajera y la fase en la que se encuentren las plantas del pasto. A priori, el pastoreo materno debería aportar más AGP y compuestos antimicrobianos y antioxidantes para obtener una carne mejorada nutricionalmente y más estable al deterioro.

Como el pastoreo, **la suplementación dietética con SDS** de los corderos de cebo también podría mejorar la estabilidad microbiológica y oxidativa de la carne, junto con su perfil lipídico. Actualmente hay disponibilidad de este subproducto, ya que existe un cultivo incipiente de salvia y una industria de destilación en la Región de Murcia. Se ha comprobado que el SDS retiene compuestos polifenólicos bioactivos y que además contiene lípidos ricos en ácidos grasos n-3 que no se extraen con el aceite esencial. Investigaciones anteriores han corroborado que el uso de

otros subproductos de romero y tomillo de PAM en alimentación ovina permite mejorar la calidad de la carne de cordero. Por su parte, la suplementación de la dieta con subproductos de salvia ya se ha testado con éxito en conejos, por lo que pensamos que podría aportar beneficios a la carne de cordero. Además, el posible uso de SDS en alimentación animal supone una alternativa natural y sostenible que podría aportar beneficios socioeconómicos, tanto para el sector ganadero, como para la industria de la destilación. Esta posible sinergia entre agricultura autóctona de secano, ganadería tradicional e industria de destilación, podría contribuir al mantenimiento de la población en zonas rurales desfavorecidas.

Sin embargo, no podemos olvidar, que para que estas estrategias “del campo a la mesa” adquieran realmente un sentido, debemos de adaptarlas a los métodos habituales de comercialización y consumo. Generalmente, la carne fresca de cordero se envasa bajo atmósferas modificadas que alargan su vida comercial. Además de la refrigeración, se utilizan sistemas de iluminación que realzan la frescura y mejoran la apariencia. Por tanto, se debe hacer estudios de calidad de la carne mantenida en las condiciones habituales de venta al por menor, como se ha hecho en estudios precedentes realizados previamente por el equipo de investigación (Serrano *et al.*, 2014; Nieto *et al.*, 2010; 2012; y 2013; Bañón *et al.*, 2012, Ortúñoz, Serrano, Jordán y Bañón, 2014, 2015, 2016, 2017; Almela *et al.*, 2010). Estas condiciones favorecen que la carne se oxide, por lo que el empleo de estrategias dietéticas que aporten compuestos antioxidantes que alarguen la vida útil de la carne, podría ser una alternativa más natural y sostenible a la adición de antioxidantes químicos. En este contexto se ubica la última parte del trabajo, en la cual se propondrán métodos alternativos de cocinado que permitan mantener la calidad nutricional y capacidad de conservación de la carne sin el uso de aditivos exógenos. Tanto el tipo de cocinado de la carne, como las condiciones de catering, tienen un gran impacto en la calidad del producto final y deben ser estudiadas. La cocción *sous vide* podría ayudar a preservar las mejoras nutricionales alcanzadas a través de la dieta.

OBJETIVOS

Objectives



OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

➤ Objetivo global.

Establecer estrategias dietéticas más sostenibles que contribuyan a potenciar atributos de calidad del cordero Segureño más acordes a los nuevos hábitos de consumo de carne.

❖ A nivel científico ello implica:

Identificar atributos diferenciadores de calidad (tecnológicos, nutricionales y sensoriales) en la carne de cordero Segureño producido en régimen semi-extensivo bajo Indicación Geográfica protegida.

Mejorar la capacidad de conservación de la carne bajo los actuales modelos de comercialización y venta incorporando compuestos activos endógenos procedentes del pasto y/o de la salvia.

Revelar posibles beneficios nutricionales asociados al pastoreo materno y/o la suplementación con salvia para la calidad de la carne.

❖ A socioeconómico ello implica:

Revalorizar la producción de cordero Segureño con IGP aplicando métodos de cría más naturales y sostenibles.

Revalorizar el cultivo de salvia mediante el uso de sus subproductos de destilación en la alimentación de los corderos autóctonos.

Fomentar la agricultura y la ganadería tradicional en zonas rurales de secano en peligro de despoblación.

➤ **Objetivos científico-técnicos**

Objetivo general

Determinar el efecto de pastoreo materno y de la suplementación de la dieta del cordero con subproducto de destilación de salvia sobre la estabilidad y la calidad nutricional la carne de corderos de primavera y otoño.

Objetivos específicos:

Primero. Establecer los posibles efectos antioxidantes y/o antimicrobianos de ambas estrategias dietéticas sobre la carne cruda envasada y mantenida en condiciones de venta al por menor.

Segundo. Evaluar la contribución de ambas estrategias dietéticas al perfil de ácidos grasos de la carne.

Tercero. Establecer los posibles efectos antioxidantes de ambas estrategias dietéticas sobre la carne cocinada mantenida en condiciones de catering.

Cuarto. Preservar la calidad nutricional de la carne cocinada mantenida en caliente mediante la aplicación del cocinado sous vide.

RESEARCH OBJECTIVES

➤ Global objectives

To establish more sustainable dietary strategies that contribute to enhancing the quality attributes of *Segureño* lamb meat in line with new meat consumption habits.

❖ At as scientific level this implies:

To identify own quality attributes (technological and nutritional) in the *Segureño* lamb meat produced under Protected Geographical Indication.

To improve meat preservation capacity under retail display conditions incorporating endogenous active from grass and/or sage.

To reveal the possible nutritional benefits for meat consumption associated with maternal grazing and/or dietary supplementation with sage.

❖ In socioeconomic terms, this implies:

Assessment of IGP *Segureño* lamb production by applying more natural and sustainable rearing methos.

Assement of sage crowp by using its distillation by-products in sheep feeding.

Promotion of agriculture and livestock traditiona practices in rural areas of low rainfall, which are at risk of depopulation.

➤ **Scientific-technical objectives**

General objective

To determine the effect of maternal grazing and the supplementation of lamb diet with sage distillation by-products on the stability and nutritional quality traits of spring and autumn lamb meat.

Specific objectives

First: To establish the possible antioxidant and/or antimicrobial effects of both dietary strategies on the packed raw meat kept under retail conditions.

Second: To assess the contribution of both dietary strategies to the fatty acid profile of lamb meat.

Third: To establish the possible antioxidant effects of both dietary strategies on the cooked hot-held lamb meat.

Fourth: To preserve the nutritional quality of the cooked/hot-held lamb meat by applying sous vide cooking.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material and methods



1. DISEÑO EXPERIMENTAL

El proyecto de investigación fue aprobado previamente por el informe 145/2015 del Comité Ético de Investigación Animal (CEEA) de la Universidad de Murcia. El manejo animal siguió las recomendaciones de la Directiva 2010/63/ UE del Consejo Europeo para la protección de los animales destinados para fines experimentales y otros fines científicos. El experimento se diseñó a partir de los estudios previos realizados por el grupo de investigación sobre el aprovechamiento de subproductos de PAM en alimentación ovina [y](#) la mejora nutricional de la carne de cordero a través del pastoreo materno. En dichos estudios se comprobó que, tanto la suplementación dietética de las ovejas y corderos con subproductos de PAM, podía mejorar la calidad de la carne de cordero. Se optó por la suplementación con salvia porque la comarca del NO de la Región de Murcia dispone de áreas de cultivo de esta PAM [y](#), además, investigaciones anteriores mostraron que los compuestos bioactivos presentes en la salvia (Ben Farhat *et al.*, 2013; Herráiz- Peñalver *et al.*, 2010; Ben Farhat, Jordán, Landoulsi y Sotomayor, 2009, entre otros) podrían ejercer un efecto conservante en la carne, tal y como se ha visto para otras plantas aromáticas como el romero, realizados anteriormente por nuestro grupo de investigación.

Se seleccionó una granja representativa de la cría del cordero Segureño tradicional que permitía criar los corderos tanto en régimen semi-extensivo como en intensivo, para las parideras de primavera y otoño. A continuación, se adquirió el subproducto de destilación de salvia (SDS) a productores locales. Previa a su incorporación en los piensos de los corderos, se analizó su contenido polifenólico. Los piensos se elaboraron en una industria local, controlando la aportación de los compuestos polifenólicos y los ácidos grasos. La dieta control fue la seguida habitualmente por el ganadero de la granja en la cría intensiva de corderos. A continuación, se analizó el efecto combinado de la dieta materna y la suplementación dietética con SDS sobre la calidad de la carne

de cordero cruda almacenada durante 0, 6 y 12 días en atmósfera modificada (70% O₂ y 30% CO₂) simulando las condiciones habituales de venta al por menor. De acuerdo con los resultados obtenidos por Serrano *et al.* (2014) se decidió acortar el periodo de exposición de la carne cruda a 12 días, ya que se observó que, a partir de 8 días, la carne de cordero expuesta bajo las mismas condiciones, presentaba un deterioro significativo. Los análisis se realizaron comparando los corderos de otoño con los de primavera. Dependiendo de los datos obtenidos en la carne cruda, se procedió al estudio la estabilidad oxidativa y la composición nutricional de la carne cocinada por diferentes métodos. Para el análisis de la carne cruda se utilizó el músculo *Longissimus dorsi* y se analizó el efecto de la dieta (materna y corderos) sobre la conservación de la carne mantenida en condiciones de venta al por menor, así como, la posible mejora nutricional. Para el estudio de carne cocinada se utilizaron las piernas y se analizó el efecto combinado del tipo de cocinado (*sous vide* (SV) y plancha (P)) y el almacenamiento en catering caliente (recién cocinado (0 h) y 4 h). En la **figura 12** se observa el esquema del diseño experimental. En resumen, la idea fue combinar el pastoreo materno tradicional con la suplementación de los corderos destetados.

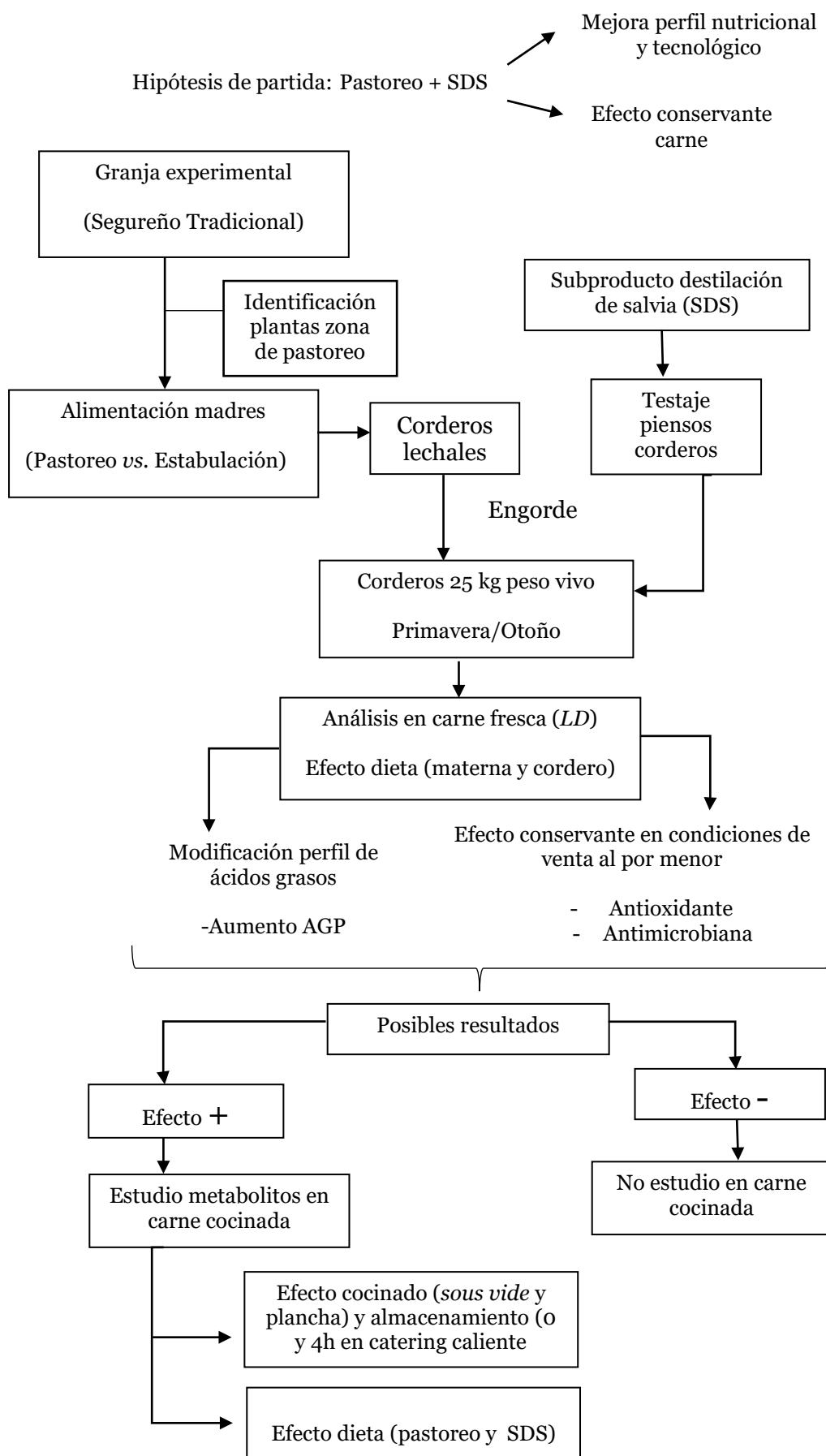


Figura 12. Esquema del diseño experimental.

2. GRANJA EXPERIMENTAL

La granja donde se llevó a cabo los experimentos pertenecía a una finca ubicada en las inmediaciones de la Sierra del Segura, al noroeste de la Región de Murcia. La finca contaba con una superficie total de 960 he. Disponía de dos grandes zonas de pastoreo bien diferenciadas: una zona de cultivo con rastrojera de cereal de secano y tierras en barbecho para el pastoreo de verano-otoño; (2) y una zona de monte bajo con predominio de arbustos y matorral mediterráneo para el pastoreo de otoño y primavera. La zona de la rastrojera de cereal contaba con una extensión de 652 he, dedicada al cultivo de cebada (60,2 %), trigo (20,1 %) y avena (19,7 %) mientras que la zona de monte bajo estaba compuesta por zonas libres de vegetación (37,5%), árboles (26,0%), plantas herbáceas (8,3%) y arbustos (29,2%) (Ver **Tabla 10 y 11**).

Tabla 10.

Plantas identificadas en las zonas de pastoreo de bosque mediterráneo.

BOSQUE MEDITERRÁNEO		
ÁRBOLES	ARBUSTOS	HIERBAS
<i>Quercus rotundifolia</i>	<i>Juniperus oxycedrus</i>	<i>Brachypodium retusum</i>
<i>Pinus halepensis</i>	<i>Juniperus oxyodon</i>	<i>Stipa tenacissima</i>
<i>Pinus nigra</i>	<i>Juniperus Phoenicia</i>	<i>Paronychia argentea</i>
	<i>Ballota hirsute</i>	<i>Helianthemum cinereum</i>
	<i>Genist scorpio</i>	<i>Atractylis humulis.</i>
	<i>Phlomis lychniti</i>	
	<i>Rosmarinus officinalis</i>	
	<i>Salvia lavandulifolia</i>	
	<i>Sideritis leucantha sbsp.</i>	
	<i>Thymus vulgaris</i>	
	<i>Bupleurum fruticosum</i>	
	<i>Lithodora fruticosa</i>	

Tabla 11.

Plantas identificadas en las zonas de rastrojera de cereal y barbecho.

RASTROJERA DE CEREAL Y BARBECHO	
ARBUSTO	HIERBAS
<i>Helianthemum hirtum</i>	<i>Buglossoides arvensis</i>
<i>Hypericum perforatum</i>	<i>Silene vulgaris</i>
<i>Artemisia campestris</i>	<i>Anacyclus clavatus</i>
<i>Eryngium campestre</i>	<i>Cardus sp.</i>
	<i>Centaurea depress</i>
	<i>Centaurea aspera</i>
	<i>Sonchus oleraceus</i>
	<i>Santolina chamaecyparissus</i>
	<i>Scorzonera laciniata</i>
	<i>Convolvulus arvensis</i>
	<i>Biscutella auriculata</i>
	<i>Descurainia sophia</i>
	<i>Diplotaxis erucides</i>
	<i>Sisymbrium crassifolium</i>
	<i>Erodium moschatum</i>
	<i>Avena sativa</i>
	<i>Bromus sp.</i>
	<i>Muscari neglectum</i>
	<i>Fumaria officinalis</i>
	<i>Papaver rhoeas</i>
	<i>Argyrolobium zanoii</i>
	<i>Dorycnium pentaphyllum</i>
	<i>Hypocrepis squamata</i>
	<i>Vicia villosa</i>
	<i>Plantago albicans</i>
	<i>Salsola Kali</i>
	<i>Reseda sp.</i>

3. ANIMALES Y DIETAS

3.1. OVEJAS

Para llevar a cabo el experimental se seleccionaron un total de 40 ovejas divididas aleatoriamente en 2 grupos de 20 ovejas designados como pastoreo (P) y control (C). Las ovejas preñadas fueron asignadas al azar a dos sistemas de cría diferentes (pastoreo y estabulación) durante la gestación (150 días) y la lactancia (45 días).

Siguiendo el ciclo natural del Segureño tradicional, las ovejas de la temporada de otoño que fueron estabuladas, recibieron grano de cebada y pellets de alfalfa (50:50) mientras que las ovejas restantes pastaron básicamente rastrojera y barbechos (pasto seco) durante la gestación y matorral (pasto verde) durante la lactancia. Por otro lado, en la temporada de primavera, las ovejas estabuladas recibieron grano de cebada y pellets de alfalfa (50:50), mientras que las que pastaban se alimentaron principalmente de forraje de paja (pasto seco) durante la gestación y matorral durante la lactancia tal y cómo se muestra en la **figura 13**.

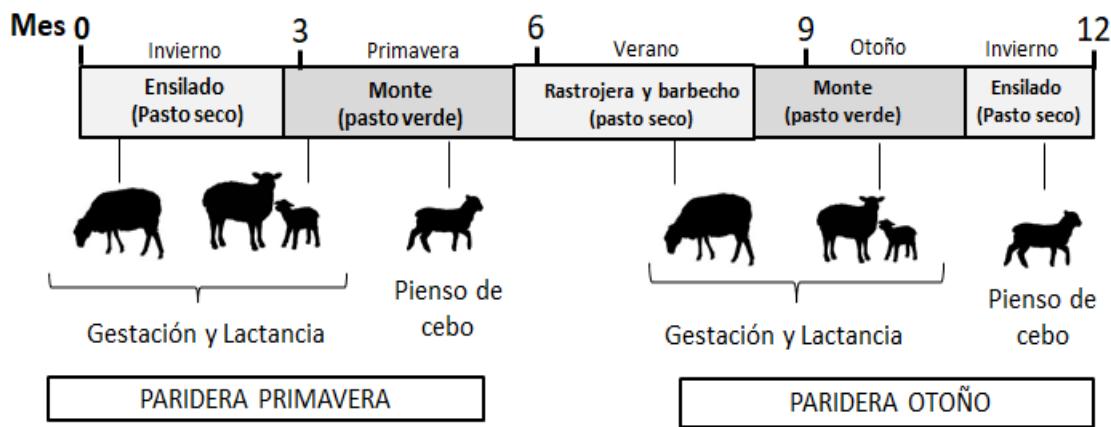


Figura 13. Esquema de producción de ovejas y corderos

Las ovejas pastaban durante unas 8 h diarias, sin los corderos, pero al regresar se confinaban en los corrales colectivos con los corderos. Por otro lado, las ovejas estabuladas fueron criadas en corrales junto con los corderos para controlar la ingesta del alimento. Cada oveja (pastoreo y estabulación) recibió 1,2 kg de grano de cebada y pellets de alfalfa, además de los 200 g de paja de cereal para la cama y comederos. En la **tabla 12** se muestra la composición de los granos de cebada y los pellets de alfalfa empleados en la alimentación ovina.

Tabla 12.

Composición nutricional de la dieta de las ovejas estabuladas (estimación en base de datos obtenidos por FEDNA).

PIENSO OVEJAS ESTABULADAS		
VALORES NUTRICIONALES	CEBADA	PELLETS ALFALFA
COMPOSICIÓN QUÍMICA (%)		
Proteínas	11,3	15,2
Cenizas	2,2	11,2
Humedad	10,1	8,5
Grasa	1,7	2,3
ÁCIDOS GRASOS (% GRASA)		
C14:0	-	1,5
C16:0	23,0	27,0
C16:1	-	1,0
C18:0	-	3,5
C18:1	13,0	8,5
C18:2	56,0	22,0
C18:3	6,0	33,0
C≥20	-	5,5
MACROMINERALES (%)		
Ca	0,06	1,6
P	0,32	0,25
Na	0,02	0,1
Cl	0,12	0,47
Mg	0,10	0,24
MICROMINERALES Y VITAMINAS (μg/ kg)		
Cu	6	10
Fe	75	390
Zn	30	26
Vit. E	20	70

3.2. CORDEROS DE CEBO

3.2.1. Dietas experimentales

Se fabricaron dos tipos de piensos para corderos de cebo: concentrado comercial (dieta basal) y el mismo pienso suplementado con 100 g SDS/kg pienso en la empresa de Piensos U.A.G (Lorca, Murcia) (ver **Tabla 13**). La ingesta media de todos los corderos destetados fue de 693.6 ± 54.0 g por animal y día; y el valor medio de la ganancia diaria de todos los corderos destetados fue de 219.5 ± 54.0 g por animal y día.

Para la fabricación de los piensos de SDS se utilizó un subproducto de destilación de salvia (*Salvia Lavandulifolia Vahl.*) que contenía hojas y semillas. El subproducto de salvia (SDS) se incorporó al resto de aditivos (minerales, vitaminas, etc.) para fabricar los pellets. La temperatura y la presión durante todo el proceso de granulación (17 min) fueron de 70-75 °C y 2 bar, respectivamente. Se determinó el perfil polifenólico y el perfil de ácidos grasos de ambos piensos (dieta basal y SDS).

Tabla 13.

Composición nutricional del pienso de los corderos de cebo.

PIENSO CORDEROS DE CEBO		
Ingredientes g/kg pienso		
	Primavera	Otoño
Maíz	346	285
Cebada	300	240
Trigo	-	150
Harina de soja	160	163
Granos secos de destilería	85	70
Salvado de trigo	50	30
Melaza de caña de azúcar	20	20
Aceite crudo de soja	3	5
Carbonato cálcico	18	18
Cloruro de sodio	5	5
Cloruro de amonio	3	3
Bicarbonato sódico	3	3
Vitamina E (mg/kg)	30	30
Composición proximal g/kg pienso		
	Primavera	Otoño
Proteínas	17,0	17,0
Lípidos	3,8	3,7
Fibra	4,0	4,3
Ceniza	6,3	5,6

3.2.2. Subproducto de salvia

El subproducto de salvia empleado fue adquirido a productores locales de aceite esencial y provenía de la destilación mediante arrastre con vapor de agua a 120° C de material fresco (planta completa) recolectado del monte y de cultivos locales. Una vez extraído el aceite de las hojas, éstas fueron incorporadas al pienso antes del proceso de peletización. Para la fabricación del pienso suplementado, la SDS se añadió a la mezcladora junto con el corrector y se continuó con los pasos habituales para este tipo de fabricaciones: mezclado del pienso a una temperatura inferior a los 65 °C y granulación a 70-75 °C y 2 Kg de vapor, hasta obtener un producto final con una humedad relativa inferior al 11 Tras la fabricación del pienso, se testó su contenido en polifenoles (expresado como mg / 100 g) mediante el método descrito por Jordán *et al.* (2014).

Para la extracción de polifenoles se utilizaron 0,5 g de pellets secos (35° C durante 48 h) y 150 ml de metanol en un extractor Soxhlet (B-811, Buchi, Flawil, Suiza). Los extractos metanólicos fueron llevados a seco a 40° C a vacío en un evaporador (Syncore Polyvap R-96) (Buchi, Flawil, Suiza). El residuo resultante se volvió a disolver en metanol y se completó hasta alcanzar 5 ml. Para el análisis cuantitativo y cualitativo de los polifenoles, se inyectaron 30 µL del extracto metanólico en un HPLC-12000 (Agilent, Waldbronn, Alemania) equipado con una bomba binaria G1311A y un detector de UV / Vis de fotodiodos G1315A. El análisis se realizó en una columna Zorbax SB-C18 de fase reversa (4,6 × 250 mm, 5-lm de tamaño poro, Agilent Technologies, EE. UU), utilizando una columna de protección (Zorbax SBC18 4.6125 mm, 5 lm de tamaño de poro) a temperatura ambiente. La fase móvil fue acetonitrilo (A) y agua acidificada que contenía 0.1% de ácido fórmico (B). El gradiente fue el siguiente: 0 min, 5% A; 10 min, 15% de A; 30 min, 25% de A; 35 min, 30% de A; 50 min, 55% de A; 55 min, 90% de A; 57 min a 100%(A). El caudal fue de 1,0 ml / min, y las longitudes de onda de detección se fijaron a 280 y 330 nm.

El contenido de grasa total y perfil de ácidos grasos de la SDS y de los piensos fue analizado por un laboratorio externo (Ecosur, Lorquí, Murcia). El contenido total de grasa (expresado como g/100g) se analizó según la ISO 1443:1973, y el contenido de ácidos grasos (expresado como g/100g de ácidos grasos metil ésteres identificados) fue analizado según la ISO 12966-2:2011 y 12966-4:2015). En resumen, el procedimiento empleado fue similar al que se describe más detalladamente en la sección 11.1 Grasa intramuscular y 11.6. Ácidos grasos, con algunas variaciones leves. Se utilizó un cromatógrafo de gases Trace 1300 acoplado a un detector de ionización de llama (Thermo Scientific, Alcobendas, Madrid, España); equipado con una columna Resteck Rt-2560 de sílice. Tanto los reactivos químicos como, el estándar interno y el multipatrón FAME C4-C24, fueron los mismos. El procedimiento de extracción de lípidos y las condiciones de trabajo del cromatógrafo también fueron similares, a excepción del caudal que fue de 1,2 ml/ min He y la rampa de temperatura del horno que fue de 165° C (temperatura inicial); 165-200 ° C a 5° C/ min y 200 ° C durante 1 min.

3.2.2. Destete y cebo de corderos

Una vez destetados, se seleccionaron 40 corderos a los cuales se les asignó dos dietas experimentales (dieta control y dieta SDS.) Una vez alcanzado el peso de sacrificio de $25 \text{ kg} \pm 2.1 \text{ kg}$ (98.3 ± 3.6 días de edad), los corderos fueron sacrificados en diferentes lotes compuestos por 1 animal de cada tratamiento dietético (4 animales en total). El sacrificio se programó en dos períodos. En primer lugar, se sacrificaron los corderos gestados en primavera, concretamente en los meses de mayo a julio de 2015 (corderos de primavera), mientras que los corderos gestados en otoño fueron sacrificados de noviembre a febrero (corderos de otoño).

En el estudio se utilizó el mismo número de hembras que machos. Todos permanecían estabulados en corrales individuales siguiendo las prácticas de cría del cordero Segureño y fueron pesados semanalmente durante el destete y dos veces a la semana la semana previa al sacrificio. Durante la lactancia (45 días desde el nacimiento hasta el destete), el valor medio del peso vivo de los corderos fue desde los $3.4 \text{ kg} \pm 0.4 \text{ kg}$ a los $13 \pm 1.0 \text{ kg}$. Durante el destete, el valor medio del peso vivo aumentó desde los $13 \pm 1.0 \text{ kg}$ hasta los $25 \pm 2.1 \text{ kg}$. Todos los corderos fueron alimentados *ad libitum* durante 80 ± 5 días (17 días de transición y 53 días de destete), con las dietas experimentales (dieta basal y la dieta SDS) (ver **Figura 14 y 15**). Durante la transición de la lactancia al destete, los corderos tuvieron acceso exclusivo a la dieta a través de una apertura donde solo podían entrar los corderos. Se utilizaron un total de 80 corderos (primavera ($n=40$) y otoño ($n=40$)), los cuales fueron codificados en función de la dieta y del sistema de cría de las ovejas (**Tabla 14**).

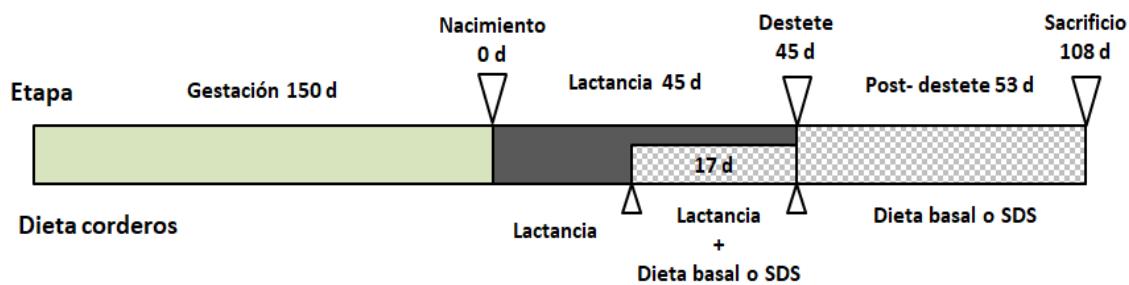


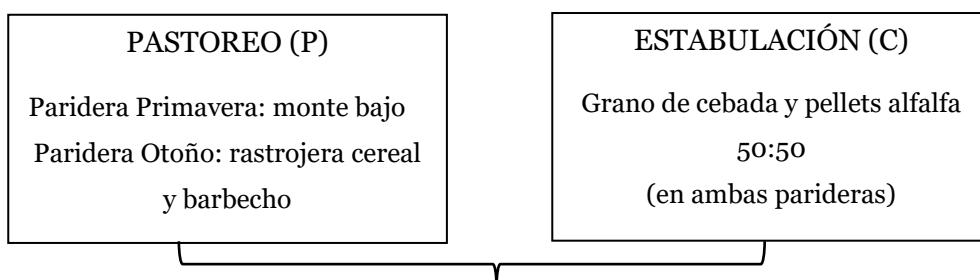
Figura 14. Esquema de producción de corderos en cada paridera.

Tabla 14.

Codificación establecida para los corderos de cebo.

CÓDIGOS CORDEROS	
Total= 40	
CC (n=10)	Ovejas estabuladas (C) + Corderos dieta basal (C)
CS (n=10)	Ovejas estabuladas (C) + Corderos dieta SDS (S)
PC (n=10)	Ovejas pastoreo (P) + Corderos dieta basal (C)
PS (n=10)	Ovejas pastoreo (P) + Corderos dieta SDS (S)

CARNE CRUDA. 1. Animales vivos



Lactancia: 45 días (28 + 17 días transición) / Destete: 53 días / Sacrificio: 98 días



Cordero raza Segureña - 10 animales/dieta – Periodo de cebo: 80 días - *Longissimus dorsi*



MATADERO

Figura 15. Esquema producción carne cruda 1. Animales vivos

CARNE CRUDA.2. Procesado y análisis

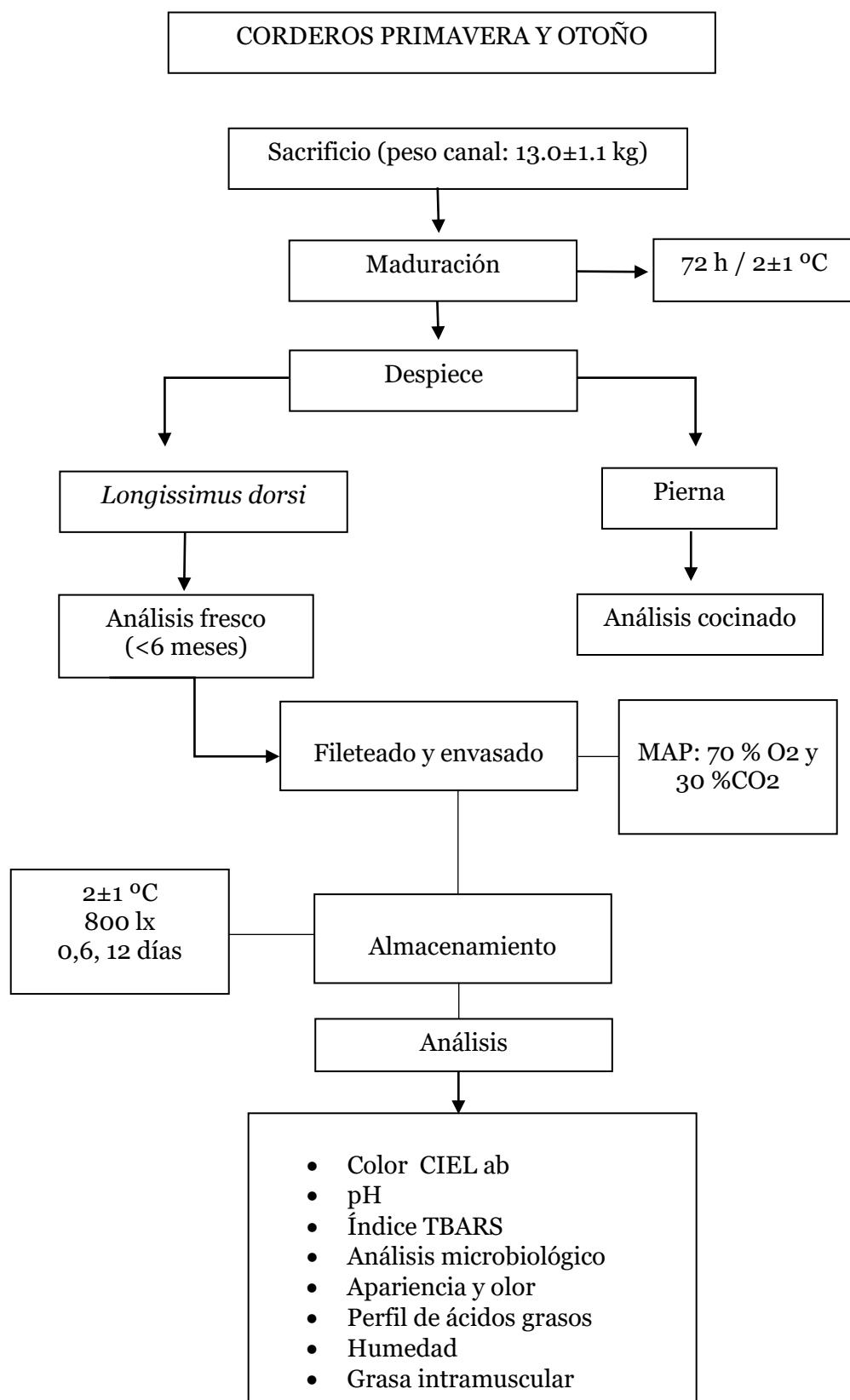


Figura 16. Esquema producción carne cruda 2 Animales vivos

4. SACRIFICIO Y OBTENCIÓN DE CANALES

Una vez alcanzados los 25 ± 2 kg de peso vivo, los corderos fueron trasladados y sacrificados en el matadero de Mercamurcia (El Palmar, Murcia) de acuerdo con la Reglamentación Técnico Sanitaria de mataderos y salas de despiece vigente en España (Reglamento (CE) 852/2004, 853/2004, 854/2004). El peso de las canales fue de 13.0 ± 1.1 kg de peso. Posteriormente, las canales se sometieron a un periodo de maduración durante 48 h a 2 ± 1 °C, tras el cual, fueron trasladadas a la sala de despiece, donde un carnicero profesional extrajo y envasó al vacío, tanto los lomos (músculo *Longissimus dorsi*), como las piernas deshuesadas, usadas para el estudio de la carne cocinada.

5. PROCESADO DE LA CARNE CRUDA Y OBTENCIÓN DE MUESTRAS

Los lomos y las piernas se envasaron a vacío y se trasladaron en neveras refrigeradas a la planta piloto del Departamento de Tecnología de los Alimentos de la Universidad de Murcia. Las piernas deshuesadas fueron almacenadas en cámaras de congelación (-18 °C) hasta su posterior análisis (el tiempo transcurrido entre la congelación y los análisis fue inferior a 6 meses) (ver **figura 16**). A continuación, se filetearon los lomos manualmente (1,5 cm de grosor) desechando los extremos. Los filetes de lomo se envasaron en bandejas de poliestireno Aerpack B5-37 (Coopbox Hispania, Lorca, Murcia, España) cubiertas con bolsas plásticas de baja permeabilidad a los gases ($12,8 \text{ cm}^3 \text{ ml}^{-2}$ por 24 h) (Otaci, Granada, España). El aire del interior del envase fue reemplazado por una atmósfera modificada compuesta por un 70% de O₂ y un 30% de CO₂ (EAP20, Carburos Metálicos, Barcelona, España) simulando las condiciones habituales de venta al por menor. Para ello, se utilizó una envasadora discontinua INELVI Visc 500 (Industrial Eléctrica Vilar, Barcelona, España).

Se comprobó con un medidor de gases OXYBABY (WITT Gasetechnik, Witten, Alemania) que no había variación significativa en la mezcla de gases durante el almacenamiento. Las bandejas de carne se almacenaron a una temperatura de 4 °C durante 0, 6 ó 12 días en una cámara Climacell 707 (MMM Medcenter Einrichtungen, München, Alemania) iluminada continuamente con luz fluorescente blanca (800 lx), simulando condiciones de venta al por menor. El tiempo de almacenamiento fue establecido en función de los resultados obtenidos por Serrano *et al.* (2014) en carne cruda de cordero almacenada en condiciones similares. Una vez finalizado el tiempo de exposición, las muestras se envasaron al vacío utilizando bolsas (170 x 250 mm) de película de barrera plástica (3 capas de PA / PE coextruido 20/70) (Bolsera Murciana SL, Murcia, España) y se congelaron a -80 °C para los estudios de estabilidad oxidativa y a -18 °C para el resto de análisis físico-químicos.

6. PROCESADO DE LA CARNE COCINADA Y OBTENCIÓN DE MUESTRAS

Para el estudio de la carne cocinada sólo se utilizaron las piernas de los corderos de otoño. Se seleccionaron un total de 24 piernas de forma aleatoria (6 piernas x 4 tratamientos dietéticos). Antes de su análisis, las piernas congeladas y envasadas a vacío fueron atemperadas en una cámara frigorífica (2° C) con aire forzado durante 24 h. Una vez descongeladas, las piernas enteras fueron fileteadas y se picaron en una picadora de discos perforados (3 mm) (Mainca PM98, Barcelona, España). A continuación, se le añadió sal común (2%) y se amasó manualmente durante 1 min. Con la masa resultante se formaron hamburguesas de 25 ± 0.4 g de forma manual.

A continuación, las hamburguesas se cocinaron alternativamente, en una plancha eléctrica (P), o en un baño termostático por el sistema *sous vide* (SV). Para el cocinado en plancha, se utilizó una plancha eléctrica de placas lisas (Silanos, Milán, Italia) a una temperatura de 150 ° C, durante 2 minutos hasta que la temperatura interna alcanzó los 72 ° C durante 20

segundos. Para el cocinado *sous vide*, las hamburguesas se envasaron en bolsas de poliamida-polipropileno (Wipack, Hamburg, Alemania) de tamaño 200 x 295 mm y resistencia térmica de -40 °C / 120 °C, permeabilidad al oxígeno de 7 cm³/m² para 24 h a 4 °C/80% HR. y permeabilidad al vapor de agua de 0,8 g/m² para 24 h. Seguidamente, las bolsas fueron selladas herméticamente con 100% de vacío en una envasadora (EGAR 8, Egarvac S.L., Barcelona, España) y se sumergieron en un baño termostático a 75 °C hasta que la temperatura interna alcanzó los 75 °C. Se realizó un estudio previo para determinar el tiempo y la temperatura del baño más óptimo. Todo el proceso fue controlado usando un termómetro portátil Digitron T200 (Digiton Instrumentation Limited, Merd Lane, Hertford, Hertfordshire, Reino Unido). Para simular las condiciones de catering, las muestras se mantuvieron durante 4 h en cámaras Climacell a 65 °C, iluminadas (800 lux), con una humedad relativa del 50%. Las muestras se analizaron a dos tiempos diferentes, recién cocinado y tras 4 h en caliente (ver **figura 17**).

Con el objetivo de reducir la variabilidad entre tratamientos, el enfriamiento de las hamburguesas cocinadas, tanto *sous vide*, como en plancha, se realizó a temperatura ambiente hasta que la temperatura interna del producto alcanzó 30 °C ± 2 °C según las recomendaciones establecidas por Chen, Madl y Smitt, (2017). Finalmente, las hamburguesas cocinadas para el sistema de catering en caliente se colocaron en placas abiertas de vidrio y se mantuvieron a 65 °C, 50% H.R. y 800 lx durante 4 h en una cámara climática Climacell 707. Transcurrido este tiempo, las hamburguesas se envasaron al vacío y se congelaron a -80 °C para su posterior análisis.

CARNE COCINADA. Procesado y análisis

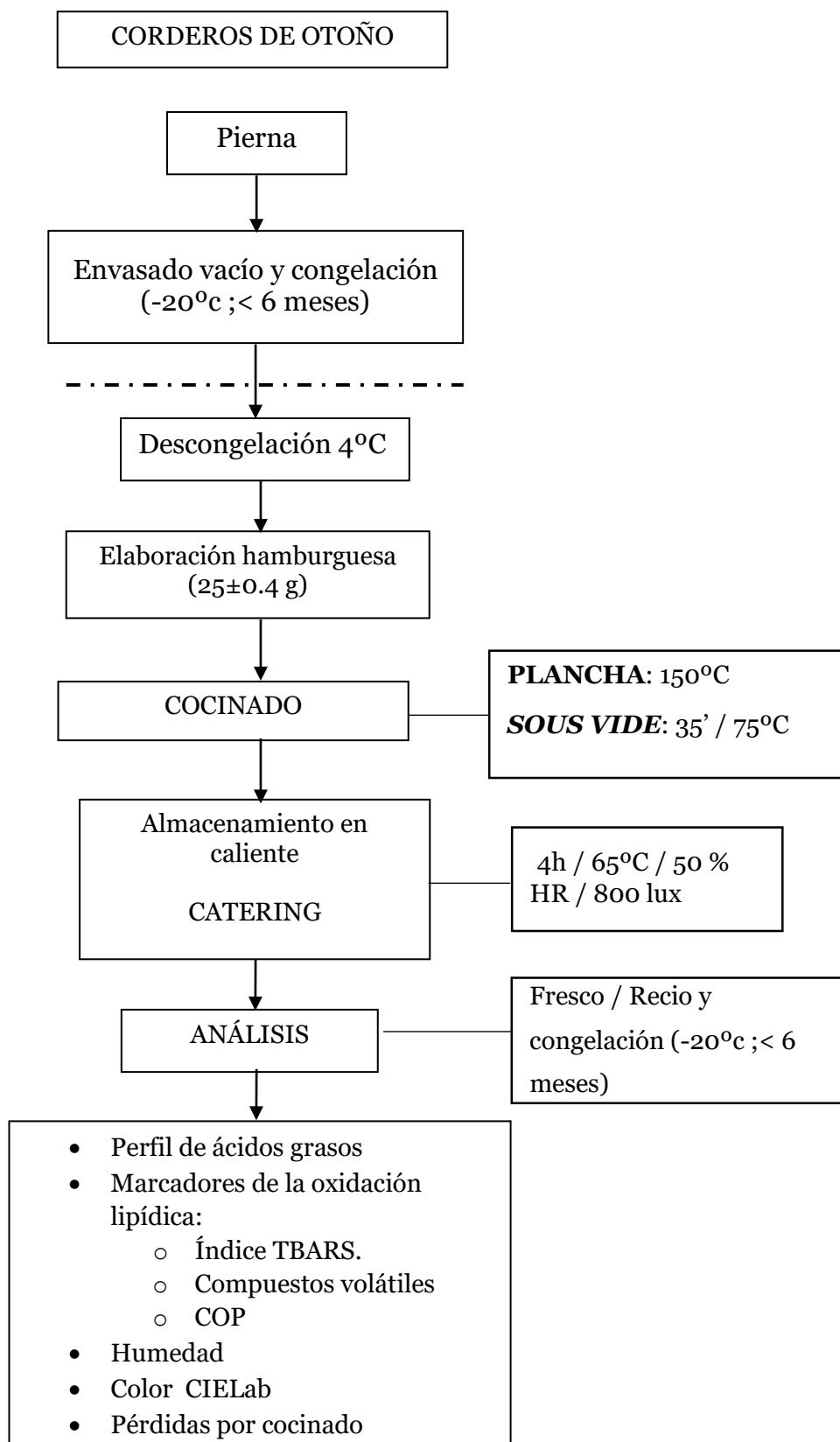


Figura 17. Esquema producción carne cocinada. Procesado y análisis

7. ANÁLISIS SENSORIAL

Para evaluar el efecto de la alimentación ovina y la suplementación dietética con SDS sobre los atributos sensoriales de la carne fresca, se realizó un análisis sensorial descriptivo cuantitativo de apariencia y olor.

1. Entrenamiento del panel de catadores

El análisis sensorial descriptivo se realizó con un panel entrenado compuesto por 8 catadores con experiencia y edades comprendidas entre los 25 y los 50 años; los cuales fueron seleccionados en función de su experiencia previa, disponibilidad y aptitudes sensoriales. El panel fue sometido a un entrenamiento específico (ISO: 8586 2012) durante 4 sesiones teórico-prácticas de 1 hora de duración. Las dos primeras sesiones se dedicaron a la evaluación y la discusión de las características sensoriales propias de la carne fresca. Las dos sesiones siguientes se destinaron a generar y seleccionar los descriptores de apariencia y olor. Los atributos escogidos fueron: olor propio, olor a rancio, olor pútrido, olor ácido, color magro y color grasa. También se evaluó la frescura.

Durante los entrenamientos se proporcionaron medallones frescos de lomo como muestras representativas con atributos sensoriales en estado óptimo. Los medallones estaban envasados en atmósfera modificada (70% O₂ y 30% CO₂) almacenados en refrigeración (4 ° C) durante 0,6 y 12 días. Además, se les facilitó muestras representativas de los atributos de color y olor asociados al deterioro.

Para la determinación de la intensidad de percepción de cada atributo se utilizó una escala de valores entre 1 y 5 (5: Muy intensa; 4: Intensa; 3: Moderada; 2: Débil; 1: No perceptible). El término “frescura” fue incluido en el análisis sensorial para evaluar la pérdida de calidad y deterioro de la carne. La máxima puntuación de este parámetro correspondió a la carne fresca recién envasada. La puntuación mínima correspondió a carne cruda envasada durante 16 días. Para determinar la frescura, cada panelista valoró de forma conjunta todos los atributos analizados, realizando un balance entre la intensidad de los atributos deseables e indeseables y estimando el predominio de unos u otros.

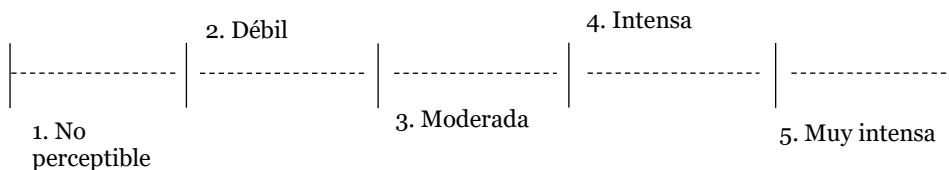
2. Análisis sensorial descriptivo cuantitativo

El panel de catadores evaluó los medallones crudos de lomo los días 0, 6 y 12 de almacenamiento en los experimentos 1 y 2. Las catas se realizaron siguiendo la norma ISO 4121 (2003) y las muestras se identificaron con una numeración aleatoria de tres dígitos, presentándose a los panelistas de una en una. Las pruebas sensoriales se llevaron a cabo en una sala de cata con cabinas individuales manteniendo las mismas condiciones de temperatura, luz y humedad ambiental en todas las sesiones (ISO 8589, 2007). La **figura 18** muestra la ficha utilizada para el análisis sensorial de la carne cruda de cordero.

Hoja de registro: **Medallón crudo de cordero**

Nombre del panelista: _____ Fecha: _____

Intensidad de percepción:



Atributo sensorial	Intensidad de percepción				
Código muestra					
Color magro <small>(5: Rojo marronáceo-1: Gris opaco)</small>					
Color grasa <small>(5: Blanco perla- 1: Amarillo)</small>					
Olor propio					
Olor rancio					
Olor ácido					
Olor pútrido					
Frescura					

Gracias por su colaboración.

Figura 18. Ficha de análisis sensorial de la carne cruda de cordero.

8. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

En primer lugar, se preparó agua de peptona (Laboratorios Microkit, BCDo46, Valdemorillo, Madrid, España) para realizar las distintas diluciones de siembra. Todos los medios de cultivo y los materiales necesarios fueron esterilizados en autoclave (Steam Sterilizer AES-28, Rayoa, Tarrasa, Barcelona, España) a 121 °C durante 20 min de acuerdo con las indicaciones del producto.

Se tomaron 10 g de carne por duplicado con pinzas y tijeras estériles y se introdujeron en bolsas de Stomacher. A cada bolsa se le añadió 90 ml de agua de peptona (Oxoid 133CM0087 Tryptone wáter, Basingstoke, Hampshire, Reino Unido) y se introdujeron en un Stomacher (IUL Instruments, GmbH, Königswinter, Alemania), obteniéndose así la dilución 10-1 a partir de la cual, se obtuvieron las sucesivas diluciones.

Todo el proceso de siembra se realizó bajo campana de flujo laminar (Telstar, Bio-II-A, Terrassa, España). Las placas se sembraron en masa y por duplicado. Se prepararon diluciones decimales en serie en agua de peptona y se vertió 1 ml de cada diluyente por duplicado en placas de medios de agar. La incubación de las muestras se llevó a cabo en una estufa ST 6120 (Heraeus S.A., Madrid, España). Tras el periodo de incubación, se procedió al recuento manual de las placas, expresando los resultados como log UFC/g.

Se analizaron recuentos de *Aerobios mesófilos totales* (ISO 4833: 2003) utilizando un medio de cultivo PCA (Cultmed-Panreac 413,1799, Barcelona, España) incubada a 30° C durante 72 h; *Bacterias ácido lácticas* (BAL) en agar Man Rogosa Sharpe (Cultimed-Panreac 413,784) en doble capa, incubada a 30 ° C durante 96 h; *Brochothrix thermosphacta* en agar de triptona de soja con un suplemento selectivo (sulfato de estreptomicina, acetato taloso y cicloheximida) (Oxoid CM0881, Basingstoke, Hamopshire, Estados unidos) incubada a 25 ° C durante 48 h; *E. coli* (<100 UFC /g) y coliformes totales (log UFC/g) en agar cromogénico (Oxoid CM0945) incubadas a 44° C durante 24 h (ISO 16649-2:2001). *Salmonella spp.*

(ausencia en 25 g) se determinó de acuerdo con la norma ISO 6579 (2002), para la cual las muestras se enriquecieron previamente incubando en agua de peptona a 37 ° C durante 18 h. Se utilizó agar semisólido Rappaport-Vassiliadis modificado (Oxoid CM 1112) para el enriquecimiento selectivo (incubado a 41,5 ° C durante 24 h). Para el aislamiento de *Salmonella* spp. e inhibir las especies de *Proteus* (incubadas a 37 ° C durante 24 h) se utilizó tetracionato de Muller Kauffmann (Oxoid CM0343). El medio de cultivo para la recuperación de *Salmonella* fue agar desoxiocolato de xilosa-lisina (Oxoid PO1132) a 37 ° C durante 24 h). El medio de cultivo selectivo y diagnóstico fue agar verde brillante (Oxoid: PO0171) a 37° C durante 24 h.

9. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO

a. Grasa intramuscular

La grasa intramuscular se extrajo empleando un disolvente orgánico a partir de la carne deshidratada y pulverizada, según el método Soxhlet (ISO 1443:1973). Para la extracción de grasa se pesó una taza metálica (Pi) que fue desecada durante 24 h a una temperatura de 105 °C (Heraeus D- 6450, Hanau, Alemania) y enfriada en un desecador a temperatura ambiente. A continuación, se introdujo 1 g de muestra desecada (pm) (24 h a 105 °C) y pulverizada en un cartucho de celulosa (Whatman, 33x 80 mm).

La extracción se realizó con 60 ml de éter de petróleo 40-60 °C (Panreac, Darmstadt, Alemania) en un extractor tipo Soxhlet (Selecta, Barcelona, España). El cartucho permaneció en el interior de la taza metálica durante 40 min a 80 °C. Transcurrido este tiempo, se sacó fuera de la taza, continuando el proceso de extracción durante 30 min a 100 °C. Por último, se cerró el circuito del disolvente y se abrió el circuito auxiliar de aire durante 20 min para evaporar los restos de éter de petróleo. Transcurridos los 20 minutos, la taza se llevó a una estufa de desecación a

105 °C donde permaneció durante 30 min. Finalmente, la taza se pasó a un desecador a temperatura ambiente y tras 30 minutos aproximadamente, se pesó la taza (Pf) en una balanza (Sartorius) de precisión (0,001 g) (Göttingen, Alemania).

El porcentaje de grasa total en materia seca (% GTs) se calculó a partir de la siguiente fórmula:

$$\boxed{\% \text{Gs} = [(Pf - Pi) / Pm] * 100}$$

El porcentaje de grasa total en materia húmeda (% Gh) se obtuvo utilizando la siguiente fórmula:

$$\boxed{\% \text{Gh} = \% \text{Gs} * [(100 - \% \text{H}) / 100]}$$

b. Humedad

La determinación del contenido en humedad (%H) se realizó mediante desecación por aire forzado (ISO 1442:1997). Previamente, se secaron las placas de Petri de vidrio a 105 °C durante 24 h, dejándose enfriar en un desecador a temperatura ambiente. Una vez enfriadas, se pesaron 5 g de carne (Pm) en las placas de Petri (Pp) y la muestra se secó a 105 °C durante 24 h. Tras enfriar en el desecador durante 15 minutos aproximadamente, se pesó la placa con la muestra desecada (Pf).

El porcentaje de humedad se calculó mediante la fórmula:

$$\boxed{\% \text{H} = [(Pp + Pm) - Pf] / P * 100}$$

c. pH

El pH de la carne se determinó por homogenización de acuerdo con la Norma ISO 2917 (1999). Se pesaron 5 g de muestra, se añadieron 45 ml de agua destilada y la mezcla se homogenizó (Silentcrusher M., Heidolph Instruments, Alemania) durante 1 min a 9500 rpm y se dejó reposar durante 5 min antes de proceder a medir el pH en un equipo micropH 2001 (Crison, Barcelona, España) con electrodo combinado Cat. 52-22 (Ingold Electrodos, Wilmington, Estados Unidos), calibrado adecuadamente con patrones de cloruro de potasio de 4,0 y 7,0. Cada medida se realizó por duplicado.

d. Color CIELab

El color de la carne se midió por reflectancia utilizando un colorímetro CR- 200/08 Chroma Meter II (Minolta Ltd., Milton Keynes, Reino Unido) con el iluminante D65, un 2º de ángulo de observador y un tamaño de abertura 50 mm. El equipo se calibró con una placa cerámica blanca estándar. Se realizaron tres medidas en puntos distintos de la superficie de cada muestra y posteriormente se calculó el valor medio de las distintas medidas. Se empleó un tiempo de afloración (blooming) aproximado de 30 min a 2 °C previo al análisis del color (Ortuño *et al.*, 2014).

Los valores que proporciona el equipo son la Luminosidad L* (o negro – 100 blanco), a* (-a verde, +a rojo), b* (-b azul, +b amarillo).

Las coordenadas cromáticas cilíndricas denominadas tinte o saturación (Croma o C*) y ángulo de tono o matiz (Hue °) (expresada como grados sexagesimales) fueron calculadas utilizando las siguientes fórmulas:

$$\begin{aligned} \triangleright C^* &= \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} / 2 \\ \triangleright \text{Hue } ^\circ &= \tan^{-1} (b^*/a^*) \end{aligned}$$

e. Índice de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS)

La valoración del grado de oxidación lipídica de la carne se realizó mediante el método TBARS descrito por Botsoglou *et al.* (1994). Se homogeneizaron 2 g de muestra con 8 ml de la disolución acuosa de ácido tricloroacético (5%) (Panreac) y 5 ml de butilhidroxitolueno (BHT) (Alfa Aesar, Kandel, Alemania) (0.8%) en hexano (J.T. Baker, Deventer, Holanda) a 9500 rpm durante 1 minuto. El homogenizado se centrifugó (Modelo 2010, Kubota Corporation, Tokio, Japón) a 3000 rpm durante 10 minutos. A continuación, se retiró el sobrenadante de los tubos y se recogió el extracto ácido en tubos de vidrio graduados. Los tubos se enrascaron hasta 10 ml con solución acuosa de ácido tricloroacético (5%) y se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 minutos. Se recogieron sendas alícuotas de 2,5 ml del extracto por duplicado y se introdujeron en tubos de vidrio Pirex con tapón de rosca, añadiéndoles 1,5 ml de la disolución de ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) al 0,8% (Acros organic, New Jersey, USA).

Los tubos cerrados se incubaron en un baño de agua a 70 °C durante 30 minutos y después se enfriaron en un baño de agua a temperatura ambiente (22 ± 2 °C) durante 5 minutos. La concentración de TBARS se cuantificó mediante espectrofotometría (UV/Vis Spectrometer, Spectronic Unicam, Nueva York, Estados Unidos). La longitud de onda utilizada fue de

532 nm y la medida se realizó frente a un blanco que contenía 2,5 ml de ácido tricloroacético (0,5%) + 1,5 ml TBA (0.8%) que también se incubó a 70 °C. La cuantificación de TBARS se realizó a partir de una recta de calibrado elaborada con diluciones progresivas de malondialdehído (MDA) (ver tabla 18). La disolución madre (239 µg MDA /ml) fue obtenida por hidrólisis ácida de una disolución de tetraetoxipropano (Acros organic, New Jersey, USA) en ácido clorhídrico 0,1 N (Chem-Lab, Zedelgem, Bélgica). La disolución de trabajo (2,39 µg MDA /ml) se obtuvo a partir de una alícuota de 1 ml de la disolución madre aforando hasta 100 ml con agua destilada. Para obtener las disoluciones de la recta patrón, se transfirieron alícuotas de la misma a tubos de vidrio con tapón de rosca, completándose con ácido tricloroacético (5%) hasta un volumen de 2,5 ml y obteniéndose concentraciones en µg / ml de: 0; 0,01; 0,05; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,7; 0,8; 0,9 y 1,0 (ver **Tabla 15**).

Tabla 15.

Ecuaciones de regresión lineal empleadas para la cuantificación de TBARS en carne fresca y cocinada.

Muestra	Ecuación	R ²	[TBARS]
Carne fresca	y = 1,1101x	0.999	
Carne cocinada	y = 0.148x+0.007	0.999	MDA mg/ml = ((abs - b/a)*(10/peso))

A cada tubo se añadieron 1,5 ml de solución acuosa de ácido tiobarbitúrico (TBA) (0,8%). Los tubos preparados con el rango de concentraciones de MDA, junto con una solución “blanco” de ácido tricloroacético al 5% que contenía 2,5 ml de ácido tricloroacético y de TBA al 0,8%, fueron sometidos a incubación y a posterior lectura espectrofotométrica, siguiendo el mismo procedimiento que el descrito para las muestras. El valor de TBARS se expresó como mg MDA /kg de carne.

f. Pérdidas por cocinado

Las pérdidas por cocinado se calcularon a partir de la diferencia de peso antes y después del cocinado.

$$\text{% Pérdidas por cocinado} = (\text{PI}-\text{PF}) / \text{PI} \cdot 100$$

PI: Peso crudo (gramos); PF: Peso cocinado (gramos)

g. Ácidos grasos

El perfil de ácidos grasos de la carne se determinó según una versión del método de Folch modificada por Boselli *et al.* (2005). Para la extracción lipídica, se pesaron entre 15 y 25 g de carne que se introdujeron en botellas Pyrex de 500 ml con tapón de rosca, añadiendo 200 ml de una disolución de cloroformo (Panreac, Castellar del Vallès, Barcelona) y de una mezcla de metanol (Panreac, Castellar del Vallès, Barcelona) y Butilhidroxitolueno (BHT) (Alfa Aesar, Kandel, Alemania) (1:1 v/v). La muestra se homogenizó a 10.000 rpm durante 3 min y después se incubó en una estufa a 60 ° C durante 20 min. Tras los primeros 10 min, se dejó salir el disolvente

evaporado dejando el tapón de la botella semiabierto. Trascurrido los 20 min, se dejó enfriar la botella durante 5 min con el tapón semiabierto. A continuación, se añadieron 100 ml de cloroformo y se volvió a homogenizar durante a 10.000 rpm durante 2 min. Seguidamente, la muestra se filtró con papel Wattman nº 1 y el residuo resultante se lavó dos veces con 10 ml de cloroformo. El filtrado se transfirió a una botella Pyrex de 500 ml y se añadieron 100 ml de una solución acuosa 1 M de cloruro potásico (KCl) (Panreac, Castellar del Vallès, Barcelona), agitándose vigorosamente la mezcla durante 1 minuto. Las botellas se dejaron enfriar en una cámara de refrigeración a 4 ° C hasta el día siguiente, donde las muestras fueron transferidas lentamente a un embudo de decantación, evitando la mezcla de fases y se recogió la fase orgánica (inferior) que contenía la fracción lipídica en una botella de 250 ml, a la que se añadió 30 g de sulfato de anhidro de sodio para absorber los posibles residuos de agua restantes en la muestra, agitando la muestra vigorosamente durante 1 minuto. Las botellas se dejaron enfriar a 4 ° C durante 2 horas y después se filtraron con un filtro Whatman nº1 que contenía 15 g de sulfato anhidro de sodio. El filtrado se transfirió a balón de 250 ml previamente desecado y pesado y fue llevado a seco en un rotavapor (Büchi, Rotavapor R-200, Ciudad de México, México) que disponía de en un baño termostático a 30 °C. Finalmente, se aplicó un ligero flujo de nitrógeno hasta que el peso fue constante. A continuación, se pesó el balón que contenía la fracción lipídica seca y se recogieron 20 mg de grasa en un tubo Eppendorf. La grasa restante se recuperó para en hexano: isopropanol para el análisis de COP y esteroles, conservándose a -80 °C hasta su posterior análisis.

La metilación de los ácidos grasos se realizó según el Reglamento (CE) nº 796/2002 de la Comisión del 6/05/2002 .Para ello, se tomaron tubos Eppendorf que contenían 20 mg de grasa extraída y se les adicionó 1 ml de n-hexano (Scharlau, Sentmenat, España) agitando la muestra en un vortex hasta su completa disolución. A continuación, se añadieron 20 µg de hidróxido de potasio (KOH) 2 N en metanol y de nuevo se agitó la muestra en el vortex durante 30 s. En este caso, se realizó una metilación en frío con una base fuerte (KOH). Con este método, no se metilan los ácidos grasos libres, ya que, en la carne fresca, el contenido de AG libres es muy pequeño

(inferior al 1-2 %), por lo que su análisis resulta insignificante (Álvarez *et al.*, 2009). El patrón interno usado para la cuantificación fue undecanoato metil éster (CAS 1731-86-8, Sigma-Aldrich, España). La disolución madre se preparó disolviendo 10 µl de patrón interno en 10 ml con n- hexano. Se tomaron 0,5 ml de la disolución madre, se añadió al tubo Eppendorf y se centrifugó (Biofuge pico, Heraeus, Alemania) a 2000 rpm durante 5 minutos. Seguidamente, se retiró el sobrenadante con mucho cuidado y se traspasó 1 ml de la muestra a un vial topacio de 2 ml. La determinación se realizó en un cromatógrafo de gases de la serie 6890N (Agilent Technologies, Madrid, España) acoplado a un detector de ionización de llama (GC-FID) empleando una columna capilar Agilent HP-88 (60 mx 250 µm x 0.2 o µm). Las condiciones de trabajo fueron las siguientes: velocidad de flujo de 1.4 ml / min de Helio (He) y una división de 1 : 1; volumen de inyección de 1 µl ; 250 ° C y 260 ° C de temperatura en el inyector y el detector FID, respectivamente; rampa de temperatura del horno de 125 ° C; 125 ° C a 145 ° C a 8 ° C / min; 145 ° C durante 26 minutos; 145 ° C a 220 ° C a 2 ° C / min; y 220 ° C durante 1 min. Se realizaron dos réplicas por muestra. La identificación y cuantificación de AG se llevaron a cabo por el método descrito por Cardenia *et al.* (2015) utilizando dos mezclas estándar: (i) mezcla de ésteres metílicos de ácidos grasos C4-C24 (Supelco, Bellefonte, PA, EEUU); y (ii) Nº 05632 mezcla de éster metílico de ácido linoleico (isómeros cis / trans (Sigma Aldrich). Los AG se expresaron como en porcentaje (g 100 / g) sobre el total de ácidos grasos identificados. La expresión de resultados se ha realizado empleando diversos sumatorios e índices:

- **Saturados (AGS)**

$$(C_{10:0} + C_{12:0} + C_{14:0} + C_{15:0} + C_{16:0} + C_{17:0} + C_{18:0} + C_{20:0}) / \sum AGT$$

- **Monoinsaturados (AGM)**

$$(C_{14:1t} + C_{15:1} + C_{16:1} + C_{17:1} + C_{18:1t} + C_{18:1c}) / \sum AGT$$

- **Poliinsaturados (AGP)**

$$(C_{18:2t} + C_{18:2c\ n-6} + C_{18:2\ c9T11+c11T9} + C_{18:2\ t10C12} + C_{18:3\ \gamma\ n-6} + C_{18:3\ \alpha\ n-3} + C_{20:2\ n-6} + C_{20:3\ n-6} + C_{20:3\ n-3} + C_{20:4\ n-6} + C_{20:5\ n-3} + C_{22:4\ n-6} + C_{22:5\ n-3} + C_{22:6\ n-3}) / \sum AGT$$

- **N-3**

$$(C_{18:3\alpha} + C_{20:5} + C_{22:5} + C_{22:6} + C_{20:3\ n-3})$$

- **N-6**

$$(C_{18:2t} + C_{18:2c} + C_{18:3\delta} + C_{20:2} + C_{20:3\ n-6} + C_{22:4})$$

Los índices de saturación (S/P), aterogénico (AI) y trombogénico (TI) se han calculado de acuerdo con Ulbricht y Southgate (1991) y Sinanoglu, Batrinou, Mantis, Bizelis y Miniadis-Mermaroglu (2013), tal como se indica a continuación:

- **S/P** (Índice de Saturación) = $\frac{C_{10:0}+C_{16:0}+C_{18:0}}{\sum AGM + \sum AGP}$

- **AI** (Índice Aterogénico) = $\frac{C_{12:0}+4X\ C_{14:0}+C_{16:0}}{\sum AGM + \sum(n-6)+\sum(n-3)}$

- **TI** (Índice Trombogénico) = $\frac{C_{14:0}+C_{16:0}+C_{18:0}}{0,5x\sum AGM+0,5x\sum(n-6)+3x\sum(n-3)+\frac{\sum(n-3)}{\sum(n-6)}}$

- **PUFA/SFA= AGP/AGS**

- **UI:** Suma del porcentaje de ácidos grasos insaturados multiplicado por su número de dobles enlaces.

h. Compuestos orgánicos volátiles

La determinación de los compuestos volátiles marcadores de la oxidación de lípidos (CVMO) se llevó a cabo según Almela *et al.* (2010), aunque las condiciones de extracción y análisis cromatográfico fueron optimizadas. Las muestras congeladas y envasadas a vacío se atemperaron en una cámara frigorífica (2 ° C) con aire forzado durante 2 h. A continuación, se picaron 10 g de muestra en un molinillo (Moulinex, España) durante 5 min. Seguidamente, se colocaron 5 g de muestra picada en viales opacos de 20 ml de cromatografía, dejando una proporción muestra: espacio de cabeza 1:3). Los viales se purgaron con helio durante 5 s a 2'5- 3 bar, para minimizar la cantidad de O₂ residual y reducir así, la oxidación lipídica y la formación de compuestos volátiles residuales (Ortuño , Serrano y Bañón, 2016). A continuación, se cerraron herméticamente con un tapón PTFE de rosca. Una vez acondicionada la fibra, se introdujeron los viales en un baño a 40 ° C durante 10 min de agua (37 ° C) con el fin de alcanzar el equilibrio de volátiles en el espacio de cabeza. A continuación, se insertó la aguja y se introdujo la fibra a través del septum de los viales inmersos en el baño de agua (37 ° C), dónde se dejó durante 30 min, para poder alcanzar las condiciones de equilibrio entre el espacio de cabeza y la fibra.

Para el análisis de los compuestos volátiles se realizaron dos réplicas por muestra y se utilizó un cromatógrafo de gases (GC-MS) AGILENT 7890B (Agilent Technologies, USA) acoplado a un detector de masas modelo AGILENT 5977 A MSD (Agilent Technologies, USA). La separación se llevó a cabo mediante una columna capilar VF-WAXms de 30 m de longitud, 0.25 mm de diámetro interno y 0,25 µm de espesor de fase estacionaria.

Las condiciones de inmersión de la fibra fueron:

- Profundidad de inmersión de la aguja: 2, 5 cm
- Diámetro de la cámara de vaporización: 0,75 mm
- Tiempo de desorción en el interior del inyector: 5 min.

El puerto de inyección y la fuente de ionización se mantuvieron a 250 ° C y 280 ° C respectivamente. Para la fase estacionaria, la temperatura inicial del horno se fijó a 40 ° C, luego se incrementó a 2,5 ° C/ min hasta 150 ° C para finalmente alcanzar los 250 ° C a una velocidad de 10 ° C/ min. Los picos individuales de retención fueron identificados a través de la comparación de los espectros respecto a los estándares. También se compararon los espectros con la biblioteca de espectrometría de masas NIST 98 (NIST, Gaithersburg, MDN) y finalmente se cotejaron con los de los compuestos conocidos de artículos científicos (**Tabla 16**) (Almela, 2010; Rivas cañedo *et al.*, 2013; Gravador *et al.*, 2015^b; Roldan *et al.*, 2015; Sánchez-Del Pulgar *et al.*, 2013; Bravo-lamas, Barron, Farmer y Aldai., 2018; Ortúñoz *et al.*, 2014 y Carballo, Caro, Andrés, Giráldez y Mateo., 2018.)

Tabla 16.

Identificación de compuestos volátiles.

VOC	LRI	Método identificación	TI	Q1
Aldehydes				
Pentanal	1062	NIST,LRI	58	-
3-Methyl-Butanal	1066	NIST,LRI	58	45
Hexanal	1109	NIST,std,LRI	56	72
Heptanal	1180	NIST,std,LRI	70	45
2-Heptenal (E)	1273	NIST,LRI	83	57
Octanal	1299	NIST,stdLRI	55	69
2-Octenal (E)	1374	NIST,std,LRI	70	55
Nonanal	1397	NIST,std,LRI	57	70
Benzaldehyde	1486	NIST,LRI	106	71
2-Nonenal	1512	NIST,std,LRI	70	55
Decanal	1564	NIST,LRI	57	67
2,4-Decadienal	1792	NIST,std,LRI	84	15
Furans				
2-Pentyl-Furan	1205	NIST,LRI	81	13
Hydrocarbons				
Hexane	1032	NIST,LRI	57	72
Heptane	1035	NIST,LRI	57	71
Octane	1040	NIST,LRI	58	71
Benzene	1053	NIST,LRI	78	-
Toluene	1090	NIST,LRI	91	65
Ethylbenzene	1153	NIST,LRI	91	10
P-Xylene	1153	NIST,LRI	91	106
Decane	1292	NIST,LRI	57	71
Dodecane	1426	NIST,LRI	57	71
Terpenoids				
Limonene	1328	NIST,LRI	68	-
Alcohols				
1-Penten-3-ol	1058	NIST,LRI	57	71
1-Pentanol	1090	NIST,std,LRI	55	70
1-Hexanol	1161	NIST,LRI	56	69
1-Heptanol	1264	NIST,std,LRI		
1-Octen-3-ol	1353	NIST,std,LRI	57	72
1-Octanol	1546	NIST,LRI	56	70
Ketones				
2-Heptanone	1177	NIST,LRI	58	71
2,3-Octanedione	1289	NIST,LRI	99	71
Sulfur compounds				
Carbon disulfide	1036	NIST,LRI	76	-

LRI: índice de retención lineal, TI: ión principal, Q1: ión secundarios. LRI literatura: datos contrastados con:

i. Esteroles y productos oxidados del colesterol (COP)

Para la determinación de los compuestos oxidados del colesterol (COP) y esteroles se realiza a través de una saponificación en frío con el fin de eliminar restos de triacilglicéridos (TAG), ácidos grasos libres (AGL) e impurezas solubles en agua durante la extracción de COP y esteroles. De este modo, se minimiza la descomposición del 7-quetocolesterol en diversos compuestos, por lo que podría alterar el análisis. La cantidad de grasa a analizar fue de aproximadamente 230-300 mg y se saponifica en frío, según la técnica descrita por Sander, Addis, Park y Smith (1989). A partir de la solución obtenida, se extrajo la fracción insaponificable, compuesta por los esteroles y los COP. La fase etérea que contiene la parte insaponificable de la grasa se lavó hasta que alcanza un pH neutro y a continuación, se deshidrata con sodio sulfato anhidro, se llevó a seco y se almacena en el congelador en hexano: isopropanol (4:1 v/v). A partir de este extracto se analizaron los esteroles o tras una purificación adicional con extracción en fase sólida (SPE), los productos de oxidación del colesterol.

Para la saponificación en frío, primero se atemperó la grasa disuelta en hexano: isopropanol a 40-45 °C durante 20 minutos para evitar fluctuaciones en la toma del volumen de la muestra, que puede variar con temperaturas extremas). También se atemperaron los patrones que se añaden posteriormente. Puesto que se desconocía la cantidad exacta de grasa disuelta, se realizó un pequeño ajuste antes de iniciar la saponificación. Para ello, se tomaron alícuotas de muestra en un tubo Sovirel (de 20 mm de diámetro) y se llevaron a seco a 40-45 °C y bajo una corriente de nitrógeno durante unos 10-15 min. Una vez conocido el volumen necesario de la grasa disuelta, se repitió el procedimiento anterior y se tomó nota tanto del peso exacto de la grasa seca necesaria para la saponificación (en torno a 230-300 mg) como del tubo Sovirel vacío donde se adjuntó dicha grasa. Seguidamente, se añadieron los patrones atemperados. Para la identificación de los esteroles, se añadió betulinol de una disolución estándar de 2 mg/ml (142,8 µg) y para la identificación de los COP se el 19-hidroxi-colesterol de una disolución estándar de 0,5 mg/ml (12,75 µg); y se llevaron a seco con nitrógeno durante 5 min. Tras llevar a

seco los tubos, se añadieron 10 ml de una solución de 1 N de KOH en metanol. Las muestras se agitaron en el vórtex hasta su completa disolución. A continuación, se cubrieron los tubos con papel de aluminio, para evitar la fotooxidación, y se acomodaron en un agitador basculante a temperatura ambiente por unas 18-20 horas.

Trascurrida la saponificación, se transfirió el contenido de los tubos a un embudo separador de 250 ml y se procedió al primer lavado con agua destilada. Los tubos vacíos se lavaron con 3 y 7 ml de agua destilada, adjuntando cada lavado al embudo separador. A continuación, se realizó el segundo lavado con 3, 7 y 10 ml de éter etílico. Se añadieron 2-4 gotas de fenolftaleína como indicador, para poder separar la fase acuosa (adquirió una tonalidad rosada al añadir el indicador) de la fase etérea, que se recogió en un matraz de 100 ml. Se reintrodujo la fase acuosa al embudo separador y se repitió el proceso anterior por dos veces con 10 ml de éter etílico, recogiendo toda la fase etérea. A continuación, se realizó el tercer lavado, en el que se añadió 5 ml de KOH al 0,5 % por dos veces y 5 ml de cloruro de sodio (NACL) al 10% por repitió el mismo procedimiento anterior, pero añadiendo 5 ml de KOH al 0,5 % por tres veces, hasta que el pH de la fase etérea fuera neutro. Tras finalizar los lavados, se recogió toda la fase etérea y se añadieron 15 g de sodio sulfato anhidro al matraz, dejándolo reposar durante 1 hora y media en el frigorífico, agitando cada 20 min. Tras la hora y media, se filtró la muestra con un filtro plegado y con una 15 g de sodio sulfato anhidro en un balón de rotavapor de 100/150 ml, y se eliminó el solvente con el rotavapor. A continuación, se recuperó la parte insaponificable resultante con éter etílico, se llevó a seco con nitrógeno y se recuperó en hexano: isopropanol (4:1 v/v).

Para la purificación de los COP, se tomaron 800 µl de la fase insaponificable obtenida anteriormente y se llevó a seco con nitrógeno. A continuación, se recuperó el residuo con 0,5 ml de hexano: etilacetato 95:5 (v/v). Previamente, se activaron las columnas de SPE NH₂ para la extracción de fase sólida (Strata NH₂ 55 µm 70A, Phenomenex) de 500 mg/ 3 ml con un poco de hexano. Cuando la columna ya activada, se cargó la muestra y se la hizo pasar por la columna de SPE. A continuación, se

añadieron 6 ml de hexano: etilacetato 95:5 (v/v) y 10 ml de hexano: etilacetato (9:1 v/v), descartando el residuo. Por último, se adicionaron 10 ml de acetona, recogiendo el residuo en un tubo de punta cónica y llevándolo a seco con nitrógeno.

Para el análisis de esteroles, se derivatizaron las muestras para el análisis cromatográfico añadiendo 1 ml de solución silanizante (piridina anhidra + trimetilclorosilano + hexametildisalazano. Los COP detectados en las muestras fueron: 7 α -Hidroxi colesterol (7α -HC;) 7 β - Hidroxi colesterol (7β -HC); β -Epoxi colesterol (β -EC); α -Epoxi colesterol (α -EC); Triol; 7-quetocolesterol (7-KC). El 24-Hidroxi colesterol y el 25-Hidroxi colesterol no se encontraron en nuestras muestras. La identificación de los COP se realizó comparando los tiempos de retención y el espectro de masas con los correspondientes patrones. Como patrón interno se utilizó el 19-hidroxicoleserol. El ratio m/z utilizado para la identificación y cuantificación de los COP se muestra en la **tabla 17**. La respuesta de cada compuesto fue evaluada con respecto a su correspondiente estándar y se realizaron dos réplicas por muestras.

Tabla 17.

Tiempo de retención de iones característicos (*m/z*) de los óxidos del colesterol obtenidos por GC/MS.

Oxisteroles	Iones (<i>m/z</i>)	Tiempo de retención (min)
7 α -hidroxicoleserol	456,457,458	2.460
7 β -hidroxicoleserol	456,457,458	2.770
5,5 β -epoxicolesterol	384,445,474	2.860
5,6 α -epoxicolesterol	366,384,459	2.907
Triol	403	3.12
7-ketocolesterol	472,514	3.28

La expresión de resultados se realizó a través de las siguientes fórmulas:

- g Colesterol/100 g grasa = $(\frac{\mu\text{g cholesterol} * 100}{\text{peso mg grasa}}) / 1000$
- 7 α -Hidroxi colesterol $\mu\text{g}/100 \text{ mg grasa} = \frac{\mu\text{g } 7\alpha\text{-HC} * 100}{\text{mg grasa saponificación}}$
- 7 β - Hidroxi colesterol $\mu\text{g}/100 \text{ mg grasa} = \frac{\mu\text{g } 7\beta\text{-HC} * 100}{\text{mg grasa saponificación}}$
- β -Epoxi colesterol $\mu\text{g}/100 \text{ mg grasa} = \frac{\mu\text{g } \beta\text{-EC} * 100}{\text{mg grasa saponificación}}$
- α -Epoxi colesterol $\mu\text{g}/100 \text{ mg grasa} = \frac{\mu\text{g } \alpha\text{-EC} * 100}{\text{mg grasa saponificación}}$
- Triol $\mu\text{g}/100 \text{ mg grasa} = \frac{\mu\text{g Triolo} * 100}{\text{mg grasa saponificación}}$
- 7-Queto colesterol $\mu\text{g}/100 \text{ mg grasa} = \frac{\mu\text{g } 7\text{-KC} * 100}{\text{mg grasa saponificación}}$
- Velocidad de oxidación (% OR) = $\frac{\text{COP mg}/100\text{g grasa}}{\text{Colesterol mg}/100\text{g grasa}} * 100$

10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el estudio de carne cruda, se analizaron un total de 80 corderos (lomos) (10 corderos x 4 tratamientos dietéticos x 2 estaciones (primavera y otoño); mientras que el número de corderos (piernas deshuesadas) analizados en el experimento de la carne cocinada fue n = 24 (6 corderos x 4 tratamientos dietéticos). El efecto de los tratamientos se determinó mediante un diseño bifactorial aleatorio con dos niveles de sistema de cría (pastoreo e intensivo) y dos niveles de suplementación (0 y 100 g SDS /kg pienso). Se utilizó un análisis de varianza (modelo de medidas repetidas) para determinar el efecto de los tratamientos dietéticos (sistema de cría x suplementación corderos) y el tiempo de almacenamiento (0, 6 y 12 días) en las variables dependientes determinadas en la carne. El tiempo de almacenamiento se utilizó como factor intra-sujeto, mientras que el sistema de cría y la suplementación dietética de los corderos se utilizaron como factores inter-sujetos. También se realizó un ANOVA con los panelistas como factor fijo para verificar que todos los panelistas evaluaron de forma similar.

Para el análisis de carne cocinada se realizó un ANOVA de 3 factores medidas repetidas para determinar el efecto del tratamiento dietético, el tipo de cocinado (*plancha y sous vide*) y el tiempo de exposición en caliente (*recién cocinado y 4 h*). En todos los casos, se aplicó el test de homogeneidad de medias para comparar los mínimos cuadrados que se consideraron estadísticamente significativos cuando p< 0.05. Los datos se analizaron utilizando el programa informático Statistix 8.0 para Windows (Analitical Software, Tallahassee, Florida, Estados Unidos).

RESULTS AND

DISCUSSION

Resultados y discusión



1. POLYPHENOL CONTENT OF SALVIA DISTILLED BY-PRODUCT (SDB)

The polyphenol compounds quantified in the sage distilled by-products (SDB) used to make lambs feeds are shown in **table 18**. Ten polyphenolic compounds were determined: salvianic acid, eriodictiol, caffeic acid, luteolin-7-glucoside, rosmarinic acid, luteolin, apigenin, diosmentin, cirsimarinin y genkwanin. Among them, the most abundant polyphenols present in both seasonal feeds (spring and autumn) were rosmarinic acid, cirsimarinin, and luteolin-7-glucoside. Overall, the spring SDB contained a lower quantity of total polyphenols (115.6 mg/100g) than the autumn SDB (387.9 mg/100g). Regarding phenolic acids the spring SDB contained 57.1 mg/100g rosmarinic acid, while the autumn SDB contained 147.3 mg/100g. There were similar seasonal differences for the levels of salvianic and caffeic acids as well as of the rest of polyphenols detected in the SDB. These results partially agree with previous studies on salvia polyphenols. Sánchez-Vioque *et al.* (2018) identified the total polyphenolic compounds from dry solid residue from the distillation by-products (inflorescences, leaves, and stems) of different population of *salvia lavandulifolia Vahl*, reporting the next components: salvianic acid, hesperidin, caffeic acid, luteolin-7-o-rutinoside, ferulic acid, luteolin-7-o-glucuronide, apigenin-7-o-neohesperidoside, apigenin-7-o-glucoside, rosmarinic acid, salvianolic acid A, luteolin, cirsimarinin and salvigenin. However, these populations showed significant differences in their phenolic profiles, which seemed to affect scarcely their respective antioxidant activities. Ben Farhat, Landoulsi, Chaouch-Hamada, Sotomayor, and Jordan (2013) quantified the phenolic compounds of *Salvia verbenaca*, *aegyptiaca*, and *argental* and reported that the polyphenols present in high proportions in salvia methanolic extract were rosmarinic acid, carnosic acid, carnosol, and methyl carnosate, although the concentrations of these compounds varied depending on the plant species.

Table 18.

Polyphenol total content of the sage distillation by-product (SDB) included in lamb feeds.

Polyphenols (mg/100g)	Spring SDB	Autumn SDB
Salvianic acid	1.8	20.0
Eriodictiol	0.9	13.4
Caffeic acid	1.1	5.1
Luteolin-7-glucoside	7.3	42.4
Rosmarinic acid	57.1	147.3
Luteolin	0.9	34.7
Apigenin	0.1	6.9
Diosmentin	0.6	19.4
Cirsimarinin	46.1	68.8
Genkwanin	0.3	29.9
Overall	115.6	387.9

Data provided by the Department of Natural Resources and Rural Development, Institute of Agricultural and Food Research and Development, Murcia, Spain. Polyphenol quantification limit: 0.01 mg/100g SDL.

They also found other compounds such as luteolin, apigenin, genkwanin o salvigenin, also present in our study. Recently, the same group also analysed the polyphenol content in *Salvia aegyptiaca L.* from hydro-distilled methanolic extract, determining that the main compound was methyl carnosate, rosmarinic acid and apigenin-7-glucoside (Ben Farhat, Sotomayor and Jordán, 2019). Lu and Fo (2001) also analysed polyphenol in the whole plant of *Salvia officinalis* and reporting that the potentially available polyphenols are rosmarinic and caffeic acids. It has been proved that the polyphenols present in PAM and the subsequent antioxidant activities may vary depending on their physiological stage when they are collected. Indeed, Porres-Martínez *et al.* (2014) analysed the influence of the phenological stage (vegetative and full flowering stage) on the chemical composition of essential oil and its antioxidant activity of essential oils from *Salvia lavandulifolia*. These authors reported that the chemical composition of essential oil could vary with the plant phenological stage. For instance, α-pinene, β- pinene and limonene predominated at the vegetative stage, whereas camphene, 1-8- cineole and camphor were the main components at the full flowering stage. The subsequent antioxidant activity was higher in the samples from the full flowering stage than in those from the vegetative stage, concluding that these differences could be used to determine the best harvesting time. Similarly, Usano-Alemany, Palá-Paúl and Herráiz-Peñalver (2016), studied the effects of the phenological stage (leaves formation-vegetative, full bloom and seed maturation) and the harvest year in the composition of essential oil from different clonal lines of *Salvia lavandulifolia*. The phenological stage affected different compounds such as β-pinene + myrcene, 1, 8-cineole, and (E)-β-caryophyllene. The content of β-pinene + myrcene and (E)-β-caryophyllene was higher in full bloom, whereas 1,8-cineole was higher in seed maturation. These authors also reported that 1,8-cineole increases with the age of the plants, being higher during the first two years of cultivation. Ben Farhat, Jordán, Chaouch-Hamada, Landousli, and Sotomayor (2016) also reported differences in the yield and the chemical composition of the *Salvia officinalis* essential oil in the course of its growth cycle. During the flowering period, the essential oil showed higher production of 1,8-cineole;

however, camphor is higher at fruiting and vegetative stage. Chemical compositions can fluctuate during the phenological cycle. These changes may be associated with metabolic changes to prepare the sage flowering, and thus, the high amounts of 1,8-cineole emitted by flowers could serve to attract more pollinators (Croteau, Kutchan, and Lewis, 2000). The phenological state of aromatic-medicinal plants (AMP) may also modify the composition of remaining phenols present in extracts. Sellami *et al.* (2009) reported that the methanolic extract from *Origanum majorana L.* dried aerial parts showed a predominance of phenolic acids during the early vegetative stage, whereas flavonoids predominate during the other stages of growth. After the vegetative stage, the plant must prepare for the flowering stage, and it could be postulated that during this stage the plant accumulates phenolic to prepare itself to the lignification process to break its growth. In our study, the differences found in the polyphenol concentration of both SDB were noticeable and could not only be explained by agronomical factors. Other factors related to the post-harvesting treatments applied (dryness, distillation.) or SDB storage conditions may also affect its polyphenol content. AMP distillation by-products are usually stored outdoors under uncontrolled conditions for the time necessary for them to be reused or removed. Therefore, climatic phenomena, such as the sunlight, high temperatures, and rain, can contribute to the degradation of the bioactive compounds present in vegetables by oxidation reactions or by fermentation processes. In our study, the sage came from the same producer, although it had more crop plots. Sage was collected once a year, specifically in summer. After harvesting, sage was distilled and the SDB stored until use. Therefore, SDB used in spring came from last summer and might have been more deteriorated. However, SDB used in autumn came from a recent distillation batch, thus explaining the differences between SDB seasons. The differences found in the total polyphenol content, three times higher in the autumn SDB, suggest that storage conditions affected the spring SDB quality. Therefore, it is expected that the autumn SDB will contribute with a more quantity of sage polyphenols to lamb feed, and, as a result, it might have a more significant antioxidant effect than the spring SDB.

2. POLYPHENOL CONTENT OF LAMB FEED

The average content of polyphenol compounds quantified in lamb feed is shown in **table 19**. A total of fifteen polyphenols were determined: salvianic acid, daidzin, genistin, eriodictiol, genistein, caffeic acid, rosmarinic acid, luteolin, apigenin, hispidulin, diosmentin, eupatilin, genlwanin and salvienin. The most abundant polyphenols present in both seasonal SDB feeds (spring and autumn) were rosmarinic acid, luteolin, genistin, daidzin, and cirsimarin. Overall, the spring SDB feed contained a lower quantity of total polyphenols (746 mg/kg) than the autumn SDB feed (1219 mg/kg), while the levels of total polyphenols quantified in the control feeds were 220 mg/kg (spring) and 450 mg/kg (autumn). The incorporation of SDB sharply increased the amount in polyphenols of the lamb feed. The remaining total content of sage polyphenols in the lamb feed was calculated as follows: the spring SDB (at 10%) provided 116 mg per kg feed, if the values corresponding to daidzin and genistin are removed, thus, the total content in sage polyphenols of this feed was 57.6 mg/kg. Likewise, the autumn SDB (at 10%) provided 388 mg per kg feed, if the values corresponding to diazin, genistin and genistein are removed, thus, the total content of sage polyphenols was 80.9 mg/kg.

Therefore, the recovery percentages for SDB polyphenols were 49.8% and 21.1% for the spring and autumn feed, respectively. However, after the pelletizing process, the autumn feed retained higher of sage polyphenols and would have therefore more potential to exert antioxidant effects in the feed and/or the animals. Regarding the content of phenolic acids, spring SDB feed contained 40 mg/kg rosmarinic acid, while autumn SDB feed contained 103 mg/kg of this acid. The quantities of salvianic and caffeic acid provided by the spring SDB were irrelevant; however, their respective recovery percentages in the autumn feed were 50.0% (salvianic acid) and 39.2% (caffeic acid). Some compounds that did not appear in SDB but were found in the SDB feeds hispidulin (only at SDB autumn feed; eupatilin (in SDB

spring and autumn feed) and salvianin (in SDB spring and autumn feed). These results are coherent with the polyphenols quantified in the SDB, composed of rosmarinic acid, cirsimarin and luteolin-7-glucoside. It should be noted that luteolin-7-o-glucoside was not found in lamb SDB feeds. In contrast, when Chaaban *et al.* (2017), analysed the effect of heat processing on the thermal stability of luteolin and luteolin-7-o-glucoside, they observed a higher stability of the latter glucoside at temperatures below 100 °C. In our study, the pelletisation, the temperature reached 70 to 75 °C, so it would be expected that luteolin deteriorated more than luteolin-7-o-glucoside. Hispidulin is a flavonoid present in sage and was quantified by Tomás-Lorente, García-Grau, Barberán (1988) in *Salvia Lavandulifolia*. Lu and Fo (2002) informed that hispidulin might be a 6-hydroxyapigenin methyl ether. Although this compound was not detected in the SDB, there might be an overlap with Apigenin. Areiras, Valentao, Andrade, Ferreres and Seabré, (2000) observed that hispidulin is visible in the final part of the chromatograms and sometimes hispidulin was not well resolved because its identification may depend on the gradient and the solvent used. In this study, hispidulin collapsed with apigenin (using a gradient of water/phosphoric acid (999:1) and acetonitrile) and both compounds can be quantified as apigenin. According to our results, the hispidulin peak may have been overlap during SDB polyphenol quantification, as it was later detected in the autumn SDB feed. It has been seen that 6,3', 4'-trimethyl ether (eupatilin) could be a derivative of luteolin and a variety of 6-hydroxylated apigenin, although it is not one of the most common (Lu and Fo, 2002), possibly its appearance derives from the degradation of luteolin during the pelletisation process. The anthocyanin such as salvianin are particularly abundant in the red or purple flowers of salvia (Kondo *et al.*, 1989), so its content may vary depending on the quality of the SDB, hence the differences between SDB feed.

Moreover, during pelletisation, active compounds present in AMP may be degraded. Jordán *et al.* (2014), analysed the effect of processing on the diterpene content on lamb feed made with two different rosemary extracts ratios (1:1 and 2:1 carnosic acid-carnosol). They reported degradation of around 21 and 30%, for the 1:1 and 2:1 respectively, showing

carnosic acid a more significant degradation than carnosol. These findings suggested a stabilization effect of carnosol during the pelletizing process. Factors such as t harvesting time, environmental factors, post-harvesting treatments, the method of extraction, storage conditions as well as the genetic outfits can affect the polyphenol compositions (Ben Farhat *et al.*, 2014). Moñino (2010) studied the inclusion of similar distilled by-products of rosemary and thymus in the feed of Segureña sheep to analyse the transfer of active antioxidant components to lamb meat. In their study, the inclusion of 10 and 20% of distilled rosemary leaves increased the proportion of hesperidin, rosmarinic acid, apigenin, genkwanin, carnosic acid and carnosol in ewe feed. One the other hand, the inclusion of 10 and 20% of distilled thyme increased the level of ferulic, coumaric, carnosic and rosmarinic acids on lamb feed. In their study, rosemary distilled leaves shower a higher proportion of total polyphenols (2062 mg/kg for 10% and 3374 mg/kg for 20%) than thymus distilled leaves (538.72 mg/kg for 10% and 796.45 mg/kg for 20%). Compared with our results, SDB has a similar proportion of total polyphenols (746 mg/kg for spring and 1219 mg/kg for autumn SDB feeds) than thymus-distilled leaves, probably because of their similar chemical compositions. However, it should be noted that the control diet contained a greater proportion of polyphenols than ours, because of the incorporation of Lucerne in feed formulation. Genistein and daidzein glucosides (genistin and daidzin) and their derivate are the primary forms of isoflavones in soya beans and come from the ingredients used in feed formulation. These compounds are phytoestrogens, specifically no steroidal isoflavones that have manifested many health benefits (Klejdus *et al.*, 2004; Farmakalidis and Murphy, 1984). Genistein was only found in the autumn feed (control and SDB). Both seasonal feeds practically contained the same quantity of soya flour, however, thus differences pointed to that employed soya flour came from different varieties or suppliers to that these storage conditions were not the same.

The differences between spring and autumn control feed could be also explained by the harvesting time of grains. To make the autumn control feed, fresh grain was used, since this is usually collected in late summer-autumn. However, to make the spring control feed, an older grain would be

used (because the feed would be made in late winter), so it could be possible that polyphenols in spring were less than in autumn. Besides, pelletisation, storage conditions of grain pre and post pelletisation might contribute to the seasonal differences. In our study, the differences in the polyphenolic amount among feeds (control and SDB) were noticeable and can not only be explained by agronomical factors. As with the SDB, the SDB feed used in spring was more deteriorated than that used in autumn as shown in the total polyphenol content (higher in the autumn lambs). Therefore, it is expected that the autumn SDB feed will be more efficient than the spring SDB feed to improve the oxidative stability of lamb meat.

Table 19.

Total polyphenols content (mg/kg DM) of lamb feed (spring and autumn).

Polyphenols (mg/kg)	Spring feed		Autumn feed	
	Control	SDB	Control	SDB
Salvianic acid	n.d.	30	n.d.	100
Diazdin	90	70	200	200
Genistin	130	100	200	200
Eriodictiol	n.d.	3	n.d.	100
Genistein	n.d.	n.d.	10	10
Caffeic acid	n.d.	7	n.d.	13
Rosmarinic acid	n.d.	40	n.d.	103
Luteolin	n.d.	10	n.d.	100
Apigenin	n.d.	n.d.	n.d.	10
Hispidulin	n.d.	n.d.	n.d.	10
Diosmentin	n.d.	5	n.d.	40
Cirsimarinin	n.d.	400	n.d.	100
Eupatilin	n.d.	20	n.d.	30
Genkwanin	n.d.	1	n.d.	103
Salvienin	n.d.	60	n.d.	100
Overall	220	746	450	1219

Data provided by the Department of Natural Resources and Rural Development, Institute of Agricultural and Food Research and Development, Murcia, Spain. n.d.: No detected. Polyphenol quantification limit: 0.001 mg/kg feed.

3. FATTY ACID CONTENT OF SALVIA DISTILLED BY-PRODUCT (SDB)

The average contents of the total lipids and fatty acids (FA) of the SDB used in spring and autumn feeds are shown in **table 20**. The total fat content (g/100g) was 11.25 and 9,14 % for spring and autumn. The SDB contains more fat than is required for fattening lambs (4 %). During the manufacture of SDB feed, a portion of concentrate is replaced by 100 g SDB/kg feed, so it is expected that the incorporation of SDB increases the total of fat in the SDB feed. There are no available data regarding the total content of lipids in similar sage distillation by-products, although there is some information regarding other products. Pereira, Barros, and Ferreira, (2017) reported very lower values of total lipids (3.26%) in *S. officinalis* than those obtained for SDB in our study. These differences are maybe due to the part of the plant used for the analysis, since these authors did not specify which plant part was studied. Regardless of the plant part, the lipid composition may also be subjected to genetic particularities. The lipid content and composition also seem to be dependent on the intraspecific genetic variations on the Salvia subspecies. For instance, the FA profiles of *S. virgata* shower a higher content of α-linolenic (C18:3α n-3), stearic acid (C18:0), oleic acid (C18:1) and palmitoleic acid (C16:1) than *S. brachyantha* had a high proportion of C18:1 and arachidonic acid (C20:4) (Bakoglu *et al.*, 2016).

Eight FA were quantified (limit quantification: <0.01 g/100g) in the SDB used to elaborate lambs feeds, the most abundant (higher than 10 g /100g) being (C18:3 n-3), eicosadienoic (C20:2) and linoleic (C18:2 n-6) acids; and the content of the main fatty acids were similar in both seasons. These results are coherent with those FA profiles reported in other publications for salvia products, with some exceptions. Ben Taarit *et al.* (2010) also identified the C18:3 an-3 (45,8%) and C18:2 n-6 (14,0%) as the most abundant FA present in the *Salvia officinalis* leaves, together with the gadoleic acid (C20:1 n-9) (10.9%). In another study, Bettaieb *et al.* (2009)

found that the fresh aerial parts of *Salvia officinalis* used to made essential oil was rich in C18:3 αn-3 (36.09%), palmitic acid (C16:0, 20.27%), oleic acid (c18:1; 15.42%), C20:1 (14.72%) and C18:2 n-6 (11.28%) acids. In contrast, Kilic *et al.* (2005) found that the seed extracts from *S. bracteata*, *S. aethiopis* and *S. candidissima* ssp. *Candidissima* were particularly rich in C18:2 n-6 (64,3 %), C16:0 (8.2%), C18:3 αn-3 (3.8%) and C18:1 (15.4%). Concerning the FA groups, the n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) were more abundant than the PUFA n-6 in both spring (40.09% vs. 34.14%) and autumn (39.16% vs. 28.96%) SDB lipids. Consequently, both seasonal SDB had n-6/n-3 ratios bellow 1. Other studies have also seen that salvia lipids are abundant in PUFA n-3, particularly C18:3 α n-3 (Pereira *et al.* 2017; Bakoglu *et al.*, 2016). On the other hand, the level of saturated fatty acids (SFA) in the SDB lipids only supposed the 8.27% (spring) and the 10.45% (autumn), while their proportions of monounsaturated fatty acids (MUFA) were 17.19% (spring) and 21.44% (autumn). These findings partially agree with Ben Taarit *et al.* (2010), who reported percentages of 19,7 % SFA, 20,6 % MUFA and, 59,8% PUFA in essential oil from *S. officinalis* leaves. The season is another factor that may change the FA profile of plant material. There were small variations in the FA compositions between the spring and autumn SDB, which might be due to differences in the sage harvesting time. Tulucku *et al.* (2012) analysed FA composition in sage (*Salvia sclarea L.*) seeds in five consecutive years (from 2006 to 2010). These authors reported significant effects of the harvesting year on the level of different FA, including C16:0, C18:2 n-6 and C18:3 n-3. Similarly, it was seen that the FA profile of olive oil might vary depending on the harvesting time (Alowaiesh, Singh, Fang and Kailis, 2018). In this study, these authors reported higher levels of C16:0, C18:0, C18:2 n-6, and total PUFA and lower levels of C18:1 and total MUFA as harvesting time is delayed (April vs. June). These authors concluded that FA concentration might differ due to the effect of some environmental factors acting in the harvesting year, such as the olive growing stage or its maturation degree.

Table 20.

Lipid total content and fatty acid profile of the salvia distilled by-products (SDB) used for lamb feeds.

	Spring SDB	Autumn SDB
Total fat (g/100g)	11.25	9.14
Fatty Acids (g/100 g FA)		
C16:0	6.36	8.47
C16:1	1.61	4.84
C18:0	1.91	1.98
C18:1	9.68	9.15
C18:2 n-6	15.14	12.94
C18:3 α n-3	40.09	39.16
C20:1	6.20	7.45
C20:2	19.00	16.02
ΣSFA	8.27	10.45
ΣMUFA	17.19	21.44
ΣPUFA	74.23	68.12
N-3	40.09	39.16
N-6	34.14	28.96
N-6/N-3	0.85	0.74

SDB: distillation sage By-products; SFA: saturated fatty acids; MUFA: monounsaturated fatty acids; PUFA: polyunsaturated fatty acids. Fatty acid methyl ester (FAME). Quantification limit for FAME: 0.01 g/ 100 g FAME.

Other factors such as rainfall, water availability, differences in cultivation area, vegetation phase, countries, geographical zones and soil salinity level may also affect plant production and its FA composition. Bettaieb *et al.* (2009) reported that the FA composition of *Salvia officinalis* plant is affected by drought, increasing the proportion of C₂₀:1 acid and decreasing the percentage of C₁₆:0, C₁₈:1 and C₁₈:3 α n-3 acids. Furthermore, the FA content of *S. officinalis* leaf decreased in moderate and severely stressed plants. In another study, Aguirrezábal, Martre, Pereira-Irujo, Izquierdo and Allard (2009) found that factors, such as solar radiation per plant, temperature, foliar diseases, sowing date and sowing density, have direct effects on seed oil concentration. Soil salinity can affect the composition of sage fatty acids. It has been seen that under stress saline conditions, the content of PUFA in sage leaves (*S. officinalis L.*) decreases while monounsaturated fatty acids (MUFA) increase concerning increasing salinity. Possibly the modification of the lipid profile is due to the reduction in desaturase activity, which appeared as an adaptive feature to salinity (Ben Taarit *et al.*, 2010). Given the above studies, it may be concluded that the remaining quantity of the FA present in the SDB from the distillation industry may vary depending on the raw material and the distillation process used, being necessary to check it. Our results corroborated that SDB contains around 10% of total lipids that cannot be extracted by water stream during the essential oil distillation, including a considerable amount of PUFA n-3. So, it can be expected that the incorporation of 100 g SDB per kg lamb feed will increase its total content of fat and, in particular, of PUFA. Therefore, it may be expected that an SDB-enriched feed would increase the n-3-PUFA content in the lamb meat fat, thus improving its nutritional quality.

4. FATTY ACIDS OF LAMB FEED

The average contents of total fat and FA content of the spring and autumn lamb feeds are shown in **table 21**. As expected, the incorporation of SDB increased lipid content in both the autumn (from 4.45 to 5.13 g/100g) and spring (from 4.44 to 5.36 g/100g) lamb feeds. However, despite the differences between seasonal SDB, the total fat content was similar for spring and autumn SDB feeds and does not exceed the recommendations for dietary fattening lambs (5%) (Ferret, Calsamiglia, Bach, Devant, Fernández, and García-Rebolla, 2008). Five major FA were quantified (limit of quantification <0.01 g/100g) in both spring and autumn feed: C16:0, C18:0, C18:1, C18:2 n-6, and C18:3 an-3 and the most abundant FA were C18:2 n-6 and C18:1 (Jenks, 1994). There were some seasonal variations in the FA profile of lamb feed: the spring SDB feed had percentages of 12.78% C18:3 an-3 and 48.01% C18:2 n-6, while the autumn SDB feed had percentages of 7.76% C18:3 an-3 and 52.41% C18:2 n-6. This suggests that the raw materials used for manufacturing both feeds presented some differences in their lipid content. Besides, the C20:2 acid did not appear (<0.01%) in the feeds enriched with SDB, despite this salvia by-product contained a high proportion of this FA. Regarding the FA groups, the PUFA was the primary group (around 60%) in the feed lipids followed by the MUFA (around 25%) and the SFA (around 15%). Unlike SDB, the PUFA n-6 were more abundant than the PUFA n-3 in both autumn and spring feed lipids. As expected, the incorporation of SDB decreased the ratio n-6/n-3 in feed, both in spring (from 14.91 to 3.83) and autumn (from 18.67 to 6.75), which implies a nutritional improvement of the lamb diet. Regardless of the possible seasonal differences seen in the feed ingredients used, our results corroborated that the inclusion of 10% of SDB in lamb feed increased the PUFA n-3 and total PUFA, especially in the SDB autumn feed. Other authors have also seen this fact, such as Urrutia *et al.* (2015), who analysed the effect of the inclusion of linseed and marine algae in the lamb diet. They reported that the addition of 10% linseed increased the C18:3 n-3 in lamb feed (33.5% linseed feed *vs.* 4.43 % control feed), which also increased the total content of C18:3 n-3 in lamb feed (4, 43 % control *vs.* 18.96% linseed). Yagoubi *et al.*

(2018) analysed the effect of the inclusion of rosemary distillation residues in lamb feed. Compared with the control diet, rosemary distillation residues increased the proportion of C18:3 n-3, C18:2 n-6, total PUFA, total unsaturated fatty acids (UFA) and total PUFA n-3 and n-6; whereas decreased the levels of C16:0, C18:0, C18:1, SFA, and ratio n-6/n-3

Variations in the FA profile of the animal feeds are frequent because of the disparity of the raw material used to manufacture them. In the present study, different commercial feeds for lambs were used to establish the basal diets in each season. Concentrate formulations for fattening lambs are usually based on the total fat required by the animals and the use of different cereals or ingredients may lead to changes in the lipid unsaturation rate. The selection of the feed ingredients strongly depends on the cereal prices at each moment. Although SDB provided a certain quantity of FA to the feed, the vast majority of the FA present came from the cereal grain. Cereal grains contain abundant triacylglycerol with high levels of C18:1 and C18:2 n-6, although their proportion may vary depending on the grain type (Enser, Hallet, Hewitt, Fursey and Wood, 1996). Thus, the seasonal differences observed in the levels of some FA, such as C18:2 n-6 and C18:1, seems to correspond to the different cereals used to make the feeds because autumn lamb feeds were mainly made with corn and barley, while spring lamb feeds were made with corn, wheat, and barley. Because of the FA profiles, it can be expected that supplementing the lamb diet with SDB may improve the total PUFA and n-6/n-3 ratio in lamb meat. Furthermore, SDB may also provide polyphenolic antioxidants, not extracted during the distillation process which could stabilize the FA present in feed or be assimilated by the animals.

Table 21.

Lipid total content and main fatty acid composition of the spring and autumn lamb feed.

g/100 g FA	Spring feed		Autumn feed	
	Control	SDB	Control	SDB
Total fat (g/100g feed)	4.45	5.13	4.44	5.36
C16:0	10.84	9.96	13.81	10.56
C18:0	2.74	4.10	7.76	4.39
C18:1	25.0	24.16	27.16	24.88
C18:2	57.54	48.01	51.52	52.41
C18:3	3.86	12.78	2.76	7.76
Σ SFA	13.58	14.06	18.57	14.95
Σ MUFA	25.01	24.16	27.16	24.88
Σ PUFA	61.40	61.79	54.28	60.17
N-3	3.86	12.78	2.76	7.76
N-6	57.54	49.01	51.52	52.41
N-6/N-3	14.91	3.83	18.67	6.75

SDB: distillation sag by-products; SFA: saturated fatty acids; UFA: unsaturated fatty acids; PUFA: polyunsaturated fatty acids. Fatty acid methyl ester (FAME) quantification limit: 0.5 g/100 g FAME.

5. DIETARY EFFECTS ON LAMB MEAT QUALITY AND STABILITY

5.1. FRESH LAMB LOIN KEPT AT DISPLAY RETAIL CONDITIONS

1. Moisture and intramuscular fat content

Intramuscular fat and moisture contents are basic quality parameters of the lamb meat. The average percentages of intramuscular loin fat and total moisture for spring and autumn lambs (SL and AL) were 3.14 % and 75.8 %, and $2.8 \pm 0.5\%$ and $75.6 \pm 1\%$ respectively (**Table 22**). There were no dietary effects of SDB ($P > 0.05$) on any parameters in the loin samples from SL and AL, so they were discarded as a possible factor that influencing meat stability or quality. *Segureño* light lamb meat is being associated with a moderate-fat infiltration. Similar percentages were reported in packed lamb loin cuts by Nieto (2009) (75.5% moisture and 2.5-3 % total fat), Serrano (2014) (73% moisture and 2.1% total fat) and Ortuño *et al.* (2015^a) (75.6% moisture and 2.1% total fat). Our results also agree with other authors that have not reported any dietary effect on loin moisture and total fat content. For example, supplemented lamb diet with some ingredients, such as faba bean, sweet lupin seeds, or rosemary diterpenes neither modified the total moisture and total fat of lamb meat (Lestangi *et al.*, 2015 and Ortuño *et al.*, 2015^a).

Table 22.

Effects maternal rearing and lamb diet (basal diet *vs.* SDB) of the intramuscular fat and moisture content of lamb loin (spring and autumn).

Diet	Indoors		Grazing		Diet effects		
	Basal	SDB	Basal	SDB	M	SEM	P-value
	M	M	M	M			
Spring lamb							
Moisture (%)	75.96	76.76	75.85	74.50	1.70		
Intramuscular fat (%)	2.92	3.05	3.40	3.19	0.34		
Autumn lamb							
Moisture (%)	74.74	76.45	75.70	75.49	0.56		
Intramuscular fat (%)	2.75	2.85	2.69	2.91	0.24		

*Lamb loin packed in MAP and stored at 4 °C/ 800 lx for up to 12 days. Abbreviations: SDB: sage distillation by-product; M: mean; SEM: standard error of the mean; L: lamb; E: ewe; P: probability. ^{a, b, c} Dietary effects at the same storage time. Storage time effects: ⁽¹⁾ O>6=12; ⁽²⁾ O>6>12; ⁽³⁾ O=6>12; ⁽⁴⁾ 12=O>6; ⁽⁵⁾ 12>6>O; ⁽⁶⁾ others. Levels of significance: *** (P < 0.001); ** (P < 0.01); * (P < 0.05).*

2. pH

The values of pH are shown in **table 23**. The final pH in SL varied from 5.62 to 5.73 values and from 5.57 to 5.75 in AL. No differences ($P > 0.05$) were found in pH values at any day of storage (0, 6 and 12). Our results fit within the usual range for lamb meat (5.5-5.8) (Cañeque and Sañudo, 2000) either for Segureño (Nieto *et al.*, 2010; Serrano, 2014; Ortúñoz *et al.*, 2015^a) or other breeds (Teixeria *et al.*, 2005; Guerreiro *et al.*, 2019). The lack of effect of the diet on pH agrees with previous studies on lamb loin (Hajji *et al.*, 2016; Yagoubi *et al.* 2018). The pH is a very important parameter for meat quality, since its variation after sacrifice can affect liquid retention, colour, and texture. Our values rule out any possible problems, such as pre-sacrifice stress, as Carrasco, Panea, Ripoll, Sanz and Joy (2009) reported. It

has been seen that the lamb meat stored in high O₂/CO₂ atmosphere and stored at 4 °C for up to 21 days or frozen for 12 months, presents a stable pH value as occurs in our study (Serrano, 2014; Nieto *et al.*, 2010; Pinheiro, Francisco, Lino and Borba, 2019).

Table 23.

Effects of maternal rearing and lamb diet (basal diet *vs.* SDB) on the pH value of lamb loin (spring and autumn).

Diet	Indoors		Grazing		Diet effects		
	Basal	SDB	Basal	SDB	Lamb	Ewe	L*E
	M	M	M	M	SEM	P-values	
Spring lamb							
pH	0	5.73	5.67	5.67	5.64	0.02	
	6	5.70	5.70	5.64	5.62	0.03	
	12	5.73	5.71	5.63	5.62	0.03	
Time effects							
Autumn lamb							
pH	0	5.59	5.57	5.57	5.59	0.03	
	6	5.73	5.68	5.68	5.68	0.03	
	12	5.75	5.70	5.69	5.70	0.05	
Time effects							

*Lamb loin packed in MAP and stored at 4 °C/ 800 lx for up to 12 days. Abbreviations: SDB: sage distillation by-product; M: mean; SEM: standard error of the mean; L: lamb; E: ewe; P: probability. ^{a, b, c} Dietary effects at the same storage time. Storage time effects: ⁽¹⁾ 0>6=12; ⁽²⁾ 0>6>12; ⁽³⁾ 0=6>12; ⁽⁴⁾ 12=0>6; ⁽⁵⁾ 12>6>0; ⁽⁶⁾ others. Levels of significance: *** (P < 0.001); ** (P < 0.01); * (P < 0.05).*

3. Microbial stability

The total viable bacteria counted (TVC) in lamb meat are shown in **tables 24 and 25**. *Salmonella spp.* and *E. coli* counts were absent. The maximum counts reached at day 12 for total viable counts, lactic acid bacteria (LAB) and *B. thermosphacta* were 5.45, 3.53 and 4.88 log CFU g⁻¹ for SL, and 4.77, 3.54 and 4.19 log CFU g⁻¹ for AL. The maximum total coliforms counts were 1.13-log CFU g⁻¹ in SL and 1.83 log CFU g⁻¹ in AL. *Enterobacteriaceae*, the microbial family used as hygiene indicator, showed limited growth, whereas TVC did not reach 7 log CFU g⁻¹, the widely accepted limiting value (Buys, Krüger and Nortjé, 1994).

Lamb meat is a relatively perishable product with an estimated shelf-life of 7–10 days (Campo, Beltran and Roncalés, 2008; Karabagias, Badeke and Kontominas, 2011). The high moisture, water activity and pH values of meat create suitable conditions for microbiological spoilage (Osés *et al.*, 2013). However, the combination of a CO₂ enriched MAP and chill-storage seemed to control the microbial quality of lamb meat. Among the different spoiling bacteria, LAB was predominant over aerobic putrefactive bacteria under high O₂/CO₂ MAP, commonly, associated with sour and acid aromas, derived from the production of lactic and acetic acid (Dainty and Mackey, 1992). LAB counts increased from 1.5 and 2 log CFU g⁻¹ on SL and AL, respectively, at day 0, to 3 log CFU g⁻¹ on both seasons, thus maternal grazing did not decrease LAB counts. TVC were consistent with those observed in other studies in MAP stored lamb meat (Ortuño *et al.*, 2015^a; Nieto *et al.*, 2010). SL from maternal grazing and SDB (PS) showed high counts in TVC and LAB, at day 6 compared with the rest of the diets. For *B. thermosphacta*, all counts were similar between all diets at day 0 and 6; however, at day 12, PS showed the highest counts. *Enterobacteriaceae* were not affected by time. In AL, only LAB was affected by the time in all samples. It is not possible to explain why the TVC dropped by approximately 1 log CFU g⁻¹ after 6 days of storage concerning freshly packed meat and then back up. These types of situations are often associated with variations in the chilling or analysis conditions. In any case, it was an isolated event, and no

dietary effect on the growth of altering bacteria could be attributed, except that the autumn SDB feed contained a higher content of total polyphenols than the spring SDB feed. TVC increased with storage time being higher in lambs after 12 days of storage. Our results agree with those of Berruga, Vergara and Gallego (2005), who reported TVC values above $7 \log \text{CFU g}^{-1}$ in lamb meat after 3 weeks of storage under various MA atmospheres. Soldatou, Nerantzaki, Kontominas, and Savvaidis (2009) also reported levels of $7.2 \log \text{CFU g}^{-1}$ held for chunks of lamb meat under MAP (70 % CO₂ and 30% N₂) after 13 days of storage at 4 °C.

These antibacterial effects of AMP derivate used as feed ingredients for lambs have been tested by different authors. For example, the inclusion of a dietary rosemary extract composed of carnosic acid and carnosol at 2:1 contributed to extend the shelf life of packed raw lamb meat (Serrano *et al.*, 2014). Even, occasionally, dietary supplementation with AMP may be more efficient by reducing the microbial load than other feed supplements or ingredients. Ortuño *et al.* (2017) showed that dietary supplementation with rosemary diterpenes was more efficient in reducing the microbiological spoilage than supplementation with vitamin E. Moreover, it has been proved that the inclusion of 10% of distillate rosemary leaf in the diet of pregnant and lactating ewes was sufficient to delay the growth of total aerobic bacteria (Nieto *et al.*, 2010). In contrast, Ranucci *et al.* (2019) informed that supplementation lamb diet with a mix of essential oils (EO) (dill, cinnamon and eucalyptus) decreased microbiological spoilage in raw meat stored during 7 days. Authors speculate that the effect of dietary EO on oxidative stability might not be related to the bioactive molecules content in tissues. In this sense, they suggest that supplementation with EO can affect the expression of genes involved in lamb's stress response in muscle (Ranucci *et al.* (2019).

There are scarce studies assessing the effect of sage inclusion in lamb diet on meat quality. This may be the first study that evaluated on the antimicrobial effect of sage derived products on lamb diet. The studies focused on the antimicrobial effect of sage derived product addiction on meat matrixes have reported contradictory results. For instance, sage

essential oil was effective against *Salmonella* inoculated in minced beef (Hayouni *et al.*, 2008). Karpinska-Tymoszczyk (2007) found that the addition of sage ethanol (0.1%) to turkey meatballs decreased mesophilic bacteria counts by 1 log CFU g⁻¹. In another study, the addition of sage essential oil and sage extract (obtained from herbal dust) also inhibited microbial growth in fresh pork sausages (Sobic *et al.*, 2018). However, the inclusion of sage powder was not effective against Gram-positive *L. monocytogenes* or Gram-negative in beef burgers over prolonged chilled storage (Mizi *et al.*, 2019). The antimicrobial activity of sage may vary depending on agronomical factors (geographic location, seasonality, phenophase), as well as the derived product employed (spice powder, different extract of natural essential oil, etc.). These factors can produce quality and quantitative variations in total phenols that may lead to modifications in its biological activity (Mekinic *et al.*, 2012). For example, essential oil samples from *salvia lavandulifolia vahl* were tested *in vitro* against *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. The essential oil showed antimicrobial activity against *E. coli*, *S. aereus* and *C. albicans*, but not against *P. aeruginosa*, which is a highly resistant Gram-negative bacterium. *S. aureus* and *C. albicans* showed greater susceptibility to the *Salvia Lavandulifolia (Vahl)* essential oils than *E. coli*, probably because some individual components, such as limonene and borneol, are more effective against these two microorganisms (Cutillas, Carrasco, Martinez-Gutierrez, Tomas and Tudela, 2017). Furthermore, it has also studied the antimicrobial activity from other species of sage (*S. officinalis L.*) essential oils against the same bacteria with great results (Cutillas *et al.*, 2017). Despite the good results obtained *in vitro*, our study was performed *in vivo*, using a sage distillation by-product, so the effectiveness of the SDB can be altered by the great variability of living organisms.

The rangelands are dominated by different vegetation species, which usually contain metabolites including alkaloids, glycosides, fatty acids, terpenes, phenols, saponins, tannins and flavonoids (Galina, Osnaya, Cuchillo and Haenlein, 2007). In the Mediterranean, some plant species are used in ruminant feed rich in phenolic compounds and tannins (Burke,

Waghorn, McNabb and Brookes, 2004). Our ewes grazed in Mediterranean shrub land that containing trees and herbs like rosemary, thyme or sage that had polyphenols with antioxidant and antimicrobial properties. Grazing ewes also ingested plants such as *Plantago albicans* or *Avena sativa* rich in polyphenols like vanillin, ferulic acid, coumaric acid or vanillic acid (Fernández-Acosta *et al.*, 2019). Indoor ewes were fed with barley grains, which contained catechin, epicatechin, coumaric acid and caffeic acid, effective against microbial spoilage (Bonoli, Marconi and Caboni, 2004). However, the presence of polyphenols in SDB and pasture did not imply an inhibitory antimicrobial effect on lamb meat. In this sense, the combination of a bacteriostatic atmosphere with the lack of bioavailability of active compounds can explain the lack of antimicrobial effects.

Salvia genus plants represent valuable sources of biologically active compounds. The antimicrobial activity of *Salvia* spp. is well recognized and is attributed to the presence of several active components. In general, phenolic acids are the most effective against spoiling and pathogenic microorganisms (Sharifi-Rad *et al.*, 2018). In our case, the SDB did not show any antimicrobial activity on meat. Three possible causes can be speculated: (i) sage polyphenols intake was insufficient due to excessive degradation in the feed, a low dosage level and/or an insufficient supplementation period; (ii) sage polyphenols and /or their metabolites have no antioxidant or antimicrobial actions on meat; and (iii) the bioavailability of sage polyphenols in muscle is low. The activity of some dietary polyphenols can be affected by its absorption along the gastrointestinal tract and to its deposition in the tissues (Vasta and Luciano, 2011). Furthermore, it can vary greatly in their chemical structure and properties (from simple molecules such as phenolic acids and flavonoids to highly polymerized tannins). So, it seems that their molecular complexity could be the main factor limiting their bioavailability, since it has been seen that simple phenols being easily absorbed than complex polyphenols (Manach, Williamson, Morand, Scalbert and Rémésy, 2005).

The main polyphenols determined in the SDB feed were hydrophilic phenolic acids, such as rosmarinic, type-A salvianic and caffeic acids, and

lipophilic compounds of high molecular weight, such as cirsimarinin and genkwanin. It seems improbable that rosmarinic acid, one of the best-studied polyphenols present in aromatic plants, has no preservative activities on meat, since it acts as a free radical scavenger and alters lipid order in cellular membranes inhibiting bacterial growth (Moreno, Scheyer, Romano, and Vojnov, 2006). However, rosmarinic acid might have a low deposition rate in sheep muscle because of the difficulty involved in crossing phospholipid membranes, hindering its biological activities (Moñino, 2010). This may explain why distilled thyme, a by-product rich in rosmarinic acid, had a lower protective effect on lamb meat than distilled rosemary, by-products are rich in lipophilic diterpenes such as carnosic acid and carnosol, when both were used for feeding sheep (Nieto *et al.*, 2010; 2012). In our study, the SDB diet provided 216 mg polyphenolic acids kg⁻¹ feed but had no preservative effects on meat, while, in other studies, a dietary level of 200 and/or 400 mg rosemary extract protected lamb meat against oxidation (Ortuño *et al.*, 2014). To sum up, as previous discussed, the antimicrobial effects of this type of diet are difficult to appreciate when the meat is packed under bacteriostatic atmospheres, which, independently of the deposition facilities of the polyphenols in muscle, may explain the lack of antimicrobial effects observed in our study.

Table 24.Effects of maternal rearing and lamb diet (basal diet vs. SDB) on the microbial stability of **spring lamb** loin.

	Diet	Indoors		Grazing		Diet effect		
		Basal	SDB	Basal	SDB	Lamb	Ewe	L*E
		M	M	M	M	SEM	P-values	
Total viable counts	0	3.55	3.72	3.75	3.79	0.24	***	
	6	2.52 ^b	2.26 ^b	3.52 ^{ab}	4.84 ^a	0.40		
	12	5.07	4.79	4.66	5.45	0.50		
	Time effects	** (3)	**(6)		**(5)			
	0	1.66	1.50	1.38	1.20	0.35		
	6	2.52	2.14	2.76	3.28	0.54		
Lactic acid bacteria	12	3.18	2.79	2.88	3.53	0.57	**(5)	
	Time effects							
	0	1.70	1.55	1.98	2.02	0.34		
	6	2.65	2.58	3.53	3.44	0.70		
	12	4.43	3.86	3.89	4.88	0.65		
	Time effects	**(3)	*		**(3)			
<i>B. thermosphacta</i>	0	0.66	0.93	0.55	0.99	0.26		
	6	1.18	1.06	1.51	1.54	0.54		
	12	0.87	0.75	1.10	1.13	0.46		
	Time effects							
	0	1.70	1.55	1.98	2.02	0.34		
	6	2.65	2.58	3.53	3.44	0.70		
Total Coliforms	12	4.43	3.86	3.89	4.88	0.65		
	Time effects	**(3)	*	**(3)				
	0	0.66	0.93	0.55	0.99	0.26		
	6	1.18	1.06	1.51	1.54	0.54		
	12	0.87	0.75	1.10	1.13	0.46		
	Time effects							

Lamb loin packed in MAP and stored at 4 °C/ 800 lx for up to 12 days. Abbreviations: SDB: sage distillation by-product; M: mean; SEM: standard error of the mean; L: lamb; E: ewe; P: probability. ^{a, b, c} Dietary effects at the same storage time. Storage time effects: ⁽¹⁾ 0>6=12; ⁽²⁾ 0>6>12; ⁽³⁾ 0=6>12; ⁽⁴⁾ 12=0>6; ⁽⁵⁾ 12>6>0; ⁽⁶⁾ others. Levels of significance: *** (P < 0.001); ** (P < 0.01); * (P < 0.05). All results expressed as log CFU / g.

Table 25.Effects of maternal rearing and lamb diet (basal diet vs. SDB) on the microbial stability of **autumn lamb** loin.

	Diet	Indoors		Grazing		Diet effect		
		Basal	SDB	Basal	SDB	Lamb	Ewe	L*E
		M	M	M	M	SEM	P-value	
Total viable count	0	3.52	3.74	3.67	3.82	0.09		
	6	3.27	3.79	3.72	3.63	0.18		
	12	4.44 *(6)	4.58	4.39	4.77	0.24		
Lactic acid bacteria	0	2.22	1.83	1.63	2.15	0.21		
	6	1.49	2.02	1.75	2.01	0.16		
	12	3.15 *(6)	3.25 *(6)	3.07 *(6)	3.54 *(6)	0.24		
<i>B. thermosphacta</i>	0	1.94	2.37	1.96	2.29	0.21		
	6	2.59	2.84	2.66	2.97	0.25		
	12	3.72 *(5)	4.19	3.59	4.08	0.29		
Total coliforms	0	0.68	1.15	1.48	1.61	0.21		
	6	0.93	1.20	1.10	1.33	0.17		
	12	1.15	1.40	1.29	1.83	0.21		
Time effects								

Lamb loin packed in MAP and stored at 4 °C/ 800 lx for up to 12 days . Abbreviations: SDB: sage distillation by-product; M: mean; SEM: standard error of the mean; L: lamb; E: ewe; P: probability. ^{a, b, c} Dietary effects at the same storage time. Storage time effects: ⁽¹⁾ 0>6=12; ⁽²⁾ 0>6>12; ⁽³⁾ 0=6>12; ⁽⁴⁾ 12=0>6; ⁽⁵⁾ 12>6>0; ⁽⁶⁾ others. Levels of significance: *** (P < 0.001); ** (P < 0.01); * (P < 0.05). All results expressed as log CFU / g.

4. Fatty acid profile

The effects of dietary treatments on the FA content of intramuscular loin lamb fat are shown in **table 26**, **table 27** and **table 28**. A total of twenty-six and twenty-five FA were detected in the meat from SL and AL, respectively, being the C18:1 n-9, C16:0, C18:2 n-6 and C18:0 the most abundant FA. The predominance of these FA was coherent with the typical FA profiles reported for lamb meat (Popova *et al.*, 2015). In both seasons, the proportion of C18:3 α n-3 and conjugated linoleic acid (CLA) was less than 6% in all dietary groups, while the percentages of total PUFA was also similar in both seasons and agree with the results obtained by Nieto (2013) (15±1%). Talking to account the information available in some studies, our data were also expressed as relative abundance of identified FA were discussed (g/100g FA) will be used. As seen in **table 29**, fresh lamb patties from both seasons (SL and AL) show high percentage of SFA (from 40,7 % to 47.49 %), and low percentage of MUFA (from 37.49 % to 41.05%) and PUFA (from 13.74% to 18.19%). Our results partially agree than those reported for light loin lamb in the studies performed by Nieto (2013) (43%) or Sañudo *et al.* (2000) (49%). These results suggest that indoor ewe diet, rich in Lucerne pellets, might have contained a low level of cereal grains compared with other basal diets used in Segureña ewes (Nieto, 2013 and Ortuño *et al.*, 2015^a). Both, Lucerne and barley has low proportion of total fat (around 1,7 and 2,3 %) and, in its composition, the percentage of total SFA is lower than PUFA. Barley is rich in C16:0, whereas Lucerne has myristic acid (C14:0), C16:0, and C18:0) (Ferret *et al.*, 2020).

In **SL**, no differences were found for total SFA, MUFA and PUFA. Ewe grazing modified the proportion of several SFA (C12:0 lauric acid; C14:0), MUFA (C14:1 myristoleic acid), PUFA (C18:3αn-3; C20:5n-3 eicosapentanoic acid EPA; C22:4 n-6 docosatetraenoic acid; C22:5 n-3 docosapentaenoic acid (DPA) and C22:6 n-3 docosahexaenoic acid DHA) and total CLA (c9t11 + c11t9+t10c12). Moreover, increased the proportion of n-3 and improve the n-6/n-3 ratio, regardless SDB diet. The inclusion of SDB also modified the proportion of a large number of SFA (capric acid

(C12:0); lauric acid (C12:0), C14:0, C17:0 (heptadecanoic acid), MUFA (myristoleic acid (C14:1) and C17:1) and total CLA. No interactions were found between the effects of the lamb and ewe diets. Regarding nutritional indexes, there were no differences among diets ($P>0.05$) for S/P, PUFA/SFA, atherogenic index (AI) and trombogenic index (TI). The PUFA/SFA ratio was close to the range (0.4–0.5) (McAfee *et al.*, 2010) recommended for preventing an excess consumption of dietary SFA with a possible negative effect on the LDL cholesterol plasmatic level (Stajic, *et al.*, 2011). TI was a bit lower than those reported in others studies (from 0.66 to 0.78), for example, Nieto (2013) found TI values from 1.3 to 1.06, while Lestingi *et al.* (2015) found TI values from 1.51 to 1.88 in the meat from lamb fed pea and lupin seeds. Our AI values were lower (to 0.59 to 0.78) than those reported by Nieto (2013), who reported AI values from 1.4 to 1.1 in lamb meat from ewes supplemented with rosemary by-product, but are similar to other AI reported for beef meat (0.72) (Stajic *et al.*, 2011).

In AL, no differences were found for total SFA, MUFA and PUFA. Ewe diet modified the proportion of SFA (C12:0, C14:0 and pentadecanoic acid C15:0), MUFA (C14:1, C15:1, C16:1) and PUFA (C18:3 α n-3, C20:2 n-6, C20:4 n-6 and C20:5 n-3). As in SL, in AL, ewe diet increased the proportion of n-3 and improves the n-6/n-3 ratio, (6.46 and 7.58). Furthermore, ewe diet decreased the level of AI and TI, regardless of whether lambs given SDB or not (0.72 and 0.87; 0.85 and 0.94) in both SL and AL. SDB diet did modify only the proportion of C18:2 n-6 PUFA and total CLA. Interactions were found in the effects of both dietary treatments for some SFA (capric acid C10:0 and C16:0) and some MUFA (C14:1 and C16:1). Regarding to nutritional index, no differences were found for S/P, PUFA/SFA.

Maternal grazing during pregnancy and lactation increased the levels of total n-3 and improved the n-6/n-3 ratio. Noticeable reductions in the n-6/n-3 ratio have also been achieved in light lamb meat using other dietary strategies, including grazing (Santé-Lhoutellier *et al.*, 2008; Joy *et al.*, 2008; Santos-Silva, Mendes and Bessa, 2002; Díaz *et al.*, 2011; Luciano *et al.*, 2013; Hajji *et al.*, 2016) and PUFA-rich feeds. For example, feeding light

lambs linseed (5-20%) (Berthelot *et al.*, 2012; Luciano *et al.*, 2013; Urrutia *et al.*, 2015) and carob pulp (24 or 35%) (Gravador, Luciano *et al.*, 2015^b) reduced the meat n-6/n-3, but feeding with sunflower soap stocks (6%) did not produce any change (Blanco *et al.*, 2015). The reduction of meat n-6/n-3 reported for PUFA-promoting diets varied from 13.5 to 5.4 (Urrutia *et al.*, 2015), 4.4 to 3.3 (Gravador *et al.*, 2015^a), 6.5 to 1.8 (Berthelot *et al.*, 2012), 5.1 to 4.2 (Lestangi, Facciolongo, Caputi Jambrenghic, Ragnic and Toteda, 2016), 3.1 to 4.2 (Facciolongo *et al.*, 2018). Our results confirmed that ewe diet modulated the fat composition of the intramuscular meat in *Segureño* light lambs. Grazing by ewes is often associated with an improved lipid profile in lamb meat (Popova *et al.*, 2015) because pasture plants are rich in C18:3 n-3 (precursor of the n-3 series), which can be deposited in the muscle, increasing the content of AGP n-3 in meat (Ponnampalam *et al.*, 2016). Grazing increase the percentage of CLA, C18:3 α n-3, C20:5 n-3 and C22:6 n-3, and reduced n-6/n-3 ratio, some SFA (C12:0, C14:0, C16:0) and PUFA n-6 that are not biohydrogenated in rumen (Scerra *et al.*, 2011 and Popova *et al.*, 2015). Similar results were showed by Boughalmi and Araba, (2016) for Timahdite lambs. They analysed the effect of 3 types of feeding: only pasture, mixed (pasture and concentrate) and only concentrate, and reported that the mixed feed presented a lower content of PUFA compared to pasture-feed. Moreover, it has also been seen that maternal grazing can improve the lipid profile of lactating lamb meat. Grazed-fed ewes produce milk with a high concentration of C18:3 α n-3, which may increase the proportion of PUFA n-3, C18:1 11t and CLA in suckling lamb meat (Manso *et al.*, 2011; Mel'uchova *et al.*, 2008). For instance, Scerra *et al.* (2007) reported that maternal grazing improves the levels of C18:3 α n-3, C20:5 n-3 and C22:5 n-3 fatty acids in suckling lamb meat, because milk showed a significant concentration of C18:3 α n-3. Consequently, the higher intake of C18:3 α n-3, might have increased the content of C20:5 n-3 and C22:5 n-3 which are derived from linolenic acid via.

Sometimes, lambs are fed with shrub to improve fatty acid profile. For example, the inclusion of *C. ladanifer* led to increased C18:1 t11 on light lamb meats (Guerreiro *et al.*, 2019). In heavy lambs, Sañudo *et al.* (2000) reported that lambs raised in an extensive or intensive system and Velasco,

Cañequera, Lauzurica, Pérez and Huidobro (2004) showed that in lambs fed with completely supplemented barley. Similar results were reported by Santé-Lhoutellier *et al.* (2008), Scerra *et al.* (2011) or Boughalmi and Araba (2016). In bulls, pasture feeding increased the total n-3 fatty acids and C18:3 α n-3, C20:5 n-3 and C22:5 n-3 on meat compared with concentrate fed animals (Lorenz *et al.*, 2002). An overall view of the results obtained with ewes and light lambs fed different diets reveals both the importance of fat deposition in the suckling lamb muscle, as well as the difficulty of modifying the lipid profile in young lambs. The dietary supplementation with ingredients rich in PUFA can also change the lipid profile because diets rich in C18:3 α n-3 result in an increased level of C18:3 α n-3, C20:5 n-3 and C22:6 n-3.

For example, fed lambs with a fish meal (168 g DM/day) or barley+ fish meal (179 g barley/day+ 84 g fish meal/day) (Ponnampalam, Sinclair, Hosking, and Egan, 2002) or with fish oil and fish oil/sunflower (Ponnampalam, Sinclair, Egan, Blakeley and Leury, 2001) increased the depositions of C20:5 n-3 and C22:6 n-3 in lamb meat. Similar results were informed by Kitessa *et al.* (2010) in lambs fed with protected tuna oil. Some authors have also tested the inclusion with vegetable oils in lambs feed with good results: Jeronimo, Alves, Prates, Santos-Silva, and Bessa (2009) informed that the inclusion of dietary sunflower oil with linseed oil increased the content of C18:3 α n-3 and total n-3 long-chain PUFA and decreased the C18:2 n-6, n-6 long-chain PUFA in lamb meat. Although some vegetables have a substantial proportion of C18:3 α n-3, the amount of n-3 fatty acids in these plants is usually minimal (Raes, De Smet, and Demeyer, 2004). For example, the inclusion of legume seed (*Vicia faba* var. *minor* or *Pisum sativum*) increased the total PUFA n-3 and decreased the n-6/n-3 ratio in lamb meat (Lanza *et al.*, 2011). Meanwhile, the inclusion of peas and sweet lupin seeds also decrease the n-6/n-3 ratio and total SFA (Lestangi, Facciolongo, Caputi Jambrenghi, Ragni and Toteda, 2016). C18-PUFA triacylglycerols, the most abundant lipids present in the typical diets given to sheep, are widely hydrogenated by rumen bacteria. Only about 10% of dietary FA reaches the small intestine, avoiding the biohydrogenation process (Raes *et al.*, 2004). Therefore, despite C18:3 α n-3 is the most

abundant PUFA in sheep diets, the deposition rate in muscle is low. The nutritional implications for humans of an excessive intake of saturated fats have been widely studied. According to WHO recommendations there is convincing evidence that replacing SFA with PUFA in the human diet decreases the risk of cardiovascular diseases, while replacing SFA (C12:0-C16:0) with MUFA reduces LDL cholesterol concentration and the total/HDL cholesterol ratio. Our results confirmed that *Segureño* lamb meat, which contains about 40% SFA, is a dietary source of saturated lipids, even though lamb loin was seen to have a low intramuscular fat content. Lamb meat provided dietary C18:1, C16:0, C18:2 and C20:4 FA, while the proportion of highly unsaturated C18-C25 FA was less.

Furthermore, the differences seen in the FA content might also be related to other factors such as changes in the ruminal environment or enzyme activities (Boughalmi and Araba, 2016). Indeed, it has been demonstrated that differences in stearoyl-CoA desaturase activity among corn-fed and pasture-fed steers led to differences in beef FA composition (Smith *et al.*, 2009). The increased content of C16:0 in lambs feed with concentrate may be explained by its synthesis at some stage in the conversion of acetyl-CoA to malonyl-CoA during the synthesis of fatty acids. The increase of PUFA n-3 in meat are related in the way that feed is processed in the rumen. Fresh grass contains 1 to 3% of fat in which 55 to 65% is C18:3 αn-3 fatty acids (Chilliard *et al.*, 2001). In agree with that, Boughalmi and Araba (2016) reported that pasture lambs had a better percentage of PUFA n-3 than control and pasture-concentrate (0.96%, 0.51 % and 0.81% respectively). Moreover, graze-fed ewes can also improve the lipid profile of suckling lamb, since maternal grazing produce milk with a high concentration of C18:3 n-3 which may increase the proportion of PUFA n-3, C18:1 11t and CLA (Scerra *et al.*, 2007; Mel' uchova *et al.*, 2008).

SDB-diet had no apparent effects on the intramuscular fat profile, including the n-6/n-3 ratio. The increase in the intake of C18:3 α n-3 of 12.78% (SL) or 7.76% (AL) to with SDB was insufficient to produce any relevant change in lamb fat unsaturation, except when the lambs were given an extra supply of PUFA n-3 as a result of the maternal graze-diet. An

increase in dietary PUFA n-3 is often accompanied by lower PUFA n-6 content in the intramuscular lamb fat, due to a smaller supply of n-6 in the diet (Raes *et al.*, 2004). The grazing of twigs, bushes, and grasses in the Mediterranean shrub land by the ewes contributed to an increase in the final proportion of C18:3 α n-3 and CLA in lamb meat in detriment of C18:1 and other minor FA. In contrast, arachidonic acid (C20:4) synthesis was promoted by the increased dietary level of C18:2 n-6 (Urrutia *et al.*, 2015). Sage has excellent potential as a dietary source of PUFA n-3 because its seeds are rich in C18:2 n-6 and C18:3 αn-3 (Tulukcu *et al.*, 2012). Dietary supplementation with sage has not been tested in lambs, but some studies have tested in other animals. Feeding broiler rabbits with sage seed (15%) reduced the n-6/n-3 ratio of intramuscular fat from 4.5 to 1.0 (Peiretti and Meineri, 2008). Coates and Ayerza (2009) also studied the effect of the inclusion of sage seeds in pork feed reporting an increase of C18:3 αn-3 proportion in meat.

Other aromatic plants have been tested with good results. For example, then-6/n-3 ratio was seen to decrease in *Segureño* light lambs when the maternal diet was supplemented with rosemary (10%) or thyme (20%) distillation by-products. The administration rosemary and thyme by-products on the ewe's diet resulted in lamb meat with high content of unsaturated lipid compared with the control meat. Specific differences in the lipid composition could be that polyphenols present in the distilled leaves could protect and maintain the levels of unsaturated fat in cell membranes (Nieto, 2013). Moreover, the inclusion of distillate thyme leaves decreased the proportion of SFA and S/P, AI and TI index in lamb meat Nieto *et al.* (2012). Similar results were reported by Yagoubi *et al.* (2018) with rosemary distillation residues on lamb feed. Secondary phenolic compounds from grazed plants may also inhibit FA hydrogenation processes in the rumen, which might also favour PUFA assimilation by the pregnant and lactating ewes and subsequent transmission to lambs (Lourenço *et al.*, 2008; Vasta and Luciano, 2011).

Some studies have focus on the role of endogenous plant factor on the ruminal metabolism (Buccioni, Decandia, Minieri, Molle and Cabiddu,

2012; Toral, Monahan, Hervás, Frutos and Moloney, 2018). Contrary to what is accepted at first, some studies revealed that the inclusion of secondary compounds into ruminal diet can make a favourable modulation of rumen biohydrogenation (Lourenço *et al.*, 2008; Vasta *et al.*, 2009). Although different compounds have been examined such as tannins or saponins, results are often inconsistent due to dosage, experimental approaches, ruminant species and the diversity in active components (Toral *et al.*, 2018). Ruminal responses to most of these compounds may be mediated by their impact on the microbiota and this effect could be additive or synergistic (Ramos-Morales, McKain, Gawad, Hugo y Wallace, 2016). A clear example of this is the studies with tannins, for example using both condensed and hydrolysable tannin extracts or tannin rich forages showed a low initial PUFA metabolism in the rumen (Alves, Francisco, Costa, Santos-Silva and Bessa, 2017). Similar mechanisms were reported with cinnamon and garlic oil (Lourenço *et al.*, 2008). However, saponins or quercetin did not influence on the ruminal FA profile (Lourenço *et al.*, 2008). The differences between similar types of tannins or essential oils mainly can be explained by the variation in their structural features and reactivity (different extraction method, plant variety and parts, etc.) (Vasta and Luciano, 2011) and the dosage used in research studies. For example, in an *in vitro* system the inclusion of low and moderate (2% to 4%) levels of grape tannin extract favoured the accumulation of dietary PUFA, particularly C18:2 n-6 and C18:3 an-3 , whereas a higher dose (8%) enhanced C18:1 t11 concentration (Carreño, Hervás, Toral, Belenguer and Frutos, 2015). The lack of effects on the intramuscular fat profile by SDB compared with other aromatic plant by-product such as rosemary can be explained by the different tolerance to some secondary metabolites (Mueller-Harvey, 2006).

Among them, the CLA content would be of particular interest because of its potential beneficial effects on health. Numerous health benefits have been attributed to single CLA isomers in experimental animal models, including actions to reduce carcinogenesis, atherosclerosis and immunomodulatory properties (Haro, Artacho, and Cabrera-Vique, 2006; Serra *et al.*, 2009). Lamb meat is a natural source of dietary CLA. The proportion of CLA reported for intramuscular fat ranges from 0.3% to 1.1%

in light lambs given different diets (Santé-Lhoutellier *et al.*, 2008; Hajji *et al.*, 2016; Cividini *et al.*, 2014; Berthelot *et al.*, 2012; Urrutia *et al.*, 2015; Blanco *et al.*, 2015). In our study, the combination of ewe grazing and the SDB-diet practically doubled the proportion of meat CLA. In spring lambs total CLA varied from 0.21% to 0.52%, while in autumn lambs, total CLA reached values from 0.18% to 0.27%. The CLA level in milk and intramuscular fat of ruminants fed forage is associated with increased fore stomach outflow of vaccenic acid (C18:1 t11), whose precursor is C18:3 an-3 (Lourenço *et al.*, 2008). In suckling lambs raised by graze-fed ewes, the level of CLA in muscle increases with the animal age, although it depends on muscle metabolism (Serra *et al.*, 2009). Grazing light lambs provide meat with higher proportions of CLA than those fed on grain concentrate (Santé-Lhoutellier *et al.*, 2008; Santos-Silva *et al.*, 2002; Hajji *et al.*, 2016; Cividini *et al.*, 2014). Likewise, feeding ewes and/or light lambs with linseed (Berthelot *et al.*, 2012; Urrutia *et al.*, 2015) or sunflower soap sticks (Blanco *et al.*, 2015). In contrast, an increase in meat CLA can be achieved in heavy lambs by feeding strategies, including the use of linseed and oils (Raes *et al.*, 2004), which suggests that CLA accumulation might be less efficient in young lamb meat. For example, Santos-Silva *et al.* (2002) found that meat CLA increases with slaughter weight (from 25 to 30 kg) in lambs fed on pasture.

In summary, using SDB led to a part of the C18:2 n-6 and C18:1 acids to be replaced by α n-3 C18:3 acid in the lamb diet. The combination of maternal grazing and SDB throughout the three productive stages (pregnancy, lactation and post-weaning) increased the proportion of total PUFA, PUFA n-3 and CLA in light lamb meat. This synergism between ewe grazing and the SDB-diet was not expected. It is possible that the polyphenol content of the diets may have influenced the increase in PUFA n-3 on lamb meat, so that further studies on the combined effect of SDB and maternal grazing on ruminal metabolism are needed to help explain this synergy.

Table 26.

Effects of maternal rearing and lamb diet (basal vs. SDB) on the fatty acid profile (g/100g fat) of **spring lamb** loin.

g /100 g fat	Indoors		Grazing		Diet effect			
	Control	SDB	Control	SDB	SEM	Lamb	Ewe	L*E
	M	M	M	M		P-values		
C10:0	0.15 ^b	0.18 ^{ab}	0.16 ^{ab}	0.20 ^a	0.01	*		
C12:0	0.17 ^b	0.22 ^{ab}	0.24 ^{ab}	0.32 ^a	0.02	*	**	
C14:0	2.03 ^b	2.68 ^{ab}	2.74 ^{ab}	3.43 ^a	0.23	**	**	
C14:1	0.16 ^b	0.20 ^{ab}	0.21 ^{ab}	0.26 ^a	0.02	*	**	
C15:0	0.33	0.31	0.32	0.33	0.03			
C15:1	0.12	0.11	0.12	0.13	0.01			
C16:0	15.87	16.73	17.74	17.87	1.30			
C16:1	1.37	1.60	1.56	1.82	0.14			
C17:0	1.45 ^a	1.04 ^{ab}	1.33 ^b	1.09 ^b	0.11	**		
C17:1	0.70 ^a	0.51 ^b	0.62 ^{ab}	0.56 ^{ab}	0.05	*		
C18:0	8.74	9.54	9.96	10.57	0.69			
C18:1 n-9	25.72	27.08	28.23	31.23	2.25			
C18:2 n-6	8.43	6.78	7.87	8.59	0.70			
C18:2t n-6	0.17	0.18	0.22	0.26	0.03			
C18:3γ n-6	0.08	0.08	0.08	0.08	0.00			
C18:3α n-3(ALA)	0.22 ^b	0.26 ^b	0.61 ^a	0.67 ^a	0.05		***	
C20	0.06	0.07	0.06	0.07	0.00			
CLA	0.21 ^b	0.33 ^b	0.37 ^{ab}	0.52 ^a	0.04	**	***	
C20:2 n-6	0.30	0.29	0.19	0.23	0.03			
C20:3 n-3	0.22	0.18	0.21	0.20	0.01			
C20:3 n-6	0.08	0.07	0.08	0.11	0.02			
C20:4 n-6	2.64	2.26	2.20	2.30	0.30			
C20:5 n-3(EPA)	0.13 ^b	0.19 ^b	0.56 ^a	0.55 ^a	0.06		***	
C22:4 n-6	0.31 ^a	0.22 ^{ab}	0.15 ^b	0.18 ^{ab}	0.03		**	
C22:5 n-3 (DPA)	0.48 ^b	0.42 ^b	0.84 ^a	0.82 ^a	0.08		***	
C22:6 n-3 (DHA)	0.17 ^c	0.19 ^{bc}	0.35 ^a	0.33 ^{ab}	0.03		***	
ΣSFA	28.75	30.71	32.50	33.81	1.10			
ΣMUFA	28.10	29.50	30.74	34.00	2.40			
ΣPUFA	13.43	11.44	13.70	14.89	1.20			
Total FA	70.28	71.65	76.94	82.70	4.70			
N-3	1.21 ^b	1.21 ^b	2.53 ^a	2.60 ^a	0.22		***	
N-6	12.00	9.81	10.80	11.78	1.00			

Table 27.

Effects of maternal rearing and lamb diet (basal diet *vs.* SDB) on the fatty acid profile (g/100g fat) of **autumn lamb** loin.

g /100 g fat	Indoors		Grazing		Diet effect		
	Control	SDB	Control	SDB	Lamb	Ewe	L*E
	M	M	M	M	SEM	P-values	
C10:0	0.11 ^{ab}	0.14 ^a	0.12 ^{ab}	0.10 ^b	0.00		*
C12:0	0.14 ^{ab}	0.17 ^a	0.11 ^b	0.11 ^b	0.02		**
C14:0	1.98 ^{ab}	2.48 ^a	1.72 ^b	1.65 ^b	0.18		**
C14:1	0.10 ^b	0.15 ^a	0.09 ^b	0.08 ^b	0.01	**	*
C15:0	0.24 ^{ab}	0.26 ^a	0.20 ^b	0.20 ^b	0.02		**
C15:1	0.10 ^{ab}	0.11 ^a	0.06 ^b	0.06 ^b	0.01		***
C16:0	17.24	19.98	17.89	16.54	0.97		*
C16:1n-9	1.17 ^{ab}	1.37 ^a	1.07 ^{ab}	0.94 ^b	0.08	**	*
C17:0	0.95	0.92	0.86	0.81	0.07		
C17:1	0.51	0.49	0.51	0.42	0.04		
C18:0	7.36	7.76	7.97	7.72	0.43		
C18:1 n-9	20.65	22.81	23.65	20.76	1.22		
C18:2 n-6	6.46 ^{ab}	7.12 ^a	5.82 ^b	7.18 ^a	0.41		*
C18:2t n-6	0.10	0.10	0.13	0.12	0.02		
C18:3γ n-6	0.07	0.07	0.07	0.08	0.02		
C18:3α n-3+C20	0.18 ^b	0.21 ^b	0.27 ^a	0.28 ^a	0.01		***
CLA	0.13 ^b	0.19 ^{ab}	0.15 ^b	0.27 ^a	0.01	**	
C20:2 n-6	0.23 ^a	0.20 ^{ab}	0.16 ^{ab}	0.15 ^b	0.02		**
C20:3 n-3	0.21	0.19	0.20	0.23	0.02		
C20:3 n-6	0.04	0.04	0.04	0.04	0.00		
C20:4 n-6	1.49 ^a	1.32 ^{ab}	0.97 ^b	1.11 ^{bc}	0.08		***
C20:5 n-3(EPA)	0.14 ^{ab}	0.09 ^b	0.17 ^a	0.17 ^a	0.01		***
C22:4 n-6	0.09	0.09	0.06	0.07	0.01		
C22:5 n-3 (DPA)	0.26	0.22	0.27	0.28	0.02		
C22:6 n-3 (DHA)	0.21	0.16	0.21	0.21	0.02		
ΣSFA	28.03	31.71	28.87	27.12	1.50		
ΣMUFA	22.54	24.94	25.39	22.27	1.30		
ΣPUFA	9.58	10.01	8.53	10.19	0.54		
Total FA	60.15	66.66	62.79	59.58	2.99		
N-3	0.97 ^{ab}	0.87 ^b	1.13 ^{ab}	1.17 ^a	0.07	**	
N-6	8.48	8.94	7.25	8.79	0.49		

Table 28.

Effects of maternal rearing and lamb diet (basal diet *vs.* SDB) on the main FA groups (g/100g fat) and nutritional indexes determined of **spring and autumn** lamb loin.

g/100 g fat	Indoors		Grazing		Diet effect		
	Control	SDB	Control	SDB	Lamb	Ewe	L*E
	M	M	M	M	SEM	P-value	
Spring lamb							
N-6/N-3	10.38 ^a	8.93 ^a	4.55 ^b	5.05 ^b	0.70		***
S/P	0.66	0.73	0.70	0.66	0.04		
PUFA/SFA	0.49	0.38	0.44	0.41	0.05		
AI	0.59	0.70	0.67	0.66	0.04		
TI	0.72	0.78	0.70	0.66	0.04		
Autumn lamb							
n-6/n-3	8.80 ^{ab}	12.07 ^a	6.46 ^b	7.58 ^{ab}	1.20		**
S/P	0.69	0.72	0.70	0.65	0.02		
PUFA/SFA	0.34	0.31	0.30	0.38	0.32		
AI	0.79 ^{ab}	0.87 ^a	0.74 ^b	0.72 ^b	0.03		**
TI	0.89 ^{ab}	0.94 ^a	0.85 ^b	0.85 ^b	0.87		**

Abbreviations: SDB: sage distillation by-product; M: mean; SEM: standard error of the mean; L: lamb; E: ewe; P: probability; n-6/n-3 = Σ n-6 PUFA/ Σ n-3 PUFA; SFA: saturated fatty acids; MUFA: unsaturated fatty acids; PUFA: polyunsaturated fatty acids. S/P: Saturation index; AI: atherogenic index; TI: Thrombogenic index CLA: C18:2 c9t11 + c11t9; t: trans; c: cis; ^{a, b, c}: Dietary effects for: *** ($P < 0.001$); ** ($P < 0.01$); * ($P < 0.05$). Quantification limit: 0.01 g/100 FAME.

Table 29.

Effects of maternal rearing and lamb diet (basal diet *vs.* SDB) on the main FA groups (%) determined of **spring and autumn** lamb loin.

%	Indoors		Grazing		Diet effect		
	Control	SDB	Control	SDB	Lamb	Ewe	L*E
	M	M	M	M	SEM	P-values	
Spring lamb							
ΣSFA	41.12	43.14	42.32	40.76	1.30		
ΣMUFA	39.61	39.62	40.88	41.05	1.20		
ΣPUFA	19.27	15.97	18.06	18.19	1.40		
N-3	1.72 ^b	1.70 ^b	3.31 ^a	3.23 ^a	0.33	***	
N-6	17.39	14.26	15.02	14.32	1.37		
Total CLA	0.30 ^b	0.45 ^b	0.49 ^{ab}	0.64 ^a	0.05	**	***
Autumn lamb							
ΣSFA	46.57	47.49	46.00	45.37	0.65		
ΣMUFA	37.60	37.49	40.25	37.14	0.75		
ΣPUFA	15.83	15.02	13.74	17.48	0.74		
N-3	1.62 ^{ab}	1.30 ^b	1.81 ^a	2.05 ^a	0.12	**	
N-6	14.01	13.44	11.70	14.97	0.67		
Total CLA	0.21 ^b	0.28 ^b	0.23 ^b	0.46 ^a	0.05		

Abbreviations: SDB: sage distillation by-product; M: mean; SEM: standard error of the mean; L: lamb; E: ewe; P: probability; n-6/n-3 =Σ n-6 PUFA/Σ n-3 PUFA; SFA: saturated fatty acids; MUFA: unsaturated fatty acids; PUFA: polyunsaturated fatty acids.^{a, b, c} Dietary effects for: *** (P < 0.001); ** (P < 0.01); * (P < 0.05). Quantification limit: 0.01 g/100 FAME

5. Oxidative stability

TBARS

The effects of dietary treatments on the oxidative stability of the retailed lamb meat (SL and AL) are shown in **table 30**. As expected, meat lipid oxidation increased throughout storage time in the samples from all the dietary treatments in both seasonal trials, with some differences. In SL, the combination of SDB diet and maternal grazing (PS) resulted in an increased value of TBARS ($p<0.05$) at day 12 for storage in comparison with the control indoors (CC) samples. Similarly, such combination was also associated with higher values of TBARS ($p<0.05$) in AL compared with CC samples although at day 6 of storage. Ewe grazing alone did not affect the TBARS values at any storage day in both seasonal trials. At the same time, the SDB-diet alone was only associated with higher TBARS values at day 6 ($p<0.05$) in the AL from both indoors and grazing ewes. The limiting threshold of TBARS for oxidized meat acceptability can vary according to the animal and the study. In lamb meat, 1 mg MDA/kg may be enough for rancidity can be detected (Ripoll Joy and Muñoz, 2011^b). As regard for time effect, in both seasons, the oxidation rate increases at day 6 being onwards. The threshold of 1 mg of MDA / kg meat was widely exceeded on day 6 of storage in both spring and autumn lamb loins. SDB supplementation of lamb diet in combination with maternal grazing might favour lipid oxidation because the additional PUFA deposited in the lamb meat. The possible contribution of dietary antioxidants through both maternal grazing and SDB supplementation at 10% w: w has proved to be inefficient since even the oxidative stability of the meat worsened with these diets, as demonstrated the results obtained in TBARS. As commented previously, it is possible that the lack of antioxidant activity of SDB was due to low deposition of rosmarinic acid in sheep muscle.

Some studies have shown that pasture feeding led to increasing values of highly PUFA, such as EPA or DHA, in lamb meat (Scerra *et al.*, 2011). Feeding PUFA n-3 ingredients such as seeds or oils, decreases the antioxidant status in lamb meat, which is associated with higher MDA values (Ponnampalan *et al.*, 2016). Our results confirmed the inverse relationship existing between fat unsaturation and the oxidative stability of meat, as reported in various studies on lamb preservation (Fisher *et al.*, 2000; Fraser, Speijers, Theobald, Fychan and Jones, 2004; Petron *et al.*, 2007). PUFA are particularly susceptible to autoxidation reactions catalysed by the heme iron of myoglobin, which leads to the formation of aldehydes, ketones, alcohols and other volatile compounds associated with rancidity (Elmore *et al.*, 2005). The SDB diet resulted in a slice of meat with slightly higher levels of cis-PUFA isomers, which are less oxidizable than Trans PUFA isomers. For instances, Sargi, and Subbaiah (2003) reported that dietary trans-C16–18 PUFA decrease the rate of lipid peroxidation in lipid bilayers, which might also have contributed to raise the TBARS values. The feeding methods based on concentrate generally provide low amounts of dietary antioxidants, thus resulting in meat products characterized by high oxidative susceptibility compared to extensive pasture-based production systems. Generally, the amount of antioxidants, such as vitamin E and carotenoids, is high enough in fresh and ensiled herbage compared to hay and concentrate feeds (Röhrle *et al.*, 2011^a). Nonetheless, in our study, maternal grazing and SDB had no positive effect on meat preservation although we assume that pasture supply vitamin E requirements and other natural antioxidants (Descalzo *et al.*, 2005; Campo, Muela, Resconi, Barahona, and Sañudo, 2006; Luciano *et al.*, 2013, Humada, Sañudo and Serrano, 2014; Santé-Lhoutellier *et al.*, 2008; De Brito *et al.*, 2017). However, sometimes the inclusion of ingredients rich in antioxidants in concentrate diets may have the same antioxidant effect than grass-based diets. For example, the combination of quebracho in lactating ewe decreased the TBARS value in suckling lamb meat, because of possible indirect effect of condensed tannins could involve modification of deposition and absorption of α -tocopherol in the muscle (Lobón *et al.*, 2017). This differ with other studies that showed that pasture-fed can reduce lipid oxidation in

lamb meat due to the number of antioxidants provided by pasture (Campo *et al.*, 2006; Luciano *et al.*, 2013 and Fruet *et al.*, 2015).

As reported previously, polyphenol content of sage distilled by-products (SDB), SDB feed also contains polyphenols, including phenolic acids (rosmarinic, salvianic, and caffeic acids), terpenes and flavonoids (Ben-Farhat *et al.*, 2013; Jordán *et al.*, 2009; Lu and Foo, 2001), which are not extracted by water stream during the essential oil distillation process. Other authors have been tested sage by-products with similar results. For instance, Rotolo *et al.* (2013) tested the supplemented of dried sage leaves broiler rabbits, however, it did not delay lipid oxidation. Although sage has not been used in lamb feed, feeding similar distillation by-products of rosemary or thyme has been seen no negative effects on lamb performance (Moñino, 2010), and great potential for improving meat stability. The supplementation of rosemary distillation residues (600 g of pellets containing 60 and 87% of rosemary distillation residues) in the lamb diet reduced the TBARS value in meat (Yagoubi *et al.*, 2018). In our study, the lack of antioxidant activity of SDB might be related to the low deposition of rosmarinic acid in muscle (Moñino, 2010). The antioxidant activity of some aromatic plants such as rosemary, are related with the presence of carnosic acid and carnosol, which would explain why sage had not antioxidant effect *in vivo* (Aruoma, Halliwell, Aeschbach and Jöligers, 1992). The oxidative stability of meat depends on the complex balance between pro-oxidant factors, such as readily oxidizable substrates and catalysts, and various antioxidant protection mechanisms, including both endogenous systems and exogenous antioxidants of dietary origin (Bekhit, Hopkins, Fahri and Ponnampalam, 2013). The fatty acids profile is another factor determining meat oxidative stability, and particularly, PUFA, which are the main oxidizable (Berkit *et al.*, 2013). Feeding animals with PUFA n-3 ingredients (seeds, oils, etc.) may increase PUFA concentration; however, it may also present the drawback of impairing the oxidative stability of meat if not balanced by adequate antioxidant interventions. Therefore, the dietary use of SDB in lambs needs to be readjusted in further studies to ensure that meat quality is improved regardless of the ewe diet. An important issue to be addressed is the lower meat stability observed because of increasing fat

unsaturation. As seen, the SDB diet containing sage polyphenols was ineffectual at protecting lamb meat against deterioration in pro-oxidizing and bacteriostatic retailing conditions. EU legislation does not authorize the addition of antioxidants to meat cuts, so the SDB-based diets should be accompanied by other antioxidant strategies, involving, if possible, local natural resources, to extend the shelf life of *Segureño* lamb meat.

Table 30.

Effects of maternal rearing and lamb diet (basal diet *vs.* SDB) on the TBARS value in lamb meat.

	Diet	Indoors		Grazing		Diet effects		
		Basal	SDB	Basal	SDB	L	E	L*E
		M	M	M	M	SEM	P-values	
Spring lamb								
TBARS	0	0.03	0.04	0.04	0.03	0.00		
	6	2.80	3.28	3.15	3.44	0.20		
	12	5.46 ^b	6.18 ^{ab}	6.62 ^{ab}	8.15 ^a	0.50	*	**
Time effects		***(5)	***(5)	***(5)	***(5)			
Autumn lamb								
TBARS	0	0.04	0.04	0.04	0.08	0.00		
	6	4.54 ^c	5.74 ^{ab}	4.71 ^{bc}	6.66 ^a	0.20		**
	12	9.03	9.41	9.18	9.68	0.50		
Time effects		***(5)	***(5)	***(5)	***(5)			

*Lamb meat packed in high O₂/CO₂ atmosphere and stored at 4 °C/800 lx for up to 12 days. Abbreviations: TBARS: Thiobarbituric Acid Reagent Substances.; SDB: sage distillation by-product; M: mean; SEM: standard error of the mean; L: lamb; E: ewe; P: probability. a, b, c. Dietary effects at the same storage time. Storage time effects: ⁽¹⁾ 0>6=12; ⁽²⁾ 0>6>12; ⁽³⁾ 0=6>12; ⁽⁴⁾ 12=0>6; ⁽⁵⁾ 12>6>0; ⁽⁶⁾ others. Levels of significance: *** (P < 0.001); ** (P < 0.01); * (P < 0.05).*

CIELab colour.

The effect of dietary treatments on the CIELab colour are shown in **table 31 and table 32**. The packed lamb loin suffered a gradual browning during the retailing period, which in terms of instrumental colour was associated with increases in lightness (L^*), yellowness (b^*) and Hue angle (H^*) and decreases in redness (a^*), and Chroma (C^*). Among the colour coordinates, the use of H^* is recommended for monitoring meat discoloration because of its precision and good correlation with the metmyoglobin content (Ripoll et al., 2011^a). According to H^* values, lean browning was evident at day 12 of storage (in lamb loin samples from any dietary treatment in both seasonal trials).

Some discrepancies exist in the literature regarding the effect of pasture-feeding (vs. stall feeding) on lightness. Some authors reported a decrease in L^* (Priolo et al., 2001) and others, as in our study, did not found any changes in L^* between spring and autumn lambs (Santé-Lhoutellier et al., 2008; Nieto et al., 2010); Devincenzi, Prunier, Meteau and Prache (2018). No differences were found for a^* values in AL. However, in SL, PS samples have lower a^* compared to the CC samples at day 12. On fresh meat, a^* values decrease with storage time (Guidera, Kerry, Buckley, Lynch, and Morrissey, 1997) and at the beginning of storage, were similar to those values obtained for red meats ($a^* = 15-18$) (Sañudo et al., 1992). The values of a^* measured in our samples at day 6 were above the ideal level ($a^* = 14.8$) proposed by Khlijji, Van de Ven, Lamb, Lanza, and Hopkins (2010) for meat consumer acceptance until 6 days. Other authors, such as Nieto et al., (2010), reported higher a^* values in lamb meat from ewes fed distilled rosemary leaves, probably as a consequence of antioxidant phenolic compounds deposited in meat; however, in our study, either lamb or ewe diet did not improve meat colour stability. As succeeded for a^* , the diets did not affect the values of b^* in AL at any storage day and in SL until day 6. In this last one, the value of b^* increased ($P < 0.05$) at day 12 in the PS samples. Our results agree with Boughalmi and Araba (2016), that investigated the impact of change in the feeding system (pasture, pasture

and concentrated or concentrate and hay) on lamb meat colour. They found that the meat from lamb fed pasture had a b^* value associated with the presence of carotenoids, flavonoids and α -tocopherol concentration in their diet (Lynch *et al.*, 2000). The greater discolouration observed in those samples was where lipid oxidation was more intense, confirming that the use of feeding systems able to increase fat unsaturation without providing effective levels of bioavailable antioxidants, may have negative repercussions for the oxidative stability of lamb meat.

Table 31.

Effects maternal rearing and lamb diet (basal diet *vs.* SDB) on the CIELab colour of **spring lamb** loin.

	Diet	Indore		Grazing		Diet effect		
		Control		SDB	Control		L	E
		M	M	M	M	SEM	P-values	
L*	0	40.56	39.44	40.69	39.25	0.50		
	6	41.09	39.68	40.97	40.25	0.52		
	12	43.70	43.59	45.34	46.16	0.74		
	Time effects	**(6)	***(5)	***(5)	***(5)		* **	
	0	14.93	15.25	14.54	14.74	0.32		
	6	16.74	17.25	15.88	14.85	0.95		
a*	12	11.29 ^a	9.29 ^{ab}	8.56 ^{ab}	5.00 ^b	1.25		
	Time effects	**(3)	***(6)	***(6)	***(3)			
	0	1.60	1.40	1.32	1.17	0.16		
	6	7.03	6.54	6.74	6.56	0.27		
	12	7.66 ^b	7.86 ^b	8.43 ^{ab}	9.27 ^a	0.32		
	Time effects	***(6)	***(5)	***(5)	***(5)		**	
Hue	0	6.10	5.33	5.23	4.53	0.62		
	6	23.23	20.78	23.33	24.57	1.40		
	12	36.32 ^b	41.75 ^b	47.64 ^{ab}	61.61 ^a	4.50		
	Time effects	***(5)	***(5)	***(5)	***(5)			
	0	15.03	15.32	14.61	14.79	0.32		
	6	18.19	18.46	17.28	16.27	0.80		
Chroma	12	14.03	12.42	12.40	10.55	0.90		
	Time effects	**(6)	***(3)	**(6)	***(3)			

*Lamb meat packed in high O₂/CO₂ atmosphere and stored at 4 °C/800 lx for up to 12 days. Abbreviations: SDB: sage distillation by-product; M: mean; SEM: standard error of the mean; L: lamb; E: ewe; P: probability. a, b, c. Dietary effects at the same storage time. Storage time effects: ⁽¹⁾ 0>6=12; ⁽²⁾ 0>6>12; ⁽³⁾ 0=6>12; ⁽⁴⁾ 12=0>6; ⁽⁵⁾ 12>6>0; ⁽⁶⁾ others. Levels of significance: *** (P < 0.001); ** (P < 0.01); * (P < 0.05).*

Table 32.

Effects maternal rearing and lamb diet (basal diet *vs.* SDB) on the CIELab colour of **autumn lamb** loin.

		Indoors		Grazing		Diet effect		
Diet		Control	SDB	Control	SDB	L	E	L*E
		M	M	M	M	SEM	P-values	
L*	0	38.43	38.95	38.72	37.90	0.62		
	6	41.33	42.07	41.28	42.03	0.52		
	12	46.64	47.47	45.82	46.92	0.68		
	Time effects	***(5)	***(5)	***(5)	***(5)			
	0	1.78	1.44	1.17	1.10	0.25		
	6	7.09	7.16	6.82	7.40	0.20		
b*	12	10.43	10.48	9.25	10.27	0.39		
	Time effects	***(5)	***(5)	***(5)	***(5)			
	0	15.38	15.12	14.55	14.82	0.31		
	6	15.82	15.38	15.90	15.54	0.49		
	12	4.93	4.06	5.79	4.37	0.73		
	Time effects	***(3)	***(3)	***(3)	***(3)			
a*	0	4.41	5.48	4.59	4.39	0.98		
	6	24.36	25.17	23.31	28.09	2.98		
	12	64.31	68.80	57.80	67.03	1.60		
	Time effects	***(5)	***(5)	***(5)	***(5)			
	0	15.44	15.20	14.61	14.89	0.31		
	6	17.36	16.98	17.32	16.44	0.63		
Chroma	12	11.63	11.27	11.24	11.29	0.22		
	Time effects	***(2)	***(2)	***(2)	***(2)			

*Lamb meat packed in high O₂/CO₂ atmosphere and stored at 4 °C/800 lx for up to 12 days. Abbreviations: SDB: sage distillation by-product; M: mean; SEM: standard error of the mean; L: lamb; E: ewe; P: probability. a, b, c, Dietary effects at the same storage time. Storage time effects: ⁽¹⁾ 0>6=12; ⁽²⁾ 0>6>12; ⁽³⁾ 0=6>12; ⁽⁴⁾ 12=0>6; ⁽⁵⁾ 12>6>0; ⁽⁶⁾ others. Levels of significance: *** (P < 0.001); ** (P < 0.01); * (P < 0.05).*

Sensory analysis

The effects of dietary treatments on the appearance and odour of the loin lamb are shown in **table 33** and **table 34**. Lamb meat developed an incipient discolouration and rancidity under the retailing conditions tested from 6 days onwards in both seasonal trials. Sensory changes began to be detected by the panel on day 6 because of the gradual lean browning, fat yellowing, and the loss of serum odour associated with rancidity. In general, the storage time affected all sensory descriptors evaluated, except putrid and acid odours, probably due to the protective atmosphere used. Lean colour scored lower at day 12 in the SL from the PS group compared with the indoor control group, while the diet did not affect fat colour scoring. Similarly, serum odour also scored lower at day 12 in PS group compared with the CC group, which was associated with a higher rancid odour. This led to that the SL loin for the PS was the lowest freshness score. In contrast, no dietary effects were observed for any sensory attribute at any storage time in the AL.

The sensory scoring obtained was in agreement with previous results on meat stability, in which the combination of maternal grazing and the supplementation of lamb diet with SDB favoured lipid oxidation and lean discolouration in the spring lamb loin and did not affect both parameters in the autumn lamb loin. These results were coherent with the levels of PUFA n-3 obtained in the lamb meat (higher PUFA → lower oxidation stability → increased rancidity and discolouration). Besides, acid and putrid odours were practically absent in all the samples, which was coherent with the counts obtained for total viable counts, lactic acid bacteria and *B. thermosphacta*. In the raw lamb meat packed under a protective atmosphere, acceptance is mainly associated with freshness lost because of discolouration and odour deterioration. Our results partially agree with Santé-Lhoutellier *et al.* (2008), who reported that grazing did not affect the lean colour of lamb meat during its refrigerated storage for 7 days. Some studies have focused on the roles of fatty acids on meat odour and flavour formation. Increasing PUFA n-3 affects meat odour because of their greater susceptibility to

oxidation associated with the formation of abnormal volatile compounds during storage (Vieira, 2019). According to our results, it seems that the lower meat oxidative stability observed in spring lamb loin was a consequence of an increase in fat unsaturation reached through the SDB diet and maternal grazing. Despite SDB and, probably, graze, provided dietary polyphenols, they were ineffectual to protect lamb meat against deterioration in the pro-oxidizing and bacteriostatic retailing conditions tested. Future studies should explore the possibility to readjust the dietary use of SDB in lambs needs to ensure that meat quality is improved regardless of the ewe diet.

Table 33.

Effects of maternal rearing and lamb diet (basal diet *vs.* SDB) on the sensory stability of **spring lamb** loin.

	Diet	Indoors		Grazing		Diet effect		
		Control	SDB	Control	SDB	L	E	L*E
		M	M	M	M	SEM	P-values	
Lean colour	0	4.73	4.80	4.82	4.81	0.05	**	
	6	4.04	4.14	3.89	4.01	0.15		
	12	2.59 ^a	2.12 ^{ab}	2.10 ^{ab}	1.14 ^b	0.15		
Fat colour	Time effects	***(2)	***(2)	***(2)	***(2)			
	0	4.94	4.99	4.99	5.00	0.01		
	6	3.98	4.07	4.00	4.09	0.11		
Serum odour	Time effects	***(2)	***(2)	***(2)	***(2)			
	0	4.97 ^{ab}	4.99 ^a	4.99 ^a	4.90 ^b	0.01		
	6	3.74	3.99	3.97	3.77	0.10		
Rancid odour	12	2.02 ^a	1.75 ^{ab}	1.60 ^{ab}	1.33 ^b	0.14	**	
	Time effects	***(2)	***(2)	***(2)	***(2)			
	0	1.01	1.01	1.00	1.01	0.01		
Acid odour	6	1.39	1.34	1.39	1.53	0.09		
	12	2.77	3.19	3.05	3.37	0.20		
	Time effects	***(5)	***(6)	***(6)	**(6)			
Putrid odour	0	1.02	1.00	1.00	1.00	0.00		
	6	1.03	1.01	1.02	1.01	0.01		
	12	1.09	1.15	1.15	1.13	0.06		
Freshness	Time effects		* (6)	*(6)	**(6)			
	0	1.00	1.00	1.00	1.00	0.00		
	6	1.00	1.02	1.00	1.00	0.00		
	12	1.09	1.09	1.20	1.06	0.14		
	Time effects	*** (6)	*** (6)	**(6)				
	0	4.99	5.00	5.00	4.97	0.01		
	6	4.02	4.04	3.94	3.91	0.13		
	12	2.27 ^a	1.89 ^{ab}	1.77 ^{ab}	1.27 ^b	0.23		*
	Time effects	***(2)	***(2)	***(2)	***(2)			

Lamb meat packed in high O₂/CO₂ atmosphere and stored at 4 °C/800 lx for up to 12 days. Abbreviations: SDB: sage distillation by-product; M: mean; SEM: standard error of the mean; L: lamb; E: ewe; P: probability. a, b, c, Dietary effects at the same storage time. Storage time effects: ⁽¹⁾ 0>6=12; ⁽²⁾ 0>6>12; ⁽³⁾ 0=6>12; ⁽⁴⁾ 12=0>6; ⁽⁵⁾ 12>6>0; ⁽⁶⁾ others. Levels of significance: *** (P < 0.001); ** (P < 0.01); * (P < 0.05). All results expressed as sensory scores (1: minimum; 5: maximum).

Table 34.

Effects of maternal rearing and lamb diet (basal diet *vs.* SDB) on the sensory stability of **autumn lamb** loin.

	Diet	Indoors		Grazing		Diet effect		
		Control	SDB	Control	SDB	L	E	L*E
Lean colour	0	4.90	4.87	4.93	4.91	0.01		
	6	3.69	3.58	3.78	3.29	0.12		
	12	1.51	1.54	1.80	1.61	0.05		
	Time effects	***(2)	***(2)	***(2)	***(2)			
	0	4.96	4.97	4.96	4.97	0.01		
	6	4.03	3.91	3.95	3.82	0.06		
Fat colour	12	2.62	2.56	2.51	2.42	0.07		
	Time effects	***(2)	***(2)	***(2)	***(2)			
	0	4.95	4.88	4.97	4.93	0.02		
	6	2.95	2.86	3.04	2.65	0.10		
	12	1.36	1.30	1.32	1.35	0.03		
	Time effects	***(2)	***(2)	***(2)	***(2)			
Serum odour	0	1.00	1.00	1.00	1.00	0.00		
	6	1.89	2.07	1.80	2.31	0.03		
	12	3.52	3.69	3.54	3.63	0.04		
	Time effects	***(5)	***(5)	**(6)	***(5)			
	0	1.00	1.01	1.00	1.01	0.00		
	6	1.06	1.01	1.03	1.04	0.01		
Rancid odour	12	1.32	1.20	1.43	1.35	0.05		
	Time effects	**(6)	**(6)	**(6)	**(6)			
	0	1.00	1.01	1.00	1.00	0.00		
	6	1.00	1.00	1.01	1.00	0.00		
	12	1.12	1.15	1.21	1.11	0.03		
	Time effects	**(6)	**(6)	**(6)	**(6)			
Acid odour	0	1.00	1.01	1.00	1.00	0.00		
	6	1.06	1.01	1.03	1.04	0.01		
	12	1.32	1.20	1.43	1.35	0.05		
	Time effects	**(6)	**(6)	**(6)	**(6)			
	0	1.00	1.01	1.00	1.00	0.00		
	6	1.00	1.00	1.01	1.00	0.00		
Putrid odour	12	1.12	1.15	1.21	1.11	0.03		
	Time effects	**(6)	**(6)	**(6)	**(6)			
	0	4.97	4.95	4.97	4.98	0.01		
	6	3.41	3.34	3.48	3.02	0.11		
	12	1.45	1.47	1.43	1.46	0.06		
	Time effects	***(2)	***(2)	***(2)	***(2)			

*Lamb meat packed in high O₂/CO₂ atmosphere and stored at 4 °C/800 lx for up to 12 days. Abbreviations: SDB: sage distillation by-product; M: mean; SEM: standard error of the mean; L: lamb; E: ewe; P: probability. ^{a, b, c} Dietary effects at the same storage time. Storage time effects: ⁽¹⁾ 0>6=12; ⁽²⁾ 0>6>12; ⁽³⁾ 0=6>12; ⁽⁴⁾ 12=0>6; ⁽⁵⁾ 12>6>0; ⁽⁶⁾ others. Levels of significance: *** (P < 0.001); ** (P < 0.01); * (P < 0.05). All results expressed as sensory scores (1: minimum; 5: maximum).*

5.2. EFFECTS OF MATERNAL REARING ON LIPID OXIDATIVE STABILITY IN RAW AND COOKED/HOT-HOLD LAMB PATTIES.

As previously commented in **Justification**, in the last part of the study it was evaluated if the cooked/hot-hold lamb meat retained the improved lipid profile achieved through the maternal grazing. This study was carried out in patties because it is a meat preparation that is usually present in catering.

5.2.1. RAW LAMB PATTIES

1. Moisture and total fat content

The average percentages of total fat and total moisture of raw lambs were 11.5 % and 67.87 % (**table 35**). There were some differences between the indoors and grazing group for moisture content ($P>0.01$) but not for total fat ($P>0.05$), in agreement with results obtained in lamb loin. Most of the studies carried out analysing the effect of the maternal or lamb diet on the chemical composition of meat does not report changes in the moisture content (Lestigi *et al.*, 2015; Ortuño *et al.*, 2015; Nieto, 2010). Autumn lamb loins did not show rearing effect on total moisture content, so it is probably that the patties may content more or less intermuscular fat.

A possible dietary effect on the total quantity of fat is improbable in grain fed lamb meat. Variations in moisture content were also reported in some studies with dietary treatments when assessed light lamb patties (Serrano 2014; Ortuño *et al.*, 2015). On the other hand, moisture values were similar than Andrés *et al.* (2017) in fresh lamb patties (77.11%); Carvalho *et al.* (2019) in chicken burgers (67.25%) and were slightly higher than those found by Fernandes *et al.* (2017) in lamb patties (62.06%) and Soltanizadeh and Ghiasi-Esfahani (2015), who observed values ranging from

60% to 62% in lamb and beef burgers, respectively. In our study, average fat content of raw patties was around of 10%. Generally, lambs fed on pasture displayed less fatness than indoor lambs, a result that may be attributed to the physical activity (Priolo *et al.*, 2002). Physical activity leads to an increase mobilization of reserve lipids to form muscle tissue, with the subsequent reduction of carcass fatness (Díaz *et al.*, 2002). Our lambs came from grazing ewes; however, they were confined in pens, so it is possible that the lack of differences might be due to the lack of physical activity.

In agreement with our results, Priolo *et al.* (2002) also found no differences in the fat content between lambs feed on pasture or concentrate (2.45 and 2.94 g/100 g wet tissue). Regarding fat values, our results were higher than those reported Rhee, Lupton, Zipron and Rhee (2003) in leg lamb patties from ewes fed with different dietary treatments (raised-floor, pasture or feedlot) (3.85%, 4.41%, and 3.41% respectively); with Žugčić *et al.* (2018) in beef patties (6.77%) or with Carvalho *et al.* (2019) in chicken burgers (7.49%). Moreover, as expected, total fat was also higher those obtained in fresh lamb loin in both seasons because leg has more intramuscular fat (12.6 g fat /100 g edible portion) (Gaspar, De la Calle, Moreno, Torres and Moreiras, 2010). Furthermore, unlike loin fillets, lamb leg patties contained intermuscular fat. So, this may explain the differences seen in total fat between raw loin and raw patties. Although lamb meat was minced, some variability in the fat content is inevitable when minced meat is used to make patties.

Table 35.

Effects of maternal rearing of total fat and moisture contents of raw lamb patties.

	Indoors	Grazing	SEM	P-values
	M	M		
Total fat (%)	10.77	12.28	0.41	
Moisture (%)	68.68 ^a	67.07 ^b	0.41	**

Abbreviations: M: mean; SEM: standard error of the mean; P: probability.^{a, b} Ewe rearing effects for *** ($P < 0.001$); ** ($P < 0.01$); * ($P < 0.05$).

2. Oxidative stability

The effects of ewe rearing on the oxidative stability (TBARS and CIELab colour) of the raw lamb patties are shown in **table 36**. Although the threshold of 1 mg MDA/kg meat was not exceeded, raw patties showed an incipient oxidation (0.3 mg MDA/kg meat), a TBARS value noticeably high compared to those seen in fresh loin (0.04 mg MDA /kg meat). Maternal grazing did not affect the TBARS values in agreement with the results obtained in autumn lamb loin at day 0 of storage. As seen, the raw patties included intermuscular fat, so that the increase on total fat content can promote lipid oxidation (higher TBARS values) (Utrera, Morcuende and Estévez, 2014^b). These changes, together the use of aerobically mincing and salt addition (2%) might explain the differences seen in TBARS values between patties and loin fillets. Furthermore, legs used in patties were previously frozen and thawed to make the patties and once they were made, they were re-frozen at -80 °C for later analysis (as loin samples).

In general, raw meat (at day 0) does not usually present high values of TBARS since it is not usually oxidized. However, when fresh meat is frozen,

it may develop some oxidation. Freezing damage is associated with ice crystal formation that may lead to structure disruptions by both physical fracture and the osmotic pressure exerted by the extracellular concentration of solutes (Zaritzky, 2012). These physical changes promote the contact between pro-oxidants such iron, in the unfrozen phase leading to an increased formation of reactive oxygen species and oxidative reaction such as protein denaturation, lipolysis and lipid oxidation (Zaritzky, 2012). TBARS formation had a significant temperature-dependent with frozen storage. For example, Ultera, Morcuende and Estévez (2014^a), showed higher TBARS values in beef patties stored at -18 and 8 °C. Other authors have also reported higher levels of TBARS in thawed fresh meat. Carballo *et al.* (2018) informed TBARS values of 1.39 mg MDA/kg meat in raw patties at day 0. These authors reported that the TBARS levels at day 0 in lamb's patties showed an initial lipid oxidation as a consequence of previous deboning, cutting and vacuum frozen storage (9 months) and patty manufacture. In our study, before manufacturing, lamb legs were vacuum frozen (at -20°) storage for less than 6 months. Moreover, mincing represents a significant deteriorative stress for meat and resulting in the release and diffusion of pro-oxidants (Gray, Gomaa, & Buckley, 1996). Moreover, the type of muscle can be differently affected by lamb meat oxidation. For instance, Rant *et al.* (2019) found that TBARS values are lower ($P<0.05$) in the *longissimus lumborum* than in *gluteus medius*, because the *gluteus medius* muscle contains a higher proportion of long-chain acids with more than two numbers of unsaturated bonds, which are less resistant to oxidation (C₂₀:3; C₂₀:4; C₂₀:5). Furthermore, as reported by Yang *et al.* (2002), small changes in the concentration of such acids may have a significant effect in oxidative stability of meat. All this may explain why the patties had higher TBARS values than the loins from the same lambs.

In agreement with TBARS, the CIELab colour was not affected by maternal rearing. Similar CIELab values were obtained by Andrés *et al.* (2018) in fresh lamb patties and were higher than those obtained from lambs whose diet was supplemented with fresh bergamot ($L^*:46.02$; $a^*:10.31$, $b^*:6.61$, $H^*:32.65$ and $C^*:12.70$) (Scerra *et al.*, 2018), rosemary

diterpenes (L^* 41.6; a^* 17.7; b^* 7.05; H^* 21.7 and C^* 19.1) (Ortuño *et al.*, 2015), and pasture (L^* 42.25; a^* 14.55; b^* 6.21; C^* 15.86; H^* 23.24) (Hajji *et al.*, 2016), and even in raw lambs patties enriched with 20 g of astaxanthin (L^* : 44.61; a^* 14.02 and b^* 18.46) (Carballo *et al.*, 2018). Compared to loins, patties showed high L^* and H^* due to the composition of patties (meat and visible fat), meanwhile, redness and yellowness remained unchanged. According to Velasco *et al.* (2004), meat with a lightness value equal to or above 34 was acceptable on average and above 44 was acceptable by 95% of consumer. All our patties average L^* values of 40 indicating that, although they had an initial oxidation, showed a light-coloured and acceptable for consumer.

In sum, the results regarding TBARS and colour CIELab indicates that raw lamb patties presented an incipient oxidation as a result of previous processing and their composition. Ewe rearing did not determine any difference in the oxidative state of minced meat.

Table 36.

Effects of the maternal rearing on lipid stability (TBARS) and CIELab colour of raw lamb patties.

	Indoors	Grazing	SEM	P-values
	M	M		
TBARS	0.38	0.30	0.35	
L^*	47.26	46.97	1.24	
a^*	14.30	13.56	0.80	
b^*	6.30	5.17	1.15	
Hue*	24.21	20.73	4.50	
Chroma*	15.64	14.61	0.84	

Abbreviations: M: mean; SEM: standard error of the mean. TBARS: Thiobarbituric Acid Reagent Substances; P: probability. ^{a,b}Ewe rearing effects for *** ($P < 0.001$); * ($P < 0.05$); * ($P < 0.05$). TBARS results expressed as mg MDA / kg meat.

3. Fatty acid profile

The fatty acid profile was analysed to corroborate if the nutritional improvement achieved in the lipid profile of fresh loin was maintained or not in raw and cooked patties. The effects of ewe rearing on the FA content (expressed as g/100g fat) of patty lamb fat are shown in **table 37**. A total of twenty three FA were detected and quantified in patties, being the C18:1 n-9, C14:0, C16:0, C18:2 n-6 and C18:0 the most abundant FA in agreement with previous result reported for autumn lamb fat and with other studies on light lamb loin (Nieto, 2013; Blanco *et al.*, 2014; 2017). Maternal grazing decreased the levels in raw patty fat of several MUFA (C14:1, C16:1), and some PUFA n-6 (C20:4 n-6; C22:4 n-6) and increased the levels of C18:3 α n-3, C18:2t n-6 PUFA and C20:4 n-6 and total CLA ($c9t11 + c11t9+t10c12$). The levels in fat of the rest of individual FA were not affected ($p>0.05$) by maternal grazing. Concerning the FA groups, no relevant ($p>0.05$) differences were found between both patty groups except for the level of PUFA n-3, which increased with ewe grazing. In agreement with our results in lamb loin, the level of C18:3 α n-3 and conjugated linoleic acid (CLA) was less than 0.5 g FA/100g fat in both dietary groups. Although total SFA was similar in both meat products (loin fillets and patties), MUFA content was slightly high compared with those seen in intramuscular loin fat. Moreover, PUFA content was lower in the patties than in the loin fillets (9.58 and 8.53 g/100 g fat vs. 5.14 and 5.25 g/100 g fat, respectively) and minor FA such as C20:2 n-6 and C20:3 n-3 were below the quantification limit. Regarding nutritional index, maternal rearing did not determine differences in the UI index, while the PUFA/SFA ratio increased and the n-6/n-3, S/P, TI, and AI ratios decreased with maternal grazing. In overall, the S/P and n-6/n-3 ratios were quite similar to those obtained in intramuscular loin fat, although they are above than the recommended values (<4) because the high content of C18:2 n-6 in comparison to C18:2 n-3, among other PUFA. TI was slightly higher in patties than loins, possibly due to that the fat levels of C14:0 and C18:0 were slightly higher in patties than in loins.

Our results agree with those reported in lamb loins and confirm that maternal grazing improves the fatty acids profile in grainfed *Segureño* light lamb, in both loin and leg patties including the intermuscular fat, for that reason it might be expected that this improvement may stay in the cooked patties. As previously discussed, PUFA content was lower in patties than in loin fillets. It was seen that there may be differences in the fatty acid profile between different muscles (*longissimus lumborum* and *gluteus medius muscles*) (Rant *et al.*, 2019). Changes in the FA content of muscle are also related with the proportion of total fat and their origin, muscle fat, infiltrate fat or adipose tissue located between muscles or in backfat. The quantity of intramuscular fat may also affect the lipid profile. According to Martínez-Álvaro, Blasco and Hernández (2017), rabbit meat with high intramuscular fat showed low PUFA and MUFA content in comparison with rabbit meat with low intramuscular fat. Both facts might explain the differences seen in the main FA groups between loin fillets and patties. To understand these differences, it should be noted that rabbit meat of high fat infiltration had more acylglycerides and low PUFA percentage compared with the meat of lower fat infiltration, because in the former the triglycerides are richer in SFA and MUFA to the detriment of the PUFA-rich phospholipid content (Martínez-Álvaro *et al.*, 2017). The incipient lipid oxidation seen in the raw patties may have produced a decrease in PUFA by reacting their double bonds with oxygen molecules, so it is possible that patty manufacturing conditions promoted PUFA loss. In addition, the level reached in PUFA degradation may also depend of meat storage conditions (packaging conditions, time and temperature of freezing, etc.). Hernández *et al.* (1999) studied the effect of frozen storage on lipid in raw pig meat and informed of a significant decrease in total PUFA and, in particular, C18:2 n-6, from the phospholipid fraction after 6 months of frozen storage (31.3 at day 0 of frozen storage to 30.1 at 180 of frozen storage). This may explain why our patties had a lower proportion of C18:2 n-6 than fresh loin (8.48 to 4.42 for control lambs).

Talking to account the information available in different studies, our data were also expressed as percentage or relative abundance of identified FA (g/100g FA). The percentage of the main groups and total FA are shown

in **table 38**. The raw patty fat from the indoor and grazing groups was composed of SFA (49.89 % and 45.92 %), MUFA (42.79 % and 45.82 %) and PUFA (7.35 % and 8.26 %). The lamb fat from grassfed ewes had higher ($p<0.05$) percentages of MUFA, while the differences in the percentages of SFA and PUFA were not significant ($p>0.05$) in raw patties. In contrast, both CLA (0.40 % and 0.54 %) as PUFA n-3 (0.86 % and 1.24 %) percentages increased with ewe grazing. Our values were slightly higher than those reported by Rhee *et al.* (2003) on fresh leg patties from lambs fed on pasture: 41.11 % SFA; 47.96 % MUFA and 10.93 % PUFA, and with lambs fed with concentrates: 40.64 % SFA; 49.56 % MUFA and 9.80 % PUFA. As in our study, no differences were found in the SFA, while the differences in MUFA and PUFA were slight, although the authors do not explain the reason. This agrees with our results where no differences were found for the main FA groups. The percentage of PUFA was lower than those obtained in grainfed light lamb loin by Nieto (2013) (15.1 %) and Blanco *et al.* (2017) (13.34 %), possibly because the previous oxidation occurred during patty processing. The proportion of SFA was high in our study (49.86 %) than those reported for grainfed light lamb loin: Nieto (2013) (around 46 %), Blanco *et al.* (2017) (47.11 %), Díaz *et al.* (2017) (41.4 %). Finally, the percentage of MUFA in our study (42.79 %) was intermediate compared with Blanco *et al.* (2017) (34.65 %), Nieto (2013) (around 53 %) or Díaz *et al.* (2017) (45.9 %) in loins from lambs fed with concentrate. To justify these differences, it should be noted that the above studies were made on intramuscular loin fat. Regarding nutritional indexes, TI and AI value were similar to those reported in others studies such as Selani *et al.* (2016) in conventional beef burger: AI (0.48 g identified FA/100 g Fat), TI (1.04 g identified FA/100 g fat). N-6/n-3 was lower than other studies reported in conventional beef patties: Selani *et al.* (2016) (27.34 %). The PUFA/SFA ratio was lower to the range (0.4-0.5) (McAfee *et al.*, 2010) recommended for preventing an excess consumption of dietary SFA- with a possible negative effect on the LDL cholesterol plasmatic level (Stajić, Živković, Perunović, Šobajić and Vranić, 2011). The n-6/n-3 ratio achieved in our study though ewe grazing was 6.3, a value close to that (4) recommended in the human diet for good cardiovascular health (Molendi-Coste, Legry and

Leclerqu, 2011), and were quite similar to those obtained in autumn lamb loins (8.80 and 6.46 in indoor and grazing groups). In general, our study suggest that the nutritional improvements achieved by maternal grazing on lamb loins are maintained in raw patties (with higher fat content), so we expect that the improvement obtained in raw meat (better fatty acid profile in lambs from grazing ewes) can be retained in the cooked meat.

Table 37.

Effects of the maternal rearing on the fatty acid profile (g FA/ 100 g fat) of raw lamb patties.

g FA/100g fat	Indoors		Grazing		P-values	
	M	SEM	M	SEM		
C10:0	0.25		0.19		0.01	
C12:0	0.43		0.32		0.03	
C14:0	4.23		3.45		0.29	
C14:1	0.32 ^a		0.23 ^b		0.02	*
C15:0	0.50		0.46		0.03	
C16:0	18.70		16.94		0.70	
C16:1	1.47 ^a		1.01 ^b		0.09	*
C17:0	1.54		1.30		0.12	
C17:1	0.83		0.79		0.08	
C18:0	9.10		8.80		0.32	
C18:1 n-9	27.87		30.87		1.16	
C18:2 n-6	3.90		4.30		0.21	
C18:2t n-6	0.13 ^b		0.26 ^a		0.04	*
C18:3γ n-6	0.04		0.04		0.00	
C18:3α n-3	0.26 ^b		0.47 ^a		0.03	**
C20:0	0.06		0.05		0.00	
CLA	0.34 ^b		0.39 ^a		0.03	*
C20:3 n-6	0.06		0.05		0.00	
C20:4 n-6	0.98 ^a		0.73 ^b		0.05	*
C20:5 n-3	0.06		0.09		0.00	
C22:4 n-6	0.11 ^a		0.08 ^b		0.00	**
C22:5 n-3	0.17		0.19		0.01	
C22:6 n-3	0.08		0.08		0.00	
ΣSFA	31.75		28.51		1.21	
ΣMUFA	27.45		29.74		0.74	
ΣPUFA	5.30		5.77		0.32	
Total FA	64.44		64.28		2.01	
N-3	0.56 ^b		0.80 ^a		0.05	*
N-6	4.82		5.01		0.20	
N-6/N-3 ¹	8.69 ^a		6.30 ^b		0.48	*
UI ²	42.18		45.21		2.32	
AI ³	0.99 ^a		0.83 ^b		0.83	*
TI ⁴	1.61 ^a		1.32 ^b		0.00	***
S/P ⁵	0.88 ^a		0.79 ^b		0.00	*
PUFA/SFA	0.17 ^b		0.20 ^a		0.00	*

Abbreviations: M: mean; SEM= standard error of the mean. P: probability; SFA: saturated fatty acids; MUFA: unsaturated fatty acids; PUFA: polyunsaturated fatty acids. UI: unsaturation index; S/P: Saturation index; AI: atherogenic index; TI: Thrombogenic index CLA: C18:2 c9t11 + c11t9; t: trans; c: cis.). n-6/n-3 =Σ n-6 PUFA/Σ n-3 PUFA. ^a ^b Ewe rearing effects for *** (P < 0.001); ** (P < 0.05); * (P < 0.01). Quantification limit (LoQ): 0.01 g/ 100 g fat.

Table 38.

Effects of maternal rearing on the fatty acids profile (%) of raw lamb patties.

Fatty acids (%)	Indoors		Grazing		P-values
	M	SEM	M	SEM	
ΣSFA	49.23		44.34	0.82	
ΣMUFA	42.57 ^a		46.27 ^b	0.78	*
ΣPUFA	8.29		8.97	0.24	
N-3	0.86 ^a		1.24 ^b	0.06	***
N-6	7.48		7.79	0.24	
Total CLA	0.40 ^b		0.60 ^a	0.05	*

Abbreviations: *M*: mean; *P*: probability; *SEM*= standard error of the mean; *SFA*: saturated fatty acids; *MUFA*: unsaturated fatty acids; *PUFA*: polyunsaturated fatty acids; *CLA*: conjugated Linoleic acid. ^a, ^b Ewe rearing effects; Levels of significance: *** (*P* < 0.001); * (*P* < 0.05); * (*P* < 0.05).

5.3.1. COOKED LAMB PATTIES

Lamb cooked patties were analysed in order to: i) to establish proximate composition and oxidative stability ii) to assess the effects of two cooking method (sous vide “SV” and grilling “G”) and hot-catering conditions (at 65 °C for 4 h) on lamb fat from the two rearing systems.

1. Moisture, fat content and cooking loss

The average percentages of total fat, total moisture content and cooking losses of cooked patties are shown in **table 39**. In overall, both cooking methods (SV and G) did not affect either the chemical composition and weight losses, although cooking temperature used in the hot water bath (SV) and the hot plate (G) were different (75 °C and 150 °C, respectively), while, by contrast, hot catering affected the chemical composition and weight losses ($P<0.001$). As seen, keeping the patties under 65 °C for 4 h decreased moisture content and increased fat content and weight losses due to the additional dehydration of samples.

As seen repeatedly and according to the data obtained in the raw patties, maternal rearing hardly affected the chemical composition of cooked patties. Therefore, moisture differences seen between raw patties from both treatments were ruled out as biases. Moreover, cooking method did not affect fat content of cooked lamb patties. As already mentioned, the fact that all the lambs were reared indoors did not produce relevant differences in meat fattening, which was reflected in the cooked lamb patties. In agreement with our results, there are some studies that did not found any differences on chemical composition in cooked lamb patties with different dietary interventions, such as Serrano, 2014; Ortuño *et al.* (2015^b) or Andrés *et al.* (2014) who also reported no differences in cooking losses in cooked patties from lambs supplemented with flaxseed or quercitin by oven-dried at 55 °C for at least 72 h.

Concerning to cooking methods, the literature indicates that a more intense cooking, such as G (with high temperatures), can increase cooking losses and moisture content (Park, Lee, Oh, Kim and Choi, 2020). We expected that SV cooking patties showed low cooking losses because SV is a type of cooking who use low temperatures. In general, low-cooking temperatures minimize coagulation of heat-sensitive proteins unlike other cooking methods, especially grilling (Dominguez-Hernandez, Salaseciviene and Ertbjerg, 2018). However, in our study, no differences were found between cooking method (SV and G) probably because SV cooking implies a thermal treatment of longer duration. Our data values in both cooking methods (SV and G) partially agree with result obtained for grilled beef (32, 6 %) (Alfaia *et al.* 2010); SV and oven roasting lamb loin (23.7 % and 35.7 %) (Roldán *et al.*, 2015); or G lamb patties (31.24%) (Suleman, Huit, Wang, Liu and Zhang (2019) where a similar core temperature was reached in the meat (72 °C), as well as on SV and roasted rabbit meat (20.12% and 32.12%, respectively) (Rasinska, Rutkowska, Czarniecka-Skubina and Tambor, 2019). For example, Rasinska *et al.*, (2019) informed that SV rabbit meat reduced cooking loss and preserved meat juiciness compared to G or boiled rabbit meat, although they reached the same internal temperature than in our study (72 °C). Everything point that this difference might be explained by the combination of cooking temperature and the time to reach internal temperature. In the study of Rasinska *et al.*, (2019), boiled rabbit meat was cooking during 20-23 min until the internal temperature was reached at 75 °C. For G, rabbit meat was cooked at 180 °C for approximately one h, until internal temperature 75 °C was reached; while for SV, rabbit meat was cooked for 2.5 h at 72.5 °C. In our study, the G patties reached internal temperature after cooking at 150 °C for to 2 min; while the SV patties needed 35 min at 75 °C to reach 72 °C. So, it is possible that the duration of G was not sufficient (2 min) to make a huge weight loss or the longer duration of SV cooking contributed to balance weight losses.

Additional weight losses occurred ($p<0.001$) during hot catering which affected the relative proportion of total fat and moisture in the cooked patties from any treatment. Although there are scarce studies analysing the effect of cooked/hot-hold meat for long time, previous studies have also

detected greater weight loss a consequence of heating (Roldán *et al.*, 2013; Sánchez del Pulgar *et al.*, 2012). Cooking losses depend on cooking methodologies and meat properties such as size, moisture, fat content and composition (Alfaia *et al.*, 2010). As expected, keeping the patties at 65 °C during 4 h (catering conditions) decreased moisture content and indirectly increased total fat ($P<0.05$) due to the additional weight losses and dehydration in patties. Myofibrillar proteins hold most of water within the muscle. An increase of temperature between 40-90 °C causes denaturation of muscle proteins (Vaudagna *et al.*, 2002). Moreover, muscle fibres may also suffer shrinkage of collagen when heated until 60 °C that causes a substantial water loss (Roldán *et al.*, 2013). So keeping the patties under catering conditions decrease the moisture content, because causes extra moisture loss via evaporation and the release of excess juice inside patties (Li, McKeith, Shen and McKeith, 2017).

Our study suggests that, although the cooking method is different (SV vs. G), the cooking time is very important. Although G seems (supposedly) a more intense heating treatment due to reached temperature (150 °C), if cooking time is short and internal temperature are similar, the same results for chemical composition are obtained as with low-temperature cooking methods such as SV.

Table 39.

Effects of the maternal rearing and meat preparation (cooking + catering) on the moisture content, total fat content and cooking loss of lamb patties.

		Indoors M	Grazing M	SEM	D P-values	Co ***	Ca ***	CoxCa ***
Moisture (%)	SV	64.26	64.81	0.31				
	G	64.05 ^a	62.42 ^b	0.41	*			
	SV+Ca	53.74	52.36	0.46				
	G+Ca	54.88	53.08	0.61				
Total fat (%)	SV	9.67	10.02	0.28				
	G	9.04	9.70	0.19				
	SV+Ca	12.55	13.45	0.45				
	G+Ca	12.38	13.42	0.53				
Cooking loses (%)	SV	25.95	26.55	0.76				
	G	28.24	28.77	0.73				
	SV+Ca	45.09	43.63	0.68				
	G+Ca	45.92	46.14	0.45				

Abbreviations: M: Mean; SEM: Standard Error of the Mean; P: probability; SV: Sous Vide; G: Grilling; Diet; Co: Cooking; Ca: Catering. ^{a,b} Ewe rearing effects; Levels of significance: *** (P < 0.001); * (P < 0.05); * (P < 0.05).

2. Oxidative stability

The effects of maternal grazing on the oxidative stability (TBARS and colour CIELab) of cooked patties are shown in **table 40**. The TBARS value varied from 0.36 to 1.74 mg MDA/kg meat, which corresponded to the indoors SV patties and the grazing G+CA patties. Maternal grazing did not affect any oxidative parameter of cooked lamb patties (TBARS and colour CIELab). As seen previously, raw patties showed incipient oxidation and there were slightly higher TBARS values than those found in fresh loin (0.05 mg MDA/kg meat). Cooking deactivates the inherent antioxidant protection systems in muscle and results in the denaturation of proteins and disruption of membranes which, in turn, release pro-oxidant metal ions (Igene, King, Pearson, and Gray, 1979). Considering that meat was thawed, minced, cooked, kept at catering on a hot, the observed increases of TBARS values were expected. The limiting threshold for oxidized meat acceptability (2 mg MDA/ kg meat) (Campo *et al.*, 2006) was not exceeded in the cooked patties from any treatment, although the G+CA patties reached proximate values (1.74 mg MDA/ kg meat). Regarding the cooking method, SV decreased lipid oxidation compared with G. This effect was also maintained in patties kept in catering, regardless of the diet of the sheep, indicating that SV can be a valid alternative to reduce the oxidation in the ready-to-eat lamb meat. Lipid oxidation was significantly affected by cooking method, catering ($P < 0.001$) and the interaction between cooking and catering ($P < 0.001$). However, as seen, the SV cooked patties had lower lipid oxidation levels after cooking and, in particular after catering, than the grilled patties.

According to the results obtained in this thesis, maternal grazing did not improve meat stability (raw and cooked). Some studies corroborate that ewe or lamb diet rich in antioxidants improves oxidative stability. However, the lack of differences might be explained by different possible hypothesis: i) feeding Lucerne pellets by indoors ewes may contribute to increase the intake of polyphenols balancing the possible differences between both ewe diets; ii) polyphenol accumulation in lamb muscle is not sufficient to exert

any technological effect on meat in the tested conditions; or iii) the higher accumulation of more unsaturated PUFA (specifically C18:3 α n-3) in lamb meat fat through ewe grazing compensates a possible higher intake of antioxidants from grazing plants, resulting in a meat with similar lipid oxidation levels. Our results disagree with Rhee *et al.* (1997), who analysed the effect of oxidative stability on cooked patties from goat feed with grain diet and pasture. They informed that TBARS values were lower for the grassfed than for the grainfed goat meat, as a consequence of polyphenols intake with the grass. Further studies, such as Rhee *et al.* (2003), also analysed the effect of feeding system (high-concentrate, pellets of oat and barley and pasture) on the oxidative stability of leg lamb patties. They informed that cooked patties from lambs fed with pellets showed higher levels of TBARS at 3 days of storage than the rest of dietary treatments. Similar results were reported by others authors such as, Nieto, Estrada, Jordán, Garrido and Bañón, (2011), Ortúñoz *et al.* (2019) or Serrano *et al.* (2014) on cooked lamb meat.

The development of lipid oxidation reactions in cooked meat depends on many factors such as heating (increases lipid oxidation) (Broncano *et al.*, 2009), temperature, method and time duration of cooking (Roldán *et al.*, 2014). Using low cooking temperatures with the exclusion of oxygen, as succeeds with SV, reduces meat oxidation (Sánchez del Pulgar, Gazquez and Ruiz-Carrascal, 2012). Broncano, Petron, Parra and Timon (2009) reported huge differences in lipid oxidation values in pork meat cooked by different methods (grilled, fried, microwave and roasted). Sánchez del Pulgar *et al.* (2012) also reported lower TBARS values in samples cooked at higher temperatures (60 °C or 80 °C) and long-time (5 or 12 h), while Roldán, Antequera, Armenteros, and Ruiz (2014), informed that the increase in TBARS was much higher in SV lamb loin cooked at 60 and 70 °C (2.3 and 2.45 mg MDA / kg respectively) than in those cooked at 80 °C (1.14 mg MDA/ kg).

In agreement with results obtained for TBARS, ewe rearing did not affect the CIELab colour of cooked patties, despite both cooking as catering ($P<0.05$) resulted in some colour differences. Basically, the SV method

provided cocked patties of slight lower lightness and slightly higher redness compared to grilling. To rule out possible biases, colour was measured perpendicular to the patty surface, on three different locations per patty, and the mean value for each patty was used in data analysis. In general, our results agree with Serrano *et al.* (2014) on cooked lamb patties (L^* : 51.2; b^* : 7.74; a^* : 12.5, C^* : 14.7 and H^* : 31.9). Patty catering clearly decreased the values of L^* , and b^* in lamb cooked patties ($P<0.05$) because meat darkening. Redness was quite affected by cooking and catering. The value of a^* in the cooked meat is inversely related to the degree of denatured myoglobin (Roldán *et al.*, 2013). This process occurs between 55 °C and 65 °C and even it can continue still 75° C or 80 °C (King and Whyte, 2006), thus, an increase in cooking temperature may enhance myoglobin degradation. Moreover, hot catering led to lower L^* of lamb patties, most likely due to a higher denaturation and aggregation of sarcoplasmic and myofibrillar proteins (Christensen *et al.*, 2011). The G+CA patties had the lowest L^* and C^* values, indicating that the combination of G and catering altered patty colour (worst C^* values) in a greater extent than in the SV+CA patties. As informed by Shahidi, Samaranayaka and Pegg (2014), during catering patties suffered a desiccation on meat surface, so it can reduce the light reflectance and promote Mallard reactions, thus explaining the darkening of meat during catering exposure.

In our study, maternal grazing was not resulted effective in delaying lipid oxidation of the cooked lamb patties obtained under strongly oxidizing conditions, including hot catering. This was expected, since no antioxidant effects of ewe grazing were found in raw patties. As commented, in *Segureña* sheep traditional rearing, based on a rotating pattern of grazing, the possible higher intake of dietary antioxidants and unsaturated lipids from graze plants seems to be balanced. Furthermore, it is possible that most of the antioxidants deposited in lamb muscle degraded before cooking, increasing their susceptibility to lipid oxidation (Dal Bosco, Castellini, and Cardinali, 2005) or that the potential activity of endogenous antioxidants were limited by heat effects (Nieto *et al.*, 2011). Whatever the case, none of the above studies with dietary antioxidants contemplate possible changes in the saturation degree of the dietary lipids ingested by the animals. In view of

the results obtained in raw and cooked meat, antioxidant strategies should be adapted to the possible changes in meat composition provide by grazing practices.

Table 40.

Effects of the maternal rearing and meat preparation (cooking + catering) on the values of Thiobarbituric Acid Reagent Substances “TBARS” (mg MDA/kg) and CIELab colour of lamb patties.

		Indoors	Grazing	D	Co	Ca	CoxCa
		M	M	SEM	P-values		
TBARS	SV	0.36	0.41	0.04			
	G	0.56	0.56	0.04	***	***	***
	SV+Ca	0.76	0.87	0.07			
	G+Ca	1.42	1.74	0.12			
L*	SV	55.20	54.35	1.90			
	G	52.27	54.35	1.60	*	***	
	SV+Ca	38.37	40.06	1.23			
	G+Ca	36.69	39.52	1.40			
a*	SV	9.98	10.10	0.27			
	G	8.90	8.33	0.19	***	**	
	SV+Ca	10.74	11.75	0.84			
	G+Ca	9.55	9.23	0.28			
b*	SV	13.43	12.10	0.53			
	G	13.67	10.61	1.10			**
	SV+Ca	10.94	9.22	1.40			
	G+Ca	10.48	8.55	1.53			
Hue*	SV	53.34	49.89	1.10			
	G	56.22	54.48	1.55			***
	SV+Ca	44.89	35.75	3.80			
	G+Ca	45.81	37.68	5.30			
Chroma*	SV	16.40	15.47	0.51			
	G	16.75	14.44	0.55	*	*	
	SV+Ca	15.47	15.31	1.30			
	G+Ca	14.44	13.09	1.05			

Abbreviations: M: Mean; SEM: Standard Error of the Mean; SV: Sous Vide; P: probability; G Grilling; D: Diet; Co: Cooking; Ca: Catering. ^{a, b} Ewe rearing effects; Levels of significance: *** (P < 0.001); * (P < 0.05); * (P < 0.05).

3. Fatty acid profile

The fatty acid profile in cooked patties was analysed to corroborate if the improvements obtained in the fatty acid profile were maintained after patty cooking and catering, as succeeds for ready-to-eat meat products consumption. The effects of ewe rearing on the FA content of lamb cooked patties are shown in **table 41 and 42**. A total of twenty three FA were detected in the cooked patties (before and after catering), being the C18:1 n-9, C14:0, C16:0, C18:2 n-6 and C18:0 the most abundant FA, in agreement with raw patties and with other studies con cooked light lambs legs (Campó *et al.*, 2013). The effects of maternal grazing seen in the raw patty FA practically reproduced in the cooked patties just after cooking and after catering with some exceptions. The cooked-catered lamb patties from grassfed ewes had, on one hand, lower levels in fat of C12:0 (G+Ca), C14:0 (SV+Ca and G+Ca), C15:0 (G), C14:1 (all except G), C16:1, C18:2 n-6 (SV), C20:4 n-6 (all except G+ Ca) and C20:4 n-6 (G), and, on the other hand, higher levels in fat of C18:1 n-9 (SV and G), C18:2t n-6 (all except G+Ca), C18:3 an-3, total CLA ($c9t11 + c11t9+t10c12$) (all except G+Ca), C20:5 n-3, C22:5 n-3 (SV) and C22:6 n-3 (all except G+Ca), total PUFA n-3 and total PUFA (SV and G) and total FA (SV and G). No differences among the grazing and indoor groups were found for rest of individual FA and FA groups. Regarding nutritional index, patty cooked lamb fat from grassfed ewes had greater n-6/n-3, AI, TI, and S/P ratios and lower UI (SV and G) and PUFA/SFA ratio. Furthermore, the n-6/n-3 ratio was lower again in lamb fat from grazing ewes, regardless of cooking method and catering conditions used. This reduction in n-6/n-3 ratio through grazing was similar to those reported in meat using pasture or PUFA n-3 enriched diets, such as Facciolongo *et al.* (2018), Lestingi *et al.* (2016), Boughalmi and Araba (2016); raw lamb; Cardenia *et al.*, (2015) in raw beef and higher than Sarriés, Murray, Moloney, Troy and Berian (2009) in cooked beef.

The levels of total FA in lamb fat suffered a strong decrease with the successive thermal treatments, with cooking having a higher FA degradation than hot catering. Grilling and SV cooking had no relevant ($p>0.05$) effects

on the level of total FA in the freshly-cooked patties. The decrease in the levels of total FA was more pronounced in the G than in the SV patties after catering probably due to further lipid oxidation occurred during cooking, which is accumulated with catering (Ortuño *et al.*, 2019). Therefore, the combination of grilling and hot catering resulted in a higher ($p<0.01$) degradation of lamb FA. In view of lack of significant cooking effects on the PUFA, the most oxidizing FA, observed in the freshly-cooked patties, it was stated that FA losses as result of both heating treatments were similar.

The cooking method did not affect ($P>0.05$) the level of the individual FA (except for C14:1 and C15:0), total SFA, total MUFA, total PUFA and n-6/n-3, UI, AI, TI and S/P ratios, in agreement with Maranesi *et al.* (2005), who no differences were found on n-6/n-3 ratio, SFA, MUFA and PUFA n-3 in lamb rib-loins cooked by microwaving or boiling. Moreover, no differences in total SFA, total PUFA, PUFA n-6, PUFA n-3, n-6/n-3, P/S, AI and TI ratios were found between roasted and grilled on cooked leg lamb patties (Campو *et al.*, 2013). As expected, keeping the patties under hot catering markedly changed the levels in fat of almost all FA and FA classes of patties. Cooked patty catering decreased the amount of several individual SFA (C16:0, C17:0, C18:0), MUFA (C14:1, C18:1) and PUFA (C18:2 n-6, C20:4 n-6, C20:5 n-3, C22:3 n-6, C22:4 n-6 and C22:5 n-3), as well as of total SFA, total MUFA, total PUFA, n-3, n-6 and total FA. The nutritional indexes AI, TI, S/P and PUFA/SFA were not affected by hot catering and the values of such indexes observed in the present trial agree with previous observations in cooked lamb (Flakemore *et al.*, 2017). **Figures 19, 20 and 21** showed the percentages of total SFA, MUFA and PUFA (g FA/100 g fat) in both raw and cooked patties.

As commented previously in raw meat, several studies who tested the effects of different diets enriched with PUFA on raw lamb meat with good results (Popova *et al.*, 2015; Boughalmi and Araba, 2016; Scerra *et al.*, 2011, 2009; Hajji *et al.*, 2016; Cividini *et al.*, 2014); and in cooked beef (Sarriés, Murray, Moloney, Troy and Beriain (2009)). However, the number of studies analysing the effect of grazing on cooked lamb meat is low, in particular, the trials focusing on the effects of ewe grazing in grainfed lamb meat. Luciano

et al. (2013) studied the effect of the supplementation of lamb diet with linseed, olive cake or the combination of linseed and olive cake and informed that lambs fed only with linseed diet increased the total PUFA content compared with animals fed the control diet (from 9.54 to 6.51 g/100g total fat). According to Sarriés, Murray, Moloney, Troy and Beriain (2009), feeding beef with linseed-oil supplemented and grazing showed high PUFA content on cooked beef. As seen, dietary studies on cooked meat than altering the fatty acid composition are scarce. It is interesting to take into account that cooking can affect the nutritional quality of meat. In this line, there are fewer studies than consider that some PUFA can be affected by cooking, such as Ha, Grimm and Pariza (1989), who reported that grilling increase the concentration of CLA in beef, due to CLA to be more susceptible to free radical attack than non-conjugated double bond systems (Giua, Blasi, Simonetti and Cossignani, 2013). Heating seems to affect some PUFA by different way. C₁₈:3α n-3 suffered huge degradation in established model under extreme conditions (230° C for 86 h) by Hénon, Kemény, Recseg, Zwobada and Kövari (1997). In this sense, C₁₈:3α n-3 degradation by heating promotes the formation of some C₁₈:3αn-3 geometrical isomers because this isomerization begins between 180 °C and 200 °C and increase with temperature and time of heating (Wolff, 1993). In our study, cooking (SV and G) did not affect total PUFA and individual FA such as C₁₈:3α n-3 and total CLA. In agreement with this, Sarriés *et al.* (2009) reported no changes in the relative distribution of fatty acids upon cooking (140 °C for 30 min) on cooked beef. In their study, cooking did not cause thermal degradation of PUFA or oxidative synthesis of CLA. In line with our results, Maranesi *et al.* (2005) or Alfaia *et al.* (2010) did not find any differences in the FA profile when beef meat was cooked by different methods (boiling, microwaving and grilling). In overall, cooking and catering did not affect the content of C₁₈:3αn-3, possibly because temperature reached during cooking and catering were lower than the necessary to promote the formation of C₁₈:3α n-3 isomers (180 °C). Long-chain fatty acids (LC-PUFA) are unstable and heat treatment induces a number of chemical transformations, such as oxidation and polymerization. In our study, some LC-PUFA (C₂₀:4 n-6; C₂₀:5 n-3; C₂₂:4 n-6 and C₂₂:5 n-3) were also affected by catering

conditions, but not for the cooking method. Similar results were reported by Fournier *et al.* (2006) during fish oil deodorization and reported that under high temperatures (220 and 250 °C), n-6 LC-PUFA as 20:4 n-6 and 22:5 n-6, are less prone to thermal degradation than all other n-3 LC-PUFA . In contrast, some studies *in vitro* reported C18:2 n-6 deterioration in some oxidative conditions: at 30 °C in the dark (Luna, Juárez and de la Fuente (2007), or in an oil bath at 180° C for 15, 30, 45 and 60 min (Guia, Blasi, Simonetti and Cossignani, 2013). In agreement with this, Rasinska, Rutkowska, Czarniecka-Skubina, and Tambor (2019) informed that roasting resulted in a greater loss of C18:2 n-6 in cooked rabbit meat, than boiling or SV cooking, possibly due to the decomposition of C18:2 n-6 at higher temperature gradient reached in roasting (180 °C) than in boiling or SV (up to 100 °C) (Giua *et al.*, 2013). It seems that C18:2 n-6 is more susceptible to lipid oxidation than C18:3 αn-3. In line with the above, it is possible that the C18:2 n-6 content in our patties was also slightly degraded due to catering conditions (65 °C for 4 h). Although the catering temperature was not excessive (65 °C), the patties were exposed for 4 h, which could lead to the formation of oxidized lipids. Moreover, the content of C18:2 n-6 was affected by catering ($P>0.01$), while C18:3 α n-3 content was not affected by such treatment. These differences might explain the decrease on the total PUFA content between freshly cooked and catering samples. Total n-3 and n-6 were affected by catering conditions; however, n-6/n-3 ratio was not affected. It seems that the decreased of n-3 and n-6 were more pronounced in the cooked patties from the indoor group (regardless cooking method); moreover it is possible that the parallel decreases in n-3 and n-6 balanced the n-6/n-3 ratio.

Surprisingly, G did not change the fatty acid profile and the main FA groups. It has been seen that SV cooking might delay the oxidation of PUFA due to the evacuation of oxygen (Rasinska *et al.*,2019). Our results disagree with Campo *et al.* (2013) who found an increment in some FA groups with different methods of cooking (stewing, grilling or roasting) on the nutrient composition of Spanish light lamb. Gerber, Scheeder, and Wenk (2009) reported significant decreases in total SFA, total MUFA and total PUFA contents as a consequence of the loss of melting fat during cooking (grilling,

braising and boiling). Similarly, both, Ono, Berry, and Perozczay (1985) in ground beef and Scheeder, Casutt, Roulin, Escher, Dufey and Kreuzer (2001) in beef patties, found a significant decrease of total SFA and an increase of total PUFA with cooking. Our results suggest that using either grilling at 150 °C for 2 min or vacuum-cooking at 75 °C for 20 min similarly affect fatty acid composition (especially, C18:2 n-6 PUFA) when the patties reached the same internal temperature (72 °C). In both of the thermal treatment methods used in this study, the internal temperature did not exceed 72 °C, so it is possible that the lamb patties were heated under relatively mild conditions.

Kept meat at 65 °C for 4 h decreased some individual FA content, especially PUFA. PUFA are incorporated in the membrane structure to a greater extent than SFA, which are more concentrated in the triglycerides fraction (Nudda *et al.*, 2013). These changes in FA composition may be explained by the loss of melted fat during cooking, which regards mainly triglycerides of adipose tissue with relatively more SFA than unsaturated FA. There are few studies that analysed the effect of catering on the lipid profile of cooked meat. Ortuño *et al.*, (2019) reported an intense PUFA degradation in control lamb patties compared with patties from lambs supplemented with vitamin E or rosemary diterpenes stored at 4 °C for 2 days. In this sense, the contribution of natural antioxidants through the diet may play an important role in protecting PUFA against oxidation. Our catering conditions imply strong oxidizing conditions and may be compared to other studies carried out on re-heated meats.

Our results suggest that the improvement obtained by maternal grazing was kept in the cooked lamb products such as patties consumed before and after a catering service. In agreement with TBARS results, the combination of G+Ca might have excessively enhanced lipid oxidation in cooked lamb reflected in the loss of C14:1 or the decrease of total PUFA, total n-3 and total PUFA n-6, so that its nutritional quality deteriorates more quickly than in the SV cooked meat. In this sense, SV is a valid alternative for collective catering environments (buffets or ready-to eat)

since it allows maintaining the nutritional qualities of cooked meat with an improved FA profile.

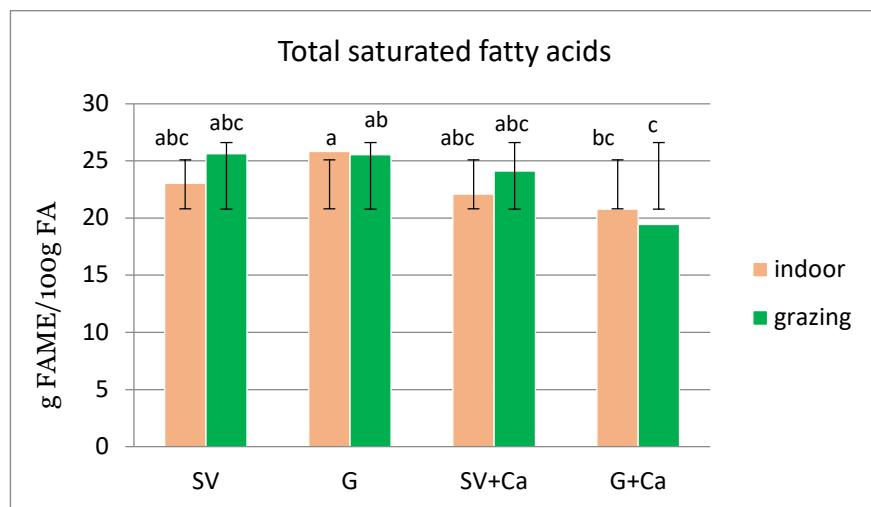


Figure 19. Total saturated fatty acids in raw and cooked lamb patties (g FAME/ 100 g FA).

Abbreviations: SV: freshly sous vide patties, G: freshly grilled patties, SV+Ca: catering sous vide patties; G+Ca: catering grilled patties.

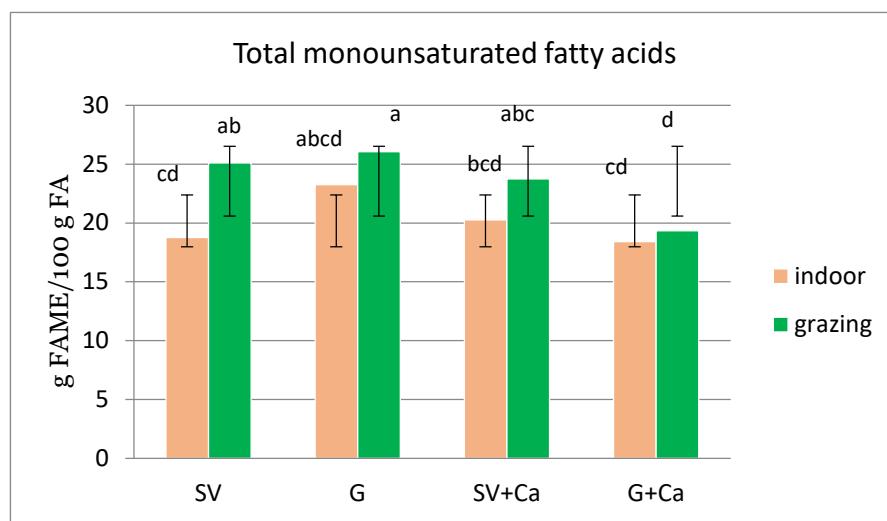


Figure 20. Total monounsaturated fatty acids in raw and cooked lamb patties (g FAME/ 100 g FA).

Abbreviations: SV: freshly sous vide patties, G: freshly grilled patties, SV+Ca: catering sous vide patties; G+Ca: catering grilled patties.

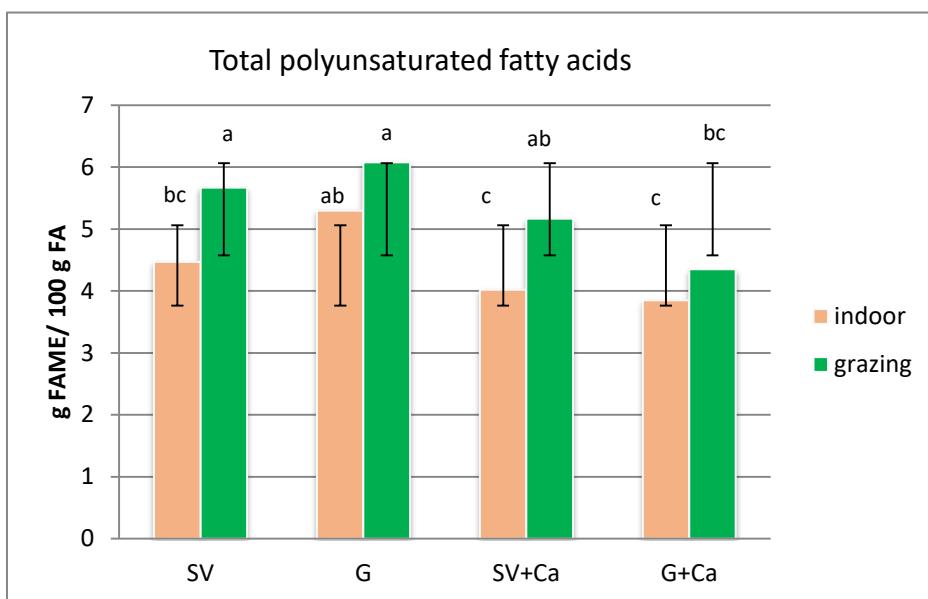


Figure 21. Total polyunsaturated fatty acids in raw and cooked lamb patties (g FAME/100 g fat).

Abbreviations: SV: freshly *sous vide* patties, G: freshly grilled patties, SV+Ca: catering *sous vide* patties; G+Ca: catering grilled patties

Table 41.

Effects of the maternal rearing and meat preparation (cooking + catering) on the fatty acid profile (g FA/100 g fat) of cooked lamb patties.

g FA/100g fat		Indoors	Grazing	D	Co	Ca	Co*Ca
		M	M	SEM	P-values		
C10:0	SV	0.17	0.15	0.01			
	G	0.14	0.17	0.01			
	SV+Ca	0.15	0.14	0.00			
	G+Ca	0.14	0.12	0.01			
C12:0	SV	0.32	0.24	0.02			
	G	0.30	0.24	0.02			*
	SV+Ca	0.28	0.20	0.03			
	G+Ca	0.26 ^a	0.18 ^b	0.02	*		
C14:0	SV	3.17	2.65	0.15			
	G	3.07	2.63	0.14			*
	SV+Ca	2.92	2.50	0.20			
	G+Ca	2.72	2.00	0.20			
C14:1	SV	0.26 ^a	0.17 ^b	0.02	*		
	G	0.39	0.37	0.01		***	***
	SV+Ca	0.24 ^a	0.14 ^b	0.02	*	***	***
	G+Ca	0.22 ^a	0.12 ^b	0.02	*		
C15:0	SV	0.38	0.38	0.01	*		
	G	0.14 ^a	0.09 ^b	0.01		***	***
	SV+Ca	0.36	0.36	0.02			
	G+Ca	0.33	0.29	0.02			
C16:0	SV	14.21	13.80	0.41			
	G	14.33	13.97	0.30			**
	SV+Ca	13.32	12.97	0.69			
	G+Ca	12.48	10.66	0.81			
C16:1	SV	1.29 ^a	0.90 ^b	0.07	*		
	G	1.25 ^a	0.92 ^b	0.06	**		
	SV+Ca	1.18 ^a	0.85 ^b	0.08	*		
	G+Ca	1.09 ^a	0.76 ^b	0.09	*		
C17:0	SV	1.19	1.48	0.10			
	G	1.20	1.26	0.08			*
	SV+Ca	0.83	1.43	0.12			
	G+Ca	0.96	0.92	0.10			
C17:1	SV	0.73	1.34	0.05			
	G	0.73	1.14	0.04			
	SV+Ca	0.70	1.29	0.07			
	G+Ca	0.62	0.83	0.05			
C18:0	SV	6.31	7.03	0.30			
	G	6.61	7.26	0.25			**
	SV+Ca	6.00	6.65	0.34			
	G+Ca	5.67	5.32	0.35			

		Indoors	Grazing		D	Co	Ca	Co*Ca
		M	M	SEM	P-values			
C18:1 n-9	SV	20.14 ^b	23.26 ^a	0.72	*			
	G	20.93 ^b	23.95 ^a	0.67	*			
	SV+Ca	19.71	22.00	1.22			**	
	G+Ca	18.12	17.86	1.23				
C18:2 n-6	SV	3.31 ^b	3.66 ^a	0.15	*			
	G	3.56	3.92	0.15			**	
	SV+Ca	2.79	3.40	0.26				
	G+Ca	2.85	2.87	0.20				
C18:2t n-6	SV	0.10 ^b	0.22 ^a	0.03	*			
	G	0.06 ^b	0.22 ^a	0.03	*			
	SV+Ca	0.07 ^b	0.19 ^a	0.03	*			
	G+Ca	0.08	0.14	0.02				
C18:3γ n-6	SV	0.03	0.03	0.00				
	G	0.03	0.03	0.00				
	SV+Ca	0.03	0.03	0.00				
	G+Ca	0.03	0.03	0.00				
C18:3α n-3	SV	0.20 ^b	0.38 ^a	0.03	***			
	G	0.21 ^b	0.39 ^a	0.03	***			
	SV+Ca	0.18 ^b	0.35 ^a	0.03	**			
	G+Ca	0.17 ^b	0.28 ^a	0.02	*			
C20:0	SV	0.04	0.04	0.00				
	G	0.04	0.04	0.00				
	SV+Ca	0.05	0.04	0.00				
	G+Ca	0.04	0.04	0.00				
CLA	SV	0.15 ^b	0.29 ^a	0.03	**			
	G	0.18 ^b	0.30 ^a	0.03	*			
	SV+Ca	0.16 ^b	0.25 ^a	0.02	*			
	G+Ca	0.14	0.18	0.02				
C20:3 n-6	SV	0.03	0.04	0.00				
	G	0.04	0.04	0.00			***	
	SV+Ca	0.03	0.03	0.00				
	G+Ca	0.03	0.03	0.00				
C20:4 n-6	SV	0.70 ^a	0.59 ^b	0.02	*			
	G	0.81 ^a	0.67 ^b	0.03	*			
	SV+Ca	0.64 ^a	0.51 ^b	0.03	**			
	G+Ca	0.60	0.46	0.04				
C20:5 n-3	SV	0.06 ^b	0.12 ^a	0.01	***			
	G	0.07 ^b	0.14 ^a	0.01	**			
	SV+Ca	0.05 ^b	0.10 ^a	0.01	**			
	G+Ca	0.05 ^b	0.09 ^a	0.01	*			
C22:4 n-6	SV	0.07	0.06	0.01				
	G	0.08 ^a	0.07 ^b	0.00	*			
	SV+Ca	0.06	0.05	0.00				
	G+Ca	0.06	0.05	0.00				

		Indoors	Grazing	D	Co	Ca	Co*Ca
		M	M	SEM			
C22:5 n-3	SV	0.15 ^b	0.19 ^a	0.01	*		
	G	0.19	0.21	0.01			***
	SV+Ca	0.14	0.17	0.01			
	G+Ca	0.13	0.15	0.01			
C22:6 n-3	SV	0.08 ^b	0.10 ^a	0.01	0.06		
	G	0.06 ^b	0.09 ^a	0.01	0.07		
	SV+Ca	0.05	0.07	0.00			
	G+Ca	0.07 ^b	0.09 ^a	0.00	*		

Abbreviations: M: Mean; SEM: Standard Error of the Mean; SV: Sous Vide; G: Grilling; H: Hot-holding. P: probability; c: cis; t: trans; ALA: *a*-Linolenic acid; GLA: γ -linolenic acid CLA: conjugated linoleic acid; LN: linoleic acid; RA: Rumenic acid; AA: arachidonic acid; EPA: eicosapentaenoic acid; DHA: docosahexaenoic acid; SFA: saturated fatty acids; MUFA: monounsaturated fatty acids; PUFA: polyunsaturated fatty acids; TFA: total fatty acids. UI: unsaturation index.

Σ n-3 PUFA = sum of C18:3 n-3, C20:5 n-3, C22:5 n-3 and C22:6 n-3.

Σ n-6 PUFA = sum of C18:2 n-6, C18:3 n-6, C20:2 n-6, C20:3 n-6, C20:4 n-6 and C22:4 n-6.

Σ SFA = sum of C10:0, C12:0, C14:0, C15:0, C16:0, C17:0, C18:0 and C20:0.

Σ MUFA = sum of C14:1, C16:1, C17:1 and C8:1 n-9.

Σ PUFA = sum of Σ n-3 PUFA and Σ n-6 PUFA

Σ TFA = sum of Σ SFA, Σ MUFA and Σ PUFA

UI: The sum of the percent usaturated Fas multiplied their number of double bonds

^{a, b} Ewe rearing effects; Levels of significance: *** ($P < 0.001$); * ($P < 0.05$); * ($P < 0.05$).

Quantification limit: (LoQ) (0.02 g FAME per 100 g fat).

Table 41. (Continued)

Effects of the maternal rearing and meat preparation (cooking + catering) on the fatty acid profile (g FA/100 g fat) of cooked lamb patties

		Indoors	Grazing	D	Co	Ca	Co*Ca
		M	M	SEM	P-values		
Total SFA	SV	25.83	25.67	0.73	**		
	G	25.87	25.58	0.59			
	SV+Ca	24.02	24.16	1.24			
	G+Ca	22.64	19.48	1.40			
Total MUFA	SV	22.35	25.11	0.74	**		
	G	23.25 ^b	26.04 ^a	0.69			
	SV+Ca	21.77	23.74	1.32			
	G+Ca	19.99	19.33	1.34			
Total PUFA	SV	4.69 ^b	5.35 ^a	0.18	***		
	G	5.07 ^b	5.74 ^a	0.20			
	SV+Ca	4.02	4.89	0.33			
	G+Ca	4.01	4.13	0.29			
Total FA	SV	52.94 ^b	56.33 ^a	1.41	**		
	G	54.30 ^b	57.59 ^a	1.27			
	SV+Ca	49.89	52.98	2.75			
	G+Ca	46.71	43.06	2.97			
N-3	SV	0.49 ^b	0.79 ^a	0.05	**		
	G	0.53 ^b	0.84 ^a	0.05			
	SV+Ca	0.43 ^b	0.71 ^a	0.06			
	G+Ca	0.40 ^b	0.58 ^a	0.05			
N-6	SV	4.21	4.56	0.16	***		
	G	4.54	4.90	0.17			
	SV+Ca	3.59	4.18	0.29			
	G+Ca	3.61	3.55	0.26			
N-6/N-3 ¹	SV	8.77 ^a	6.23 ^b	0.55	**		
	G	9.97 ^a	6.35 ^b	0.54			
	SV+Ca	8.23	6.30	0.53			
	G+Ca	9.30 ^a	6.38 ^b	0.53			
UI ²	SV	34.87 ^b	39.68 ^a	1.12	**		
	G	36.99 ^b	41.78 ^a	1.16			
	SV+Ca	32.69	36.95	2.03			
	G+Ca	30.68	30.45	2.06			
AI ³	SV	1.01 ^a	0.81 ^b	0.04	**		
	G	0.99 ^a	0.81 ^b	0.03			
	SV+Ca	0.93 ^a	0.76 ^b	0.03			
	G+Ca	0.87 ^a	0.62 ^b	0.03			
TI ⁴	SV	1.59 ^a	1.35 ^b	0.02	***		
	G	1.54 ^a	1.31 ^b	0.01			
	SV+Ca	1.58 ^a	1.36 ^b	0.02			
	G+Ca	1.59 ^a	1.35 ^b	0.02			

		Indoors		Grazing		D	Co	Ca	Co*Ca
		M		M		SEM	P-values		
S/P ⁵	SV	0.88	a	0.77	b	0.02	*		
	G	0.85	a	0.75	b	0.02	*		
	SV+Ca	0.86	a	0.77	b	0.02			
	G+Ca	0.87	a	0.77	b	0.02			
PUFA/SFA	SV	0.17	b	0.20	a	0.008	*		
	G	0.18	b	0.21	a	0.008	*		
	SV+Ca	0.20	b	0.22	a	0.010	*		
	G+Ca	0.17	b	0.20	a	0.007	*		

Abbreviations: M: Mean; SEM: Standard Error of the Mean; SV: Sous Vide; G: Grilling; H: Hot-holding. P: probability; c: cis; t: trans; ALA: α -Linolenic acid; GLA: γ -linolenic acid CLA: conjugated linoleic acid; LN: linoleic acid; RA: Rumenic acid; AA: arachidonic acid; EPA: eicosapentaenoic acid; DHA: docosahexaenoic acid; SFA: saturated fatty acids; MUFA: monounsaturated fatty acids; PUFA: polyunsaturated fatty acids; TFA: total fatty acids. UI: unsaturation index.

Σ n-3 PUFA = sum of C18:3 n-3, C20:5 n-3, C22:5 n-3 and C22:6 n-3.

Σ n-6 PUFA = sum of C18:2 n-6, C18:3 n-6, C20:2 n-6, C20:3 n-6, C20:4 n-6 and C22:4 n-6.

Σ SFA = sum of C10:0, C12:0, C14:0, C15:0, C16:0, C17:0, C18:0 and C20:0.

Σ MUFA = sum of C14:1, C16:1, C17:1 and C8:1 n-9.

Σ PUFA = sum of Σ n-3 PUFA and Σ n-6 PUFA

Σ TFA = sum of Σ SFA, Σ MUFA and Σ PUFA

UI: The sum of the percent usaturated Fas multiplied their number of double bonds

^{a, b} Ewe rearing effects; Levels of significance: *** ($P < 0.001$); * ($P < 0.05$); * ($P < 0.05$).

Quantification limit: (LoQ) (0.02 g FAME per 100 g fat).

Table 42.

Effects of maternal rearing on the fatty acids profile (%) of cooked lamb patties.

		Indoors	Grazing	D	Co	Ca	Co*Ca
		M	M	SEM	P-values		
Total SFA	SV	50.38	45.18	1.76			
	G	47.69	43.96	0.75			**
	SV+Ca	47.60	45.45	0.79			
	G+Ca	47.79	45.17	0.85			
Total MUFA	SV	40.26	45.30	1.90			
	G	43.17 ^b	46.06 ^a	0.07			**
	SV+Ca	43.62	45.22	0.89			
	G+Ca	43.61	45.26	0.80			
Total PUFA	SV	9.60 ^b	9.96 ^a	0.46	0.06		
	G	9.36 ^b	10.45 ^a	0.35	*		***
	SV+Ca	8.96	9.74	0.70			
	G+Ca	8.76	9.93	0.30			
N-3	SV	0.92 ^b	1.32 ^a	0.09	**		
	G	0.92 ^b	1.37 ^a	0.09	**		*
	SV+Ca	0.92 ^b	1.28 ^a	0.09	**		
	G+Ca	0.84 ^b	1.28 ^a	0.08	*		
N-6	SV	8.29	8.08	0.42			
	G	8.08	8.49	0.34			***
	SV+Ca	7.70	7.93	0.75			
	G+Ca	7.61	8.13	0.26			
Total CLA	SV	0.39 ^b	0.56 ^a	0.06	**		
	G	0.36 ^b	0.59 ^a	0.06	**		
	SV+Ca	0.34 ^b	0.53 ^a	0.06	*		
	G+Ca	0.31 ^b	0.52 ^a	0.06			

Abbreviations: M: mean; P: probability; SEM= standard error of the mean; SFA: saturated fatty acids; MUFA: unsaturated fatty acids; PUFA: polyunsaturated fatty acids; CLA: conjugated Linoleic acid. ^a, ^b Ewe rearing effects; Levels of significance: *** (P < 0.001); * (P < 0.05); * (P < 0.05).

4. Volatile oxidation compounds (VOC)

The relative abundances of volatile compounds from lipid oxidation (VOC) of cooked lamb patties fat are shown in **table 43**. A total of thirty-one VOC were determined in the lamb patties headspace by HS-SPME (in a quantitative decreasing order) including: 12 aldehydes, 5 alkanes, 3 hydrocarbons, 6 alcohols, 2 ketones, 1 terpenoid, 1 furan and 1 sulphur compounds. A total of twenty-four VOC were detected on freshly cooked patties; while in catering patties, only twenty were detected. Aldehydes were the predominant chemical family in both in freshly cooked patties (8 compounds) and catered patties (10 compounds). Ewe rearing had little influence of the VOC profile of cooked lamb, although increased ($p<0.05$) the relative abundance of 1-octanol and 1-penten-3-ol (G) and decreased the formation of 2-heptanal (SV+Ca). Therefore, our results pointed to that the changes in fat composition resulting of ewe diet were of little relevance to generate differences in the quantity on VOC present in the cooked lamb, since, as seen, maternal grazing did not prevent the oxidative deterioration of cooked and catered patties.

Regarding to cooking method, only the proportion of benzaldehyde ($P<0.01$) and limonene ($P<0.05$) were affected by maternal rearing. In agreement with the previous analysis, the pro-oxidizing conditions existing in meat under hot catering conditions led to increase the gradual formation of aldehydes and furans, while decreased the content of other chemical families, except sulphur compounds. No interactions between catering and cooking methods were reported for any VOC. The ratio hexanal/3-methylbutanal has been previously proposed as a way to assess the balance between lipid oxidative reactions and amino acids degradation in meat and meat products (Ruiz, Muriel and Ventanas, 2002). As seen in **figure 22**, this ratio was higher in the freshly-cooked patties than in the catered ones. This agrees with the results reported by Sanchez del Pulgar *et al.* (2013), who found a high ratio in SV samples on pork cheeks cooked a 60° during 5 h than in samples cooked at 80 °C during 12 h. It seems that keeping the

meat under heating conditions for a long time has a positive effect on the generation of compounds from the degradation of amino acids and the reaction of lipid oxidation with proteins, leading the decrease of the levels of reactive carbonyls from lipid oxidation (Zamora and Hidalgo, 2004). Aldehydes were the principal group of VOC observed in our samples, in agreement with results reported on cooked lamb meat by different cooking methods (Roldán *et al.*, 2015; Almela *et al.*, 2010; Gravador *et al.*, 2014). Furthermore, the type of volatiles found in our study showed a high degree of coincidence with others obtained in fresh lamb using HS-SPME (Lee, Waller, Melton, Saxton and Pordesimo, 2004; Vasta *et al.*, 2013; Gravador *et al.*, 2015^b) and agrees with other studies made on cooked light lamb meat (Roldán, Antequera *et al.*, 2014; Roldán *et al.*, 2015; Almela, 2010; Gravador *et al.*, 2015^b and Nieto, 2009).

Volatile compounds of cooked meat can be transferred from feeds ingested by animals into tissue as a consequence of ruminal transformations or from both Maillard reaction and lipid oxidation during heating (Mottram, 1998). Some fat volatile compounds have been indicated as tracers of animal feeding systems (Priolo *et al.*, 2004). For example, the presence of VOC such as 2,3-octanedione or 4-methylphenol are attributed to herbal diet; while the presence of branched fatty acids or lactones are usually detected at higher amounts in fat from grain-fed lambs (Vasta and Priolo, 2006). Few studies on ewe grazing that analysed the volatile compounds of cooked lamb patties are available in the consulted literature. Most of the previous studies tested the effect of pasture and concentrate diets are on heavy or mutton lambs (Vasta *et al.*, 2012; Sebastián *et al.*, 2003; Elmore *et al.*, 2005). One of the few studies on the effect of ewe rearing on grainfed light lambs were made by Almela *et al.* (2010), who reported some grazing markers such as phenol, 4-methylphenol and hexanoic acid on *Segureño* cooked lamb meat from grazing ewes. However, the VOC profile reported of cooked patties in our study differed substantially from those mentioned in the literature. Although, it found a grazing marker such as 2-3-octanedione (Vasta and Priolo, 2006), other important grazing marker such as volatile phenol or 4-methylphenol (Almela, 2010), were no found in our study. The lack of effects of pasture diet can be summarized as follow: antioxidant action of

polyphenols from ewe rearing was not enough to be deposited in the muscle for inhibiting lipid oxidation of cooked lamb meat, agreeing with TBARS and CIELab colour data. Other studies testing the effect of dietary supplementation with natural antioxidants have been shown to be useful in delaying the formation of VOC related to lipid oxidation. For example, the dietary supplementation with rosemary extracts contributed to inhibit VOC such as heptanal, octanal and 2-pentyl-furan, on raw lamb meat kept at 2° C for up to 14 days Ortuño *et al.* (2016). Similarly, Nieto *et al.* (2010) reported that the inclusion of thyme leaves in the diet of pregnant ewes decrease the formation hexanal values on cooked lamb meat. In contrast, Ahn, Sell, Chen, Wu and Le (1998), informed that dietary supplementation with dl-a-tocopheryl acetate (25, 50, 75, or 100 IU) was not enough to control lipid oxidation and off-odour generation in cooked turkey patties stored under aerobic conditions (stored a 4 °C for 7 days). In line with this, the activity of some dietary polyphenols can be affected by its absorption along the gastrointestinal tract and to its deposition in the tissues (Vasta and Luciano, 2011). Polyphenols can vary greatly in their chemical structure and properties and their molecular complexity seems to be the main factor limiting their bioavailability, since it has been seen that simple phenols being easily absorbed than complex polyphenols (Manach *et al.*, 2005). Moreover, the type of pasture can vary depending on the year, region, weather conditions, season, etc., which might explain the differences between our results and the results obtained by Almela (2010) for cooked *Segureña* light Segureño lamb.

The methodological differences, such as the cooking procedure and catering exposition, may have contributed to the differences observed in the results with respect to another research. VOC are produced though lipid oxidation, Maillard reaction or Strecker degradation (Mottram, 1998). In cooked meat, the vast majority of VOC derives from Maillard reaction and lipid degradation. Saturated and unsaturated aldehydes (6-10 carbons) (Mottram, 1998), are major volatile components in cooked lamb meat as in our study and other studies on cooked lamb (Gravador *et al.*, 2014; Rivas-Cañedo *et al.*, 2013; Roldán *et al.*, 2015). In raw and cooked meat, the main indicators of rancidity are aldehydes such as hexanal, octanal and nonanal

(Ortuño *et al.*, 2016). In our study, although our samples were cooked for a short time at relatively low temperatures (75 °C and 150 °C), aldehydes were the main group of VOC, being higher on catered patties. As seen in TBARS results, it is possible the differences between the cooking methods were due to the reduction of oxygen in the SV samples (Sanchez del Pulgar *et al.*, 2013). According with our results, aldehydes have also been observed in meats cooked at low temperatures and long times as a consequence of lipid oxidation, such as the SV-cooked lamb meat Roldán *et al.* (2015) or mild cooking combinations of pork cheeks (Sanchez del Pulgar *et al.*, 2013); while when meat is cooked at more severe conditions (80 °C for 12 h) the VOC compounds derived, mainly, from degradation of amino acids and/or thiamine (Sanchez del Pulgar *et al.*, 2013). Our results suggest that our cooking conditions were too mild to develop a huge lipid oxidation in agreement with results reported by TBARS on freshly cooked patties. In contrast, catering conditions increase the gradual formation of some aldehydes and other compounds related to Maillard reactions products and those of the Strecker degradation such as benzaldehyde or 3-methylbutanal. During catering, our samples suffered certain surface darkening (as seen on **figure 23**), the most exposed to oxidation and dehydration processes, in agreement with results obtained for TBARS and CIELab colour (lower L* and b*). Similar results were also reported by Sánchez del Pulgar *et al.* (2012), who informed the same progression of lipid oxidation (high TBARS value) in SV pork cooked at 60 °C for 12 h, compared with pork cooked at 80 °C for 12 h. Roldán *et al.* (2014) informed high TBARS value in SV lamb loin cooked at 60 °C and 70 °C compared to SV lamb loin cooked at 80 °C. These suggested a progression of both lipid oxidation and Maillard reactions during the catering exposure time, which may be related due to the carbonyl formation derived from protein oxidation.

Among all VOC reported, hexanal showed the highest values followed by heptanal, however, its content did not increase after catering exposition. Hexanal is formed from the degradation of major FA in meat such as C18:2 n-6, C18:1 or C20:4 n-6, and it has been recognized as the most significant volatile component in lamb meat and is a mainly common marker of PUFA n-6 (Whitfield and Mottram, 1992). In the fatty acids profile from cooked

patties, catering affected more individual PUFA n-6 (C18:2 n-6, C20:3 n-6, C20:6 n-6 and C22:4 n-6) than the PUFA n-3 (C20:5 n-3 and C22:5 n-3). In agreement with fatty acids profile, it seems that PUFA n-6 (mainly, C18:2 n-6 and C20:4 n-6) may be more oxidizable than the PUFA n-3 (C18:3 α n-3) because PUFA n-6 are located on phospholipids which are particularly susceptible to oxidation (Ortuño *et al.*, 2016), although it was indicated that the LC-PUFA n-3 would be highly prone to oxidation because of their large number of bisallylic carbons of low activation energy for hydrogen loss and free radical formation (Shahidi and Zhong, 2010). In our study, the vast majority of aldehydes present in the cooked meat come from C18:2 n-6 and C20:4 n-6 oxidation (pentanal, hexanal, heptanal, (E) 2-heptenal, (E) 2-nonenal, (E) 2-octenal and (E,E) 2,4-decadienal)(Whitfield and Mottram, 1992). This was expected, since the PUFA n-6 were more abundant than the PUFA n-3 in the lamb fat. The rest of VOC formed during the catering exposure are related to oxidation of FA: octanal from C18:1 oxidation, whereas, benzaldehyde, 2-pentylfuran, and (E) 2-heptenal are by-products of C18:3 α n-3, as well as 1-octen-3-ol, which is also produced by C20:4 n-6 oxidation (Ortuño *et al.*, 2016; Whitfield and Mottram, 1992).

Regarding to alcohols, 1-octen-3-ol was the most abundant VOC present in freshly and catered cooked patties. While 1-octen-3 ol and 1-octanol increased with catering, the rest of alcohols were not detected after catering. Similarly, some alkanes suffer the same effect, and only octane and hexane were detected after catering exposition. Aromatic hydrocarbons, terpenoids, ketones and sulphur compounds showed all a reduction or disappearance in the individual compounds, with the only exception of toluene. Regarding to furans, 2-pentyl-furan was detected after 4 h at 65 °C. Furans are a product of Maillard reaction, so this confirms that the catering samples suffered some roasting from Maillard reaction (Chen, Liu and Chen, 2002). No esters were found in our study, suggesting that thermal treatment degrade esters, in agreement with Domínguez, Gómez, Fonseca y Lorenzo (2014). The cooking method determines above all that roast flavour does not predominate over typical flavour cooked meat (Almela *et al.*, 2009). The roast decreases the rate of formation of alkanes, alkenes and furans, but increases the speed of formation of aldehydes,

ketones and pyrrols. Some sulphur compounds, triazols and pyridines are associated more with the flavour to roast, while some thiols are more related to the flavour of cooked meat (Almela *et al.*, 2009). Volatile organic compounds generally determine Maillard reaction and lipid oxidation in cooked meat (Whitfield and Mottram, 1992; Roldán *et al.*, 2015). Maillard reactions are responsible for the formation of the typical cooked meat flavour, while lipid oxidation is associated with the development of rancid flavours in cooked meat (Roldán *et al.*, 2015). However, in low quantity, both contribute to the formation of the desirable aroma of cooked meat. The profile of volatile compounds depends of cooking conditions and determines the aroma of cooked meats.

In line with the above, the results of ratio hexanal/3-methylbutanal in combination with TBARS and colour suggested a parallel progression of both lipid oxidation and Maillard reactions during the catering exposure time, which may be related due to the carbonyl formation derived from protein oxidation in (Sanchez del Pulgar *et al.*, 2013). In our study catering increased the formation of some aldehydes and decreased alkanes and other VOC groups related to the typical cooked meat flavour. These suggested that catering conditions increased the rancidity and the formation of some Maillard products in cooked patties possibly as a consequence of the combination of the lack antioxidant effect of maternal grazing and the increased of PUFA on lamb meat. Catering increased the formation of some PUFA n-6 markers. However, although maternal grazing improved PUFA n-3, no many C₁₈:3α n-3 oxidation markers were found in cooked lambs. Possibly the composition of our patties (high intramuscular fat 10%) and cooking and catering conditions, were not enough to promote further formation of these markers. These results agree with our previous data, since we have seen that this meat has more oxidizable PUFA and it oxidized more. Sensory studies are necessary to determine if changes reached in our patties may affect the consumer acceptance.

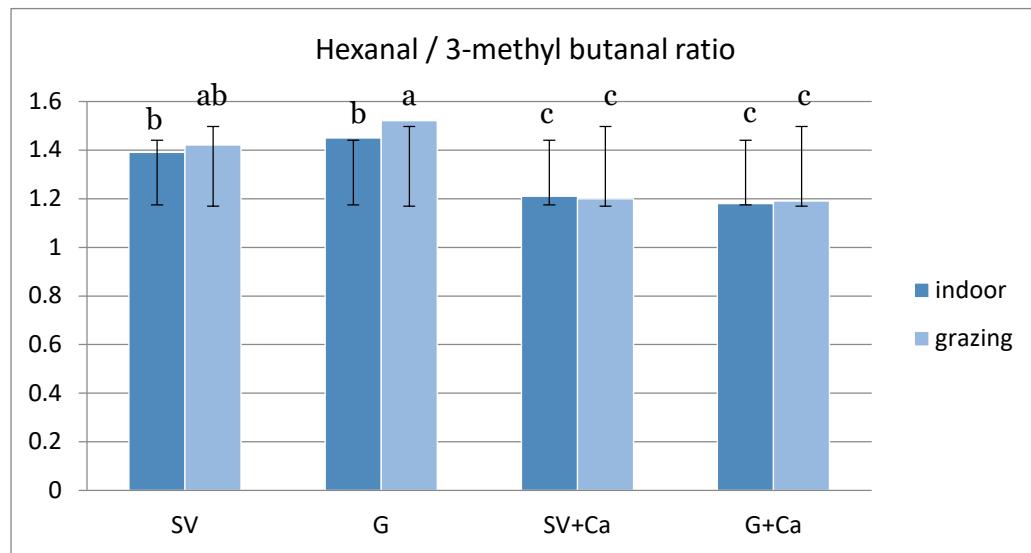


Figure 22. Hexanal/ 3-methyl butanal rati cooked lamb patties at different cooking method (SV and G) and °C), time exposure on heating conditions (freshly and catering patties).

FRESHLY COOKED PATTIES



(A)



(B)

AFTER CATERING (65°C 4h)



(A)



(B)

Figure 23. Appearance of the grilled (A) and sous vide (B) lamb patties.

Table 43.

Effects of the maternal grazing and meat preparation (cooking + catering) on the relative abundance of lipid oxidation volatiles of cooked lamb patties.

		Indoors	Grazing	D	Co	Ca
		M	M	SEM	P-values	
Aldehydes						
Pentanal	SV	6.05	6.06	0.03	(1)	
	G	6.07	6.07	0.03		
	SV+ Ca	nd	nd	-		
	G+Ca	nd	nd	-		
Butanal,3-methyl	SV	5.10	4.90	0.17	***	
	G	5.00	4.68	0.14		
	SV+ Ca	5.89	5.91	0.05		
	G+Ca	5.96	5.96	0.05		
Hexanal	SV	7.07	7.04	0.02		
	G	7.06	7.05	0.03		
	SV+ Ca	7.13	7.09	0.06		
	G+Ca	7.03	7.07	0.05		
Heptanal	SV	6.11	6.16	0.05		
	G	6.06	6.13	0.06		
	SV+ Ca	5.96	6.13	0.05		
	G+Ca	6.12	6.24	0.06		
2-Heptenal(E)	SV	4.20	4.10	0.10	***	
	G	4.01	4.03	0.10		
	SV+ Ca	3.82	a 3.16 b	0.17 *		
	G+Ca	3.48	3.28	0.20		
Octanal	SV	5.69	5.69	0.05	***	
	G	5.63	5.66	0.07		
	SV+ Ca	6.79	6.64	0.11		
	G+Ca	6.74	6.75	0.09		
2-Octenal(E)	SV	3.36	3.02	0.26		
	G	3.23	3.04	0.27		
	SV+ Ca	nd	nd	-		
	G+Ca	nd	nd	-		
Nonanal	SV	6.00	5.91	0.07	***	
	G	5.94	5.89	0.08		
	SV+ Ca	4.97	4.54	0.18		
	G+Ca	4.71	4.96	0.17		
Benzaldehyde	SV	nd	nd	-	** (1)	
	G	nd	nd	-		
	SV+ Ca	4.67	4.69	0.09		
	G+Ca	5.01	4.94	0.10		
2-Nonenal	SV	nd	nd	-	(2)	
	G	nd	nd	-		
	SV+ Ca	3.23	3.51	0.20		
	G+Ca	3.27	3.50	0.20		
Decanal	SV	nd	nd	-	(2)	
	G	nd	nd	-		
	SV+ Ca	2.38	2.43	0.12		
	G+Ca	2.79	2.71	0.15		
2,4-Decadienal	SV	nd	nd	-	(2)	
	G	nd	nd	-		
	SV+ Ca	1.68	1.57	0.10		
	G+Ca	1.66	1.65	0.10		

Furans					
	SV	nd	nd	-	
2-Pentyl-furan	G	nd	nd	-	(2)
	SV+ Ca	5.43	5.46	0.22	
	G+Ca	5.53	5.53	0.20	
Alkane					
Hexane	SV	nd	nd	-	(2)
	G	nd	nd	-	
	SV+ Ca	5.04	5.15	0.13	
	G+Ca	4.95	4.91	0.10	
Heptane	SV	5.95	5.95	0.04	***
	G	5.96	5.98	0.03	
	SV+ Ca	4.94	5.01	0.02	
	G+Ca	4.84	4.93	0.02	
Octane	SV	nd	nd	-	(2)
	G	nd	nd	-	
	SV+ Ca	5.47	5.64	0.13	
	G+Ca	5.37	5.69	0.14	
Decane	SV	4.75	4.85	0.21	(1)
	G	4.78	4.63	0.18	
	SV+ Ca	nd	nd	-	
	G+Ca	nd	nd	-	
Dodecane	SV	2.94	3.03	0.13	(1)
	G	2.89	2.88	0.22	
	SV+ Ca	nd	nd	-	
	G+Ca	nd	nd	-	
Hydrocarbons					
Toluene	SV	4.91	4.90	0.09	
	G	5.06	4.94	0.11	
	SV+ Ca	4.94	4.93	0.16	
	G+Ca	4.88	5.04	0.15	
Ethyl-benzene	SV	3.92	3.96	0.15	(1)
	G	3.99	4.12	0.11	
	SV+ Ca	nd	nd	-	
	G+Ca	nd	nd	-	
P-Xylene	SV	3.95	3.94	0.09	(1)
	G	4.01	4.13	0.10	
	SV+ Ca	nd	nd	-	
	G+Ca	nd	nd	-	
Terpenoids					
Limonene	SV	3.22	3.16	0.27	(1)
	G	3.84	3.57	0.24	
	SV+ Ca	nd	nd	-	
	G+Ca	nd	nd	-	
Ketones					
2-Heptanone	SV	5.00	4.93	0.05	(1)
	G	4.98	4.93	0.06	
	SV+ Ca	nd	nd	-	
	G+Ca	nd	nd	-	
2,3-Octanedione	SV	6.45	6.26	0.09	***
	G	6.40	6.32	0.07	
	SV+ Ca	5.99	5.86	0.18	
	G+Ca	5.94	5.95	0.17	

Alcohols						
1-Penten-3-ol	SV	5.34	5.43	0.04	*	(1)
	G	5.19	b	5.38	a	
	SV+ Ca	nd		nd	-	
	G+Ca	nd		nd	-	
1-Pentanol	SV	5.93	5.83	0.04		
	G	5.74	5.73	0.07		
	SV+ Ca	4.90	4.66	0.00		
	G+Ca	4.82	4.94	0.05		
1-Hexanol	SV	5.17	5.14	0.12		
	G	4.99	5.23	0.15		(1)
	SV+ Ca	nd	nd	-		
	G+Ca	nd	nd	-		
1-Heptanol	SV	4.78	4.64	0.11		
	G	4.60	4.59	0.14		(1)
	SV+ Ca	nd	nd	-		
	G+Ca	nd	nd	-		
1-Octen-3-ol	SV	6.38	6.21	0.05		
	G	6.27	6.15	0.07		*
	SV+ Ca	6.49	6.42	0.14		
	G+Ca	6.42	6.27	0.16		
1-Octanol	SV	2.13	2.24	0.12		
	G	2.12	b	2.39	a	*
	SV+ Ca	4.19		4.31	0.15	***
	G+Ca	4.30		4.32	0.15	
Sulphur compounds						
Carbon disulphide	SV	5.34	5.51	0.17		
	G	5.32	5.36	0.13		***
	SV+ Ca	4.88	4.71	0.14		
	G+Ca	4.67	4.63	0.17		
hexanal/ 3-methyl- butanal	SV	1.39	1.41	0.05		
	G	1.45	1.52	0.05		***
	SV+ Ca	1.21	1.20	0.00		
	G+Ca	1.18	1.19	0.00		

Abbreviations: M: Mean; SEM: Standard Error of the Mean; SV: Sous Vide; G Grilling; D: Diet; Co: Cooking; Ca: Catering. P: probability; nd: no detected; a, b Ewe rearing effects; Levels of significance: *** ($P < 0.001$); * ($P < 0.05$); * ($P < 0.05$). Volatile compounds only detected in freshly-cooked ⁽¹⁾ and catered samples ⁽²⁾. All results expressed as relative abundance (Log area units)

5. Cholesterol oxidation products (COP).

The cholesterol oxidation products (COP) content of cooked lamb patties are shown in **table 44**. A total of six COP were detected in the cooked patties (freshly and kept in catering) respectively: 7-ketocholesterol (7-KC); 7 β -hydroxycholesterol (7 β -HC); α -epoxy cholesterol (α -EC), β -epoxy cholesterol (β -EC) and cholestanetriol (CT). Maternal grazing did not exert any influence on the type and quantity of COP formed in the cooked meat, probably because was unable to improve meat stability in cooking and catered patties for the above mentioned reasons. Regarding to cooking method, all COP increased with G cooking ($P<0.05$) to the detriment of total cholesterol. The amount of total cholesterol was higher in the freshly-cooked G patties than in the catered patties, which resulted in an increased cholesterol oxidation ratio after 4 h of heating exposition. In general, COP followed a similar oxidation pattern to those observed for MDA, with SV being more effective than G in preventing cholesterol oxidation. The increase of total COP in the G+CA patties did not match the quantitative increase in cholesterol content, so it is possible that cholesterol and COP were broken down or reacted with Maillard reaction making new volatile compounds, in agreement with results obtained for VOC. The most abundant COP in freshly cooked lamb patties were β -CE, which is one of the most abundant in meat products, followed by the 7-KC ,7 β -HC, α -CE and triol (Orczewska-Dudek, Bederska-Łojewska, Pieszka, and Pietras, 2012; Cardenia *et al.*, 2011; Lercker and Rodriguez-Estrada, 2000; Moran *et al.*, 2014). Cholestanetriol (CT), considered the most atherogenic and carcinogenic COP (Pie, Spahis and Seillan, 1991) was hardly detected in our samples, which agrees with previous works on cooked meat (Ortuño *et al.*, 2019; Broncano *et al.*, 2009; Carballo *et al.*, 2018, Andrés *et al.*, 2014). This is particularly important for the consumer concerned with healthier meat products, since many COP, and especially, CT, have been described as atherogenic oxysterols, responsible for an acute injury to the endothelium (Peng, Taylor, Hill, and Morin, 1985). Finally, total COP levels found in

lamb patties ranged to 21.46 to 42.66 µg/g fat and were similar than reported by other authors in cooked lamb (Ortuño *et al.*, 2019).

In our study, it was tested that it is possible to improve fatty acid profile in raw and cooked lamb meat with maternal grazing. However, as seen in our results, an increase in PUFA content reduces oxidative stability in meat that increases the formation of some toxic compounds such COP (Rey *et al.*, 2001; Luciano *et al.*, 2013). The use of different dietary polyphenols has been proved to prevent COP formation in freshly cooked meat (Ortuño *et al.*, 2019; Morán *et al.*, 2014). In line with our results, both the intake of polyphenols and the transmission of these from milk were insufficient to increase the content of vitamin E in the animal tissues to delay oxidation on cooked lamb meat. Moreover, in our study, maternal grazing improved the PUFA n-3 content on cooked patties, which might lead to cholesterol oxidation, since cholesterol can be oxidized by the same mechanism as fatty acids and the formation of COP can be accelerate by PUFA (Du, Nam and Ahn, 2001). This would help us to understand the lack of differences between the indoors and grazing patty groups.

Cholesterol is an unsaturated lipid susceptible to oxidation, giving rise to COP and cooking method and the initial oxidative status of meat can favour the formation of some COP (Hur, Park and Joo, 2007). Some studies have been tested the effect of various cooking method on cholesterol and formation of COP in beef loin (Lee, Kim, Seol, Erwanto and Lee, 2006), burger beef (Rodriguez-Estrada, Penazzi, Caboni, Bertacco and Lercker , 1997), pork (Hu, Lee, Moon and Lee, 2014), fish fillets (Freitas, Amaral, Coutrim, Afonso and Junqueria, 2015). However, up to our knowledge, this is the first study comparing the effect of SV with other cooking methods on the COP formation. In our study, G favoured the formation of some COP. In agree with TBARS and VOC, the differences seen between SV and G might be due to the vacuum cooking, since cholesterol oxidation is minimized at reduced temperatures and with the exclusion of oxygen (Rodriguez-Estrada, Garcia-Llatas and Lagarda, 2014). In contrast, no significant differences were found on catered patties ($p>0.05$). In our study, the most abundant oxysterol was β -EC but not 7-KC. Although 7-KC has been often used as a

marker of oxidation, not always rises with increasing time/temperature conditions, especially in complex systems and high-protein or extensively processed foods (Rodriguez-Estrada *et al.*, 2014). Total cholesterol was higher in freshly cooked G-patties, although it seems to be reduced after catering exposition, which resulted in an increased cholesterol oxidation ratio after 4 h. Thermo-oxidation of cholesterol increased rapidly at high temperatures (200 °C) because the melting point of cholesterol is around 150 °C (Derewiaka and Molinska, 2015). So, although catered patties were in contact with oxygen, it is possible that the temperature reached in catering (65 °C) was not enough to decrease the total cholesterol content.

Our results suggest that the proportion of generated COP was lower due to the mild conditions used for cooking. The differences seen between both cooking methods were mainly due to that the G patties were exposed to oxygen during cooking, while SV patties were vacuum packed for cooking. It is also probable that the higher formation of COP seen in the G patties might have occurred in the meat in direct contact with the hot plate at 150 °C. The results obtained agree with the trend followed by the TBARS in the freshly-cooked patties. An unclear aspect is why the COP did not increase during the catering period despite that they formed in the SV samples cooked at low temperature and that the temperatures of cooking (72 °C) and catering (65 °C) were quite similar. The decoupling between the reduction in cholesterol content and the increase in COP during catering could be due to that cholesterol can react with other substances (such as Schiff bases). (Rodriguez-Estrada *et al.*, 2014) Furthermore, there were two types of cholesterol oxidation reactions. After cooking, the most abundant COP were epoxy cholesterol, which, in theory, are generated in an advanced stage of cholesterol oxidation, while, hydroxy cholesterol, which are the products originating from the initial stage of cholesterol oxidation, slightly increased with catering. This suggests that meat might have some oxidation of cholesterol before cooking (and hydroxy cholesterol would pass into epoxy cholesterol), and some "de novo" hydroxy cholesterol would form during catering.

Table 44.

Effects of the maternal rearing and meat preparation (cooking + catering) on the values of COP ($\mu\text{g/g}$ fat) and total cholesterol ($\mu\text{g/g}$ fat) of lamb patties.

		Indoors M	Grazing M	SEM	D	Co	Ca	Co*Ca	P-values
7 α -HC	SV	2.97	2.64	0.67					**
	G	4.71	5.01	1.08					
	SV+Ca	3.24	3.40	2.12					
	G+Ca	6.10	5.90	0.96					
7 β -HC	SV	5.22	4.34	1.04					**
	G	8.08	7.95	1.72					
	SV+Ca	5.74	5.34	3.05					
	G+Ca	9.88	9.12	1.44					
α -EC	SV	2.47	3.08	1.00					
	G	5.54	4.55	1.24					
	SV+Ca	3.46	3.36	1.67					
	G+Ca	4.64	4.84	0.68					
β -EC	SV	7.26	5.76	1.11					**
	G	11.00	9.20	1.72					
	SV+Ca	7.30	6.12	3.34					
	G+Ca	11.12	10.82	1.45					
7-KC	SV	5.64	4.66	1.19					**
	G	7.82	8.85	1.71					
	SV+Ca	5.96	4.90	2.63					
	G+Ca	9.90	8.78	1.28					
CT	SV	0.94	0.96	0.09					
	G	1.24	1.50	0.45					
	SV+Ca	0.98	1.96	0.17					
	G+Ca	0.98	1.10	0.71					
Total COP	SV	23.50	21.46	6.41					**
	G	40.54	37.22	8.10					
	SV+Ca	25.98	25.18	1.19					
	G+Ca	42.66	40.56	5.16					
Total Cholesterol	SV	12.64	12.04	0.82					**
	G	15.82	14.61	1.06					
	SV+Ca	12.06	11.65	1.10					
	G+Ca	12.94	12.93	1.40					
% Cholesterol OR	SV	1.72	1.79	0.50					*
	G	2.54	2.59	0.48					
	SV+Ca	2.10	2.14	0.29					
	G+Ca	3.27	3.08	0.59					

Abbreviations: M: Mean; SEM: Standard Error of the Mean; SV: Sous Vide; G Grilling; D: Diet; Co: Cooking; Ca: Catering. P: probability; nd: no detected. ^{a, b} Ewe rearing effects; Levels of significance: *** ($P < 0.001$); * ($P < 0.05$); ** ($P < 0.05$).

CONCLUSIONES

Conclusions



Primera. La estabilidad oxidativa y el deterioro microbiológico de la carne de cordero ligero de raza Segureña no se ven influidos por el sistema de cría de las ovejas gestantes y lactantes, lo que implica un similar contenido, transmisión o biodisponibilidad de los compuestos bioactivos presentes por las dietas a base de pasto y a base de grano de cereal con pellets de alfalfa.

First. The oxidative stability and microbiological spoilage of light lamb meat from *Segureña* breed are not influenced by the rearing system of pregnant and lactating ewes, which implies a similar content, transmission, or bioavailability of the bioactive compounds present in the diet based on grass and those based on cereal grain and alfalfa pellets.

Segunda. La cría semi-extensiva de ovinos de raza Segureña durante la gestación y lactación permite incrementar el contenido en ácidos grasos poliinsaturados n-3 y ácido linoleico conjugado de la carne de cordero ligero, lo que implica una mejora nutricional, siendo por tanto recomendable frente a sistemas intensivos para procurar un consumo de carne más saludable.

Second. Semi-extensive rearing of *Segureña* sheep during gestation and lactation increases the content of n-3 polyunsaturated fatty acids and conjugated linoleic acid in light lamb meat, which implies certain nutritional improvement, being therefore recommended against intensive systems to seek more healthy meat consumption.

Tercera. El subproducto de destilación de salvia (SDS) puede ser incorporado hasta en un 10% a la dieta de corderos ligeros de cebo de raza Segureña sin detrimento de su calidad sensorial, nutricional y tecnológica. Sin embargo, los lípidos y compuestos bioactivos aportados a dicha dosis no permiten mejorar el perfil lipídico y la estabilidad oxidativa y microbiológica de la carne.

Third. Sage distillation by-product (SDB) can be incorporated by up to 10% in *Segureña* light lamb diet without detriment to its sensorial, nutritional

and technological quality. However, the lipids and bioactive compounds provided at such dose does not allow improve the lipid profile and the oxidative and microbiological stability of meat.

Cuarta. La estación del año influye en el perfil lipídico y en el contenido de principios bioactivos presentes en la planta de salvia, y, probablemente, en el pasto, lo que se ve reflejado en una mayor estabilidad oxidativa y un mejor perfil nutricional en la carne de cordero cuan do el pienso han sido suplementado con salvia destilada recolectada a finales de verano y cuyas madres han pastado durante primavera.

Fourth. Annual season influences the lipid profile and the amount of bioactive principles present in salvia plants and, probably, in grazing plants, which is reflected in a higher oxidative stability and a better nutritional profile of lamb meat when their feed is supplemented with distilled leaf collected in late summer and when their mothers grazed during spring.

Quinta. Las mejoras del perfil lipídico de la carne de cordero obtenidas a través del pastoreo materno se mantienen durante la preparación de los productos cárnicos crudos y cocinados tipo hamburguesa. Tratamientos fuertemente pro oxidantes como la congelación-descongelación, el picado, amasado y formado aeróbicos, la adición de sal, el cocinado y posterior mantenimiento en caliente, producen una incipiente oxidación lipídica, que, sin embargo, apenas modifica la proporción de los diferentes tipos de ácidos grasos.

Fifth. The improvements in the lipid profile of lamb meat obtained through maternal grazing are maintained during the preparation of raw and cooked patty-like meat products. Strongly oxidizing treatments, such as freezing-thawing, aerobically mincing, mixing and forming, salt addition, cooking and subsequent hot holding, produce an incipient lipid oxidation, which, however, hardly modifies the proportion of the different fatty acids classes.

Sexta. El cocinado a vacío a baja temperatura durante un tiempo prolongado (*sous vide*) no mejora el perfil de ácidos grasos frente al cocinado en plancha a alta temperatura por un breve periodo de tiempo con una temperatura final interna similar. Sin embargo, la reducida temperatura y la baja disponibilidad de oxígeno durante el cocinado *sous vide* permiten reducir la oxidación lipídica y la formación de óxidos del colesterol, ofreciendo una carne más segura para el consumidor.

Sixth. Vacuum cooking at low temperature for long time (*sous vide*) does not improve the fatty acid profile compared to grilling at high temperature for a short time with a similar internal final temperature. However, the reduced temperature and the low oxygen availability during *sous vide* cooking reduce lipid oxidation and the formation of cholesterol oxides, offering safer meat to consumer.

Séptima. El cocinado *sous vide* permite incrementar la estabilidad oxidativa de la carne cocinada mantenida en caliente durante unas horas en comparación con el cocinado en plancha, lo que lo convierte en un método más recomendable para retener nutrientes como los ácidos grasos poliinsaturados y para mejorar la seguridad inhibiendo las oxidación de la carne cocinada en sistemas tipo catering.

Seventh. *Sous vide* cooking allow increase the oxidative stability of cooked/hot-hold lamb meat for a few hours compared to grilling, making it a more recommended method to preserve nutrients such as polyunsaturated fatty acids and to improve safety by inhibiting oxidation of cooked meat in catering-type systems.

Octava. Los cambios en los lípidos del cordero debidos al pastoreo materno no implican una mayor susceptibilidad a los tratamientos térmicos, de modo que los valores de marcadores de la oxidación como la tasa de insaturación, los compuestos secundarios derivados de la oxidación lipídica y los óxidos del colesterol, obedecen exclusivamente al efecto de los tratamientos tecnológicos aplicados.

Eighth. The changes in lamb lipids due to maternal grazing does not imply a higher susceptibility to changes induced by heat treatments, so, the values of oxidation markers such as unsaturation rate, secondary compounds derived from lipid oxidation and cholesterol oxides, are exclusively due to the effect of the applied technological treatments.

Noveno. La mejora en ácidos grasos saludables conseguida a través de una intervención dietética, como el pastoreo materno, se mantiene a pesar del tratamiento culinario. No obstante, sería conveniente usar estrategias antioxidantes que acompañen a este tipo de sistemas de cría, sobre todo si aumenta la insaturación de la grasa, para retrasar el deterioro oxidativo y extender la vida útil de la carne de cordero lista para ser consumida.

Ninth. The improvement in healthy fatty acids achieved through a dietary intervention, such as maternal grazing, is maintained despite the culinary procedure. However, it would be convenient to use antioxidant strategies that accompany these rearing methods, especially if fat unsaturation is increased, to delay the oxidative deterioration and to extend the shelf life of the ready-to-eat lamb meat.

BIBLIOGRAFÍA

References



Bibliografía

- Aguirrezaabal, L., Martre, P., Pereyra-Irujo, G., Izquierdo, N., & Allard, V. (2009). *Management and breeding strategies for the improvement of grain and oil quality.* Crop Physiology, 387-411. DOI:10.1016/b978-0-12-374431-9.00016-5.
- Ahn, D. U., Sell, J. L., Jo, C., Chen, X., Wu, C & Leem J. I. (1998). Effects of dietary vitamin E supplementation on lipid oxidation and volatiles content of irradiated, cooked turkey meat patties with different packaging. *Poultry Science*, 77, 912-920.
- Ahn, J., Grün, I. U., & Mustapha, A. (2007). Effects of plant extracts on microbial growth, color change and lipid oxidationin cooked beef. *Food Microbioly*, 24 (1), 7-14. DOI.org/10.1016/j.fm.2006.04.006.
- Alcaraz, F. J., Sánchez, O., & Correal, E. (1989). *Catálogo de plantas aromáticas condimentarias y medicinales de la región de Murcia.* Madrid, España, INIA-MAPA, 75, 1-12.ISSN:0210-3354.
- ALIMARKET. (2000). El sector de la carne de ovino toma la iniciativa. Alimarket, 131, 40-50.
- ALIMARKET (2001^c). Carne de ovino: movimiento cooperativo. Alimarket, 144, 167-179.
- Aleksovski, S. A., & Sovova, H. (2007). Supercritical CO₂ extraction of *Salvia officinalis L.* *The Journal of Supercritical Fluids*, 40, 239-245.
- Alfaia, C. M. M., Alves, S. P., Lopes, A. F., Fernandes, M. J. E., Costa, A. S. H., Fontes, C. M. G. A., ... & Prates, J. A. M. (2010). Effect of cooking methods on fatty acids, conjugated isomers of linoleic acid and nutritional quality of beef intramuscular fat. *Meat Science*, 84 (4), 769-777. DOI:10.1016/j.meatsci.2009.11.014
- Almela, E., Jordán, M. J., Martínez, C., Sotomayor, J. A., Bedia, M., & Bañón, S. (2009). El flavor de la carne cocinada de cordero. *Eurocarne*, 178.
- Almela, E. (2010). *Caracterización de componentes volátiles en la carne cocinada de cordero segureño.* (Tesis de licenciatura). Universidad de Murcia, Facultad de Veterinaria, Murcia (España).
- Almela, E., Jordán, M. J., Martínez, C., Sotomayor, A. J., Bedia, M., & Bañón, S. (2010). Ewe's diet (pasture vs grain-based feed) affects volatile profile of cooked meat from light lamb. *Agricultural Food Chemistry*, 58, 9641-9646.
- Álvarez, I., De La Fuente, J., Cañeque, V., Lauzurica, S., Pérez, C., & Díaz, M. T. (2009). Changes in the fatty acid composition of M. longissimus dorsi of Lamb during storage in a high-oxygen modified atmosphere at different levels of dietary vitamin E supplementation. *Journal of Agricultual and Food Chemistry*, 57, 140-146.
- Alves, S. P., Francisco, A., Costa, M., Santos-Silva, J., & Bessa, R. J. B. (2017). Biohydrogenation patterns in digestive contents and plasma of lambs fed increasing levels of a tanniferous bush (*Cistus ladanifer L.*) and vegetable oils. *Animal Feed Science and Technology*, 225, 157-172.

Alowaiesh, B., Singh, Z., Fang, Z., & Kailis, S. G. (2018). Harvest time impacts the fatty acid compositions, phenolic compounds and sensory attributes of Frantoio and Manzanilla olive oil. *Scientia Horticulturae*, 234, 74–80. DOI:10.1016/j.scienta.2018.02.017

Andrés, S., Tejido, M. L., Bodas, R., Morán, L., Prieto, N., Blanco, C., & Giráldez. (2013). Quercetin dietary supplementation of fattening lambs at 0.2 % rate reduces discolouration and microbial growth in meat during refrigerated storage. *Meat Science*, 93, 207-212. DOI.org/10.1016/j.meatsci.2012.08.023.

Andrés, S., Morán, L., Aldai, N., Tejido, M. L., Prieto, N., Bodas, R., & Giráldez, F. J. (2014). Effects of linseed and quercetin added to the diet of fattening lambs on the fatty acid profile and lipid antioxidant status of meat samples. *Meat Science*, 97, 156-163. DOI.org/10.1016/j.meatsci.2014.02.001.

Anthos (2019). Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Reportado de: www.anthos.es.

Aouadi, D., Luciano, G., Vasta, V., Nasri, S., Brogna, D. M. R., Abidi, S., ... & Ben Salem, H. (2014). The antioxidant status and oxidative stability of muscle from lambs receiving oral administration of Artemisia herba alba and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Meat Science*, 97, 237–243. DOI.org/10.1016/j.meatsci.2014.02.005.

Apple, J. K.; Dikeman, M. E.; Minton, J. E.; McMurphy, R. M.; Fedde, M. R., Leith, D. E. & Unruh, J. A. (1995). Effects of Restraint and Isolation Stress and Epidural Blockade on Endocrine and Blood Metabolite Status, Muscle Glycogen Metabolism, and Incidence of Dark -Cutting Longissimus Muscle of Sheep. *Journal of Animal Science*, 73, 2295-2307.

Areias, F., Valentão, P., Andrade, P. B., Ferreres, F., & Seabra, R. M. (2000). Flavonoids and Phenolic Acid of Sage: Influence of some agricultural factors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 6081-6084.

Armero, E., & Falagán, A. (2015). A comparison of growth, carcass traits, and tissue composition of 'Segureña' lambs raised either in extensive or intensive production systems. *Production Science*, 55 (6), 804–811 DOI.org/10.1071/AN13342.

Aruoma, O. I., Halliwell, B., Aeschbach, R., & Löliger, J. (1992). Antioxidant and pro-oxidant properties of active rosemary constituents: carnosol and carnosic. *Xenobiotica*, 22 (2), 257-268. DOI.org/10.3109/00498259209046624.

Atti, N., & Mahouachi, M. (2009). Effects of feeding system and nitrogen source on lamb growth, meat characteristics and fatty acid composition. *Meat Science*, 81, 344-348. DOI:10.1016/j.meatsci.2008.08.011.

Aurousseau, B., Bauchart, D., Faure, X., Galot, A., Prache, S., Micol, D., & Priolo, A. (2007). Indoor fattening of lamb raised on pasture: (1) Influence of stall finishing duration on lipid classes and fatty acids in the longissimus thoracis muscle. *Meat Science*, 76, 241-252. DOI.org/10.1016/j.meatsci.2006.11.005'

Bibliografía

- Babovic, N., Djilas, S., Jadranin, M., Vajs, V., Ivanovic, J., Petrovic, S., Zizovic, I. (2010) . Supercritical carbon dioxide extraction of antioxidant fractions from selected Lamiaceae herbs and their antioxidant capacity. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11, 98–107.
- Baiano, A., & Del Nobile, M. A. (2015). Antioxidant compounds from vegetable matrices: Biosynthesis, occurrence, and extraction systems. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56, 2053–2068.
- Bakoglu, A., Kilic, O., & Kokten, K. (2016). Fatty Acid Composition of the Leaves of Some Salvia Taxa from Turkey. *Chemistry of Natural Compounds*, 52 (4), 676–678. DOI:10.1007/s10600-016-1738-9.
- Bañón, S., Méndez, L., & Almela, E. (2012). Effects of dietary rosemary extract on lamb spoilage under retail display conditions. *Meat Science*, 90 (3), 579–583. DOI.org/10.1016/j.meatsci.2011.09.020.
- Bas, P., & Morand-Fehr, P. (2000). Effect of nutritional factor son fatty acid composition of lamb fat deposits. *Livestock Production Science*, 64 (1), 61-79.
- Bauman, D. E., Baumgard, L. H., Corl, B. A., & Griinari, J.M. (2000). Biosynthesis of conjugated inoleic acid in ruminants. *Journal of Animal Science*, 77, 1-15. DOI.org/10.2527/jas2000.77E-Suppl1f.
- Bekhit, A. E. D. A., Hopkins, D. L., Fahri, F. T., & Ponnampalam, E. N. (2013). Oxidative processes in muscle systems and fresh meat: Sources, markers, and remedies. *Food Science and Food Safety*, 12 (5), 565-597. DOI.org/10.1111/1541-4337.12027.
- Ben Farnhat, M., Jordan, M. J., Chaoucech-Hamad, R., Landoulsi, A., & Sotomayor, J. A. (2009). Variations in essential oil, phenolic compounds, and antioxidant activity of tunisian cultivated *Salvia officinalis* L. *Journal of Agricultural*, 57 (21), 10349-10356. DOI: 10.1021/jf901877x.
- Ben Farhat, M., Landoulsi, A., Chaouch-Hamada, R., Sotomayor, J. A., & Jordán, M. (2013). Characterization and quantification of phenolic compounds and antioxidant properties of *Salvia* species growing in different habitats. *Industrial Crops and Products*, 49, 904-914. DOI: 10.1016/j.indcrop.2013.06.047.
- Ben Farhat, M., Chaouch-Hamada, R., Sotomayor, J., Landoulsia, A., & Jordán, M. J. (2014). Antioxidant potential of *Salvia officinalis* L. residues a affected by the harvesting time. *Industrial Crops and Products*, 54, 78-85.
- Ben Farhat, M., Jordán, M. J., Chaouch-Hamada, R., Landoulsi, A., & Sotomayor, J. A. (2016). Phenophase effects on sage (*Salvia officinalis* L.) yield and compositionof essential oil. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 3, (3), 87-93. DOI.org/10.1016/j.jarmap.2016.02.001.
- Ben Farhat, M., Sotomayor, J. A., & Jordán, M. J. (2019). Antioxidants of *Salvia aegyptiaca* L. residues depending on geographical origin. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 17, 486-491. DOI.org/10.1016/j.bcab.2019.01.001.

Ben Taarit, Msaada, K., Hosni, K., & Marzouk, B. (2010). Changes in fatty acid and essential oil composition of sage (*Salvia officinalis L.*) leaves under NaCl stress. *Food Chemistry*, 119 (3), 951-956. DOI.org/10.1016/j.foodchem.2009.07.055.

Berdonces i Serra, J.L., (2007). Gran Enciclopedia de las Plantas Aromáticas y Medicinales. Tikal Ediciones, Barcelona.

Berruga, M. I., Vergara, H., & Gallego, L. (2005). Influence of packaging on microbial and lipid oxidation in lamb meat. *Small Ruminant Research*, 57 (1-2), 257-264. DOI.org/10.1016/j.smallrumres.2004.08.004.

Berthelot, V., Bas, P., Pottier, E., & Normand, J. (2012). The effect of maternal linseed supplementation and/or lamb linseed supplementation on muscle and subcutaneous adipose tissue fatty acid composition of indoor lambs. *Meat Science*, 90 (3), 548–557. DOI:10.1016/j.meatsci.2011.09.014.

Bessa, R. J. B., Lourenço, M., Portugal, P. V., & Santos-Silva, J. (2008). Effects of previous diet and duration of soybean oil supplementation on light lambs carcass composition, meat quality and fatty acid composition. *Meat Science*, 80, 1100-1105.

Bessa, R. J. B., Alves, S. P., & Santos-Silva, J. (2015). Constraints and potentials for the nutritional modulation of the fatty acid composition of ruminant meat. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 117, 1325–1344. DOI:org/10.1002/ejlt.201400468.

Bettaieb, I., Zakhama, N., Wannes, W. A., Kchouk, M. E., & Marzouk, B. (2009). Water deficit effects on *Salvia officinalis* fatty acids and essential oils composition. *Scientia Horticulturae*, 120 (2), 271–275. DOI:10.1016/j.scienta.2008.10.016.

Bianchi, G., Garibotto, G., Forichi, S., Zabala, A., Benia, P., Feed, O., Bentancur, O. (2006^b). Efecto del sistema de refrigeración sobre la calidad de la carne de corderos pesados Dohne Merino x Corriedale. *Revista Argentina de Producción Animal*, 26, 217-224.

Blanco, C., Giráldez, F. J., Prieto, N., Morán, L., Andrés, S., Benavides, J., ... Bodas, R. (2014). Effects of dietary inclusion of sunflower soap stocks on nutrient digestibility, growth performance, and ruminal and blood metabolites of light fattening lambs. *American Society of Animal Science*. DOI:10.2527/jas2014-7693.

Blanco, C., Giráldez, F. J., Prieto, N., Morán, L., Andrés, S., Tejido, M. L., & Bodas, R. (2015). *Efecto de la inclusión de oleína de girasol en la dieta de corderos en fase de crecimiento-cebo sobre el perfil de ácidos grasos de la carne*. Jornadas sobre producción Animal. 675–677. Congreso llevado a cabo en Zaragoza, Spain.

Blanco, C., Giráldez, J. F., Morán, L., Mateo, J., Villalobos-Delgas, L. H., Andrés, S., & Bodas, R. (2017). Effects of sunflower soap stocks on light lamb meat quality. *American Society of Animal Science*, 95, 3455-3466. DOI:10.2527/jas2016.1010.

Blasco, M. (2017). *Atributos de calidad de la carne de cordero de raza Segureña y de su cruce industrial, y posible diferenciación en el mercado*. (Tesis doctoral). Universidad de Zaragoza, Zaragoza, (España).

- Blasco, M., Campo, M.M., Balado, J., & Sañudo, C. (2018). Effect of Texel crossbreeding on productive traits, carcass and meat quality of Segureña lambs. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. DOI: 10.1002/jsfa.9549.
- Blumenthal, M. (Ed.), 2000. Herbal Medicine. Expanded Commission E Monographs. American Botanical Council, Austin, p. 330.
- Blum, C. (1999) Analytik und Sensorik von Gewürzextrakten und Gewürzölen. Dissertation, Institute for Pharmacy, University of Hamburg, Germany.
- BOE (1967).Decreto 2484/1967, de 21 de septiembre, por el que se aprueba el texto del Código Alimentario Español. BOE Nº 248, de 17 de octubre de 1967.
- Bonano, A., Tornambè, G., Di Grigoli, A., Genna, V., Bellina, V., Di Miceli, G., & Giambalvo, D. (2012). Effect of legume grains as a source of dietary protein on the quality of organic lamb meat. *Science of Food and Agriculture*, 92, 2870–2875.
- Bonoli, M., Marconi, E., & Caboni, M. F. (2004). Free and bound phenolic compounds in barley (*Hordeum vulgare L.*) flours: Evaluation of the extraction capability of different solvent mixtures and pressurized liquid methods by micellar electrokinetic chromatography and spectrophotometry. *Journal of Chromatography A*, 1057, 1-12.
- Boselli, E., Caboni, M. F., Rodriguez-Estrada, M. T., Toschi, T. G., Daniel, M., & Lercker, G. (2005). Photoxidation of cholesterol and lipids of turkey meat during storage under commercial retail conditions. *Food Chemistry*, 91, 705–713.
- Botsoglou, E., Govaris, A., Ambrosiadis, I., Fletourisc, D., & Papageorgiou, G. (2014). Effect of olive leaf (*Olea europaea L.*) extracts on protein and lipid oxidation in cooked pork meat patties enriched with n-3 fatty acids. *Journal of the Science of Food Agriculture*, 94, 227–34. DOI: 10.1002/jsfa.6236.
- Botsoglou, N. A., Fletouris, D. J., Papageorgiou, G. E., Vassilopoulos, V. N., Mantis, A. J., & Trakatellis, A. G. (1994). Rapid, Sensitive, and specific thiobarbituric acid methods for measuring lipid peroxidation in animal tissue, food, and feedstuff samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 1931-1937.
- Borton, R. J., Loerch, S. C., McClure, K.E., & Wulf, D. M. (2005). Comparison of characteristics of lambs fed concentrate or grazed on ryegrass to traditional or heavy slaughter weights. I. Production, carcass, and organoleptic characteristics. *Journal of Animal Science*, 83 (3), 679–685.
- Borys, B., Borys, A., Oprządek, J., & Przegalińska-Gorączkowska, M. (2011). Effect of sex and fattening intensity on health-promoting value of lamb meat. *Animal Science Papers and Reports*, 29 (4), 331-342.
- Boughalmi, A., & Araba, A. (2016). Effect of feeding management from grass to concentrate feed on growth, carcass characteristics, meat quality and fatty acid profile of Timahdite lamb breed. *Small Ruminant Research*, 144, 158–163. DOI:10.1016/j.smallrumres.2016.09.013.
- Boyd, N. F., & McGuire, V. (1991). The possible role of lipid peroxidation in breast cancer risk. *Free Radical Biology and Medicine*, 10 (3–4), 185–190.

- Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., & Jovin, E. (2007). Antimicrobial and Antioxidant Properties of Rosemary and Sage (*Rosmarinus officinalis L.* and *Salvia officinalis L.*, *Lamiaceae*) Essential Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (19), 7879–7885. DOI:10.1021/jf0715323.
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutricional significance. *Review Nutrition Reviews*, 56 (11), 317-333.
- Bravo-Lamas, L., Barron, L. J. R., Farmer, L., & Aldai. (2018). Fatty acid composition of intramuscular fat and odour- active compounds of lamb commercialized in northern Spain. *Meat Science*, 139, 231-238. DOI.org/10.1016/j.meatsci.2018.02.006.
- Broncano, J., Petron, M., Parra, V., & Timon, M. (2009). Effect of different cooking methods on lipid oxidation and formation of free cholesterol oxidation products (COP) in *Latissimus dorsi* muscle of Iberian pigs. *Meat Science*, 83 (2), 431–437. DOI: 10.1016/j.meatsci.2009.06.021.
- Buccioni, A., Decandia, M., Minieri, S., Molle, G., & Cabiddu, A. (2012). Lipid meta-bolism in the rumen: new insights on lipolysis and biohydrogenation with an emphasis on the role of endogenous plant factors. *Animal Feed Science and Technology* 174, 1–25.
- Buchadé, C. (1998). *Ovino de Carne, aspectos clave*, España, Ediciones Mundi-Prensa.
- Bueno, M., Resconi, V. C., Campo, M. M., Cacho, J., Ferreira, V., & Escudero, A. (2011). Gas chromatographic–olfactometric characterisation of headspace and mouthspace key aroma compounds in fresh and frozen lamb meat. *Food Chemistry*, 129 (4), 1909 - 1918. DOI:10.1016/j.foodchem.2011.06.001.
- Burke, J. L., Waghom, G. C., McNabb, W. C., & Brookes, I. M. (2004). The potential of sulla in pasture-based system. *Animal Production Science*, 25, 25-28.
- Buxton, R. D. (1996). Quality-related characteristics of forages as influenced by plant environment and agronomic factors. *Animal Feed Science Technoogy*, 59, 37-49.
- Buyse, E.M., Krüger, J., & Nortjé, G.L. (1994). Centralised bulk pre-packaging of fresh pork retail cuts in various gas atmospheres. *Meat Science*, 36 (3), 293–308.
- Cabiddu, A., Decandia, M., Addis, M., Piredda, G., Pirisi, A., & Molle, G. (2005). Managing Mediterranean pastures in order to enhance the level of beneficial fatty acids in sheep milk. *Small Ruminant Research*, 59 (2–3), 169–180.
- Cabiddu, A., Salis, L., Tweed, J. K. S., Molle, G., Decandia, M., & Lee, M. R. F. (2010). The influence of plant polyphenols on lipolysis and biohydrogenation in dried forages at different phonological stages: in vitro study. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90, 829–835. DOI: 10.1002/jsfa.3892.
- Calkins, C. R., & Hodgen, J. M. (2007). A fresh look at meat flavor. *Meat Science*, 77 (1), 63–80. DOI:10.1016/j.meatsci.2007.04.016.

Bibliografía

- Cañeque, V., & Sañudo, C. (2000). Metodología para el estudio de la calidad de la canal y de la carne de ruminante. Medida del pH. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria. Ministerio de Ciencia y Tecnología. Monografías INIA: Ganadera, 145-155.
- Campo, M. N., Nute, G. R., Hughes, S. I., Enser, M., Wood, J. D., & Richardson, R. I. (2006). Flavour perception of oxidation in beef. *Meat Science*, 72, 303–311.
- Campo, J., Beltran, J.A., & Roncales, P. (2008). Extension of the display life of lamb with an antioxidant active packaging. *Meat Science*, 80, 1086–1091.
- Campo, M. M., Muela, E., Olleta, J. L., Moreno, L. A., Santaliestra-Pasías, A. M., Mesana, M. I., & Sañudo, C. (2013). Influence of cooking method on the nutrient composition of Spanish light lamb. *Journal of Food Composition and Analysis*, 31, 185–190. DOI.org/10.1016/j.jfca.2013.05.010.
- Caputi-Jambrenghi, A., Colonna, M.A., Giannico, F., Favia, R., Minuti, F., Scafizzari, M., & Vonghia, G. (2005). Dietary supplementation of garlic and rosemary: Effects on colour stability and lipid oxidation in lamb meat. *Italian Journal of Animal Science*, 4 (2), 366–368.
- Carballo, D. E., Caro, I., Andrés, S., Giráldez, F. J., & Mateo, J. (2018). Assessment of the antioxidant effect of astaxanthin in fresh, frozen and cooked lamb patties. *Food Research International*, 111, 342–350. DOI:10.1016/j.foodres.2018.05.054.
- Cardenia, V., Rodriguez-Estrada, M. T., Cumella, F., Sardi, L., Della Casa, G., & Lercker, G. (2011). Oxidative stability of pork meat lipids as related to high-oleic sunflower oil and vitamin E diet supplementation and storage conditions. *Meat Science*, 88 (2), 271–279. DOI: 10.1016/j.meatsci.2010.12.034
- Cardenia, V., Massimini, M., Poerio, A., Venturini, M. C., Rodriguez-Estrada, M., Vecchia, P., & Lercker, G. (2015). Effect of dietary supplementation on lipid photooxidation in beef meat, during storage under commercial retail conditions. *Meat Science*, 105, 126–135. DOI: 10.1016/j.meatsci.2015.02.010.
- Carlsen, C. U., Møller, J. K. S., & Skibsted, L. H. (2005). Heme-iron in lipid oxidation. *Coordination Chemistry Reviews*, 3–4, 485–498.
- Caroprese, M., Ciliberti, M. G., & Albenzio, M. (2020). Application of aromatic plants and their extracts in dairy animals. *Feed Additives*, 261–277. DOI:10.1016/b978-0-12-814700-9.00015-7.
- Carrasco, S., Panea, B., Ripoll, G., Sanz, A., & Joy, M. (2009). Influence of feeding systems on cortisol levels, fat color and instrumental meat quality in light lambs. *Meat Science*, 83 (1), 50–56. DOI:10.1016/j.meatsci.2009.03.014.
- Carreño, D., Hervás, G., Toral, P. G., Belenguer, A., & Frutos, P. (2015). Ability of different types and doses of tannin extracts to modulate *in vitro* ruminal biohydrogeantion in sheep. *Animal Feed Science and Technology*, 202, 45-51.

- Carvalho, F. A. L., Pateiro, M., Domínguez, R., Barba-Orellana, S., Mattar, J., Rimac Brnčić, S., ... Lorenzo, J. M. (2019). Replacement of meat by spinach on physicochemical and nutritional properties of chicken burgers. *Journal of Food Processing and Preservation*, e13935. DOI:10.1111/jfpp.13935 .
- Castel, J. M., Ruiz, F.A., Mena, Y., & Sánchez-Rodríguez, M. (2010). Present situation and future perspectives for goat production systems in Spain. *Small Ruminant Research*, 89 (2-3), 207-210.
- Chaabani, H., Ioannou, I., Paris, C., Charbonnel, C., & Ghoul, M. (2017). The photostability of flavanones, flavonols and flavones and evolution of their antioxidant activity. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 336, 131–139. DOI:10.1016/j.jphotochem.2016.12.027.
- Chatzopoulou, P. S., & Katsiotis, S. T. (1995). Procedures influencing the yield and the quality of the essential oil from *juniperus communis L.* berries. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, 70 (3), 247–253. DOI:10.1016/0031-6865(95)00026-6.
- Chen, W. S., Liu, D. C., & Chen, M. T. (2002). The effect of roasting temperature on the formation of volatile compounds in Chinese-style pork Jerky. *Asian-Australia Journal Animal Science*, 15, 427–431.
- Chen, G., Madl, R. L., & Smit, S. (2017). Inhibition of advanced glycation endproducts in cooked beef patties by cereal bran addition. *Food Control*, 73, Part B, 847–853.
- Chilliard, Y., Ferlay, A., & Doreau, M. (2001). Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids. *Livestock Production Science*, 70, 31–48.
- Christensen, L., Bertram, H. C., Aaslyng, M. D., & Christensen, M. (2011). Protein denaturation and water–protein interactions as affected by low temperature long time treatment of porcine Longissimus dorsi. *Meat Science*, 88 (4), 718–722. DOI:10.1016/j.meatsci.2011.03.002.
- Cividini, A., Levart, A., & Žgur, S. (2008). Fatty acid composition of lamb meat as affected by production system, weaning and sex. *Acta Agriculture Slovenica* 2, 47-52.
- Cividini, A., Levart, A., Žgur, S., & Kompan, D. (2014). Fatty acid composition of lamb meat from the autochthonous Jezersko–Solčava breed reared in different production systems. *Meat Science*, 97, 480–485.
- Coates, W., & Ayerza, R. (2009). Chia (*Salvia hispanica L.*) seed as an n-3 fatty acid source for finishing pigs: Effects on fatty acid composition and fat stability of the meat and internal fat, growth performance, and meat sensory characteristics. *Journal of Animal Science*, 87 (11), 3798–3804. DOI:10.2527/jas.2009-1987.
- Correal, E., & Sotomayor, J.A. (1998). Sistema ovino-cereal y su repercusión sobre el medio natural. *Pastos*, XXVIII (2), 137-180.
- Croteau, R., Kutchan, T. M., & Lewis, N. G. (2000). Natural products (secondary metabolites). In: Buchanan B, Grussem W, Jones R (Eds.), *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists, 1250–1318.

Bibliografía

- Cutillas, A. B., Carrasco, A., Martinez-Gutierrez, R., Tomas, V., & Tudela, J. (2017). Composition and antioxidant, antienzymatic and antimicrobial activities of volatile molecules from Spanish *Salvia lavandulifolia* (Vahl) essential oils. *Molecules*, 22 (8), 1382. DOI: 10.3390/molecules22081382.
- Cuvelier, M. E., Berset, C., & Richard, H. (1994). Antioxidant constituents in sage (*Salvia officinalis*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 665–669.
- Cuvelier, M. E., Richard, H., Berset, C. (1996). Antioxidative activity and phenolic composition of pilot-plant and commercial extracts of sage and rosemary. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73, 645–652.
- Cvetkovikj, I., Stefkov, G., Acevska, J., Stanoeva, J. P., Karapandzova, M., Stefova, M., ... Kulevanova, S. (2013). Polyphenolic characterization and chromatographic methods for fast assessment of culinary *Salvia* species from South East Europe. *Journal of Chromatography A*, 1282, 38–45. DOI:10.1016/j.chroma.2012.12.068.
- Czerwonka, M., & Tokarz, A. (2017). Iron in red meat—friend or foe. *Meat Science*, 123, 157–165. DOI:10.1016/j.meatsci.2016.09.012.
- Dainty, R. H., & Mackey, B. M. (1992). The relationship between the phenotypic properties of bacteria from chill-stored meat and spoilage processes. *Journal of Applied Bacteriology*, 73, 103s–114s.
- Dal Bosco, A., Castellini, C., & Cardinali, R. (2005). Effect of dietary administration of rosemary extract on the oxidative stability of pigeons meat. *Italian Journal of Food Science*, 17 (4):419–28.
- Dal Bosco, A., Mugnai, C., Roscini, V., Paci, G., & Castellini, C. (2014). Effect of genotype on estimated indexes of fatty acid metabolism in rabbit. *World Rabbit Science*, 22, 21–8.
- Daley, A., Abbott, A., Doyle, P. S., Nader, G. A., & Larson, S. (2010). A review of fatty acid profile and antioxidant content in grass-fed and grain-fed beef. *Nutrition Journal*, 9, (10). DOI: 10.1186/1475-2891-9-10.
- Daniel, Z. C. T. R., Wynn, R. J., Salter, A. M., & Butterly, P. J. (2004). Differing effects of forage and concentrate diets on the oleic acid and conjugated linoleic acid content of sheep tissues: the role of stearoyl-CoA desaturase. *Journal of Animal Science*, 82, 747–758.
- De Brito, G. F., Holman, B. W. B., McGrath, S. R., Friend, M. A., Van de Ven, R., & Hopkins, D. L. (2017). The effect of forage-types on the fatty acid profile, lipid and protein oxidation, and retail colour stability of muscles from White Dorper lambs. *Meat Science*, 130, 81–90. DOI:10.1016/j.meatsci.2017.04.001.
- De Mello, A. S., Calkins, C. R., Jenschke, T. P., Dugan, M. E. R., & Erickson, G. E. (2012). Beef quality of calf-fed steers finished on varying levels of corn-based wet distillers grains plus solubles. *Journal of Animal Science*, 90, 4625–4633.
- De Mello, A. S., Jenschke, B. E., Senaratne, L. S., Carr, T. P., Erickson, G.E., & Calkins, C. R. (2018). Effects of finishing diets containing wet distillers grains plus solubles on beef quality attributes and fatty acid profile. *Meat Science*, 136, 16–22.

De Rancourt, M. M., Fois N., Lavin P., Tchakérian E. & Vallerand F. (2006). Análisis económico de las explotaciones de ganado ovino y caprino en los países de la Europa Mediterránea. XXXI Jornadas científicas X Internacionales de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia, Zamora, 148-151.

Della Malva, A., Albenzio, M, Caroprese., M., Muscio, A., Santillo, A. & Marino, R. (2016). Relationship between slaughtering age, nutritional and organoleptic properties of Altamurana lamb meat. *Small Ruminant Research*, 135, 39-45. DOI.org/10.1016/j.smallrumres.2015.12.020.

De Oliveira, Maia Parente, M., Rocha, K. S., De Bessa, R. J. B., Parente, H. N., de Moura Zanine, A., Machado, N. A. F., ... Alves, S. P. (2019). Effects of the dietary inclusion of babassu oil or buriti oil on lamb performance, meat quality and fatty acid composition. *Meat Science*, 107971. DOI:10.1016/j.meatsci.2019.107971.

Departamento de Sanidad y consumo. (2010). Plan Genérico de Autocontrol en Hostelería. Gobierno Vasco. Recuperado de: https://icoval.org/todoguiasappcc/wp-content/uploads/2018/08/plan_generico_hosteleria.pdf

Derewiaka, D ., & Molińska (née Sosińska), E. (2015). Cholesterol transformations during heat treatment. *Food Chemistry*, 171, 233–240. DOI:10.1016/j.foodchem.2014.08.117.

Dervishi, E., Joy, M., Alvaraz-Rodriguez, J., Serrano, M., & Calvo, J. H. (2011). The forage type (grazing versus hay pasture) fed to ewes and the lamb sex affect fatty acid profile and lipogenic gene expression in the longissimus muscle of suckling lambs. *Journal of Animal Science*, 90, 54-66.

Descalzo, A. M., Insani, E. M., Biolatto, A., Sancho, A. M., García, P. T., Pensel, N. A., & Josifovich, J. A . (2005). Influence of pasture or grain-based diets supplemented with vitamin E on antioxidant/oxidative balance of Argentine beef. *Meat Science*, 70, 35–44.

Devincenzi, T., Prunier, A., Metau, K., & Prache, S. (2018). How does barley supplementation in lambs grazing alfalfa affect meat sensory quality and authentication?. *Animal*, 1-8. DOI:10.1017/s1751731118001477.

Díaz, M. T., Velasco, S., Cañeque, V., Lauzurica, S., Ruiz De Huidobro, F., Pérez, C., ... Manzanares, C. (2002). Use of concentrate or pasture for fattening lambs and its effect on carcass and meat quality. *Small Ruminant Research*, 43 (3), 257–268. DOI:10.1016/S0921-4488(02)00016-0.

Díaz, M. T., Velasco, S., Pérez, C., Lauzurica, S., Huidobro, F., & Cañeque, V. (2003). Physico-chemical characteristics of carcass and meat Manchego-breed suckling lambs slaughtered at different weights. *Meat Science*, 65, 1085-1093.

íaz, M. T., Cañeque, V., Sánchez, C. I., Lauzurica, S., Fernández, C., Álvarez, I., ... De la Fuente. (2011). Nutritional and sensory aspects of light lamb meat enriched in n-3 fatty acids during refrigerated storage. *Food Chemistry*, 124 (1), 147-155. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.05.117.

Bibliografía

- Díaz, M. T., Pérez, C., Sánchez, C. I., Lauzurica, S., Cañeque, V., González, C., De La Fuente, J. (2017). Feeding microalgae increases omega 3 fatty acids of fat deposits and muscle in light lambs. *Journal of Food Composition and Analysis*, 56, 115-123. DOI.org/10.1016/j.jfca.2016.12.009.
- Directiva 93/119/CE. Consejo de la Unión Europea. Protección de los animales en el momento de su sacrificio o matanza. 22 de Diciembre de 1993.
- Directiva 2010/63/ UE. Consejo del Parlamento Europeo y del Consejo. Protección de los animales utilizados para fines científicos. 22 de Septiembre de 2010.
- Dominguez-Hernandez, E., Salaseviciene, A. & Ertbjerg, P. (2018). Low-temperature long time cooking of meat: Eating quality and underlying mechanisms. *Meat Science*, 143, 104– 113.
- Domínguez, R., Gómez, M., Fonseca, S., & Lorenzo, J. M. (2014). Effect of different cooking methods on lipid oxidation and formation of volatile compounds in foal meat. *Meat Science*, 97 (2), 223–230. DOI:10.1016/j.meatsci.2014.01.023
- Doreau, M., & Poncet, C. (2000). Ruminal biohydrogenation of fatty acids originating from fresh or preserved grass. *Reproduction, Nutrition, Development*, 40, 201.
- Du, M., Nam, K. C., & Ahn, D. U. (2001). Cholesterol and Lipid Oxidation Products in Cooked Meat as Affected by Raw-Meat Packaging and Irradiation and by Cooked-Meat Packaging and Storage Time. *Journal of Food Science*, 66(9), 1396–1401. DOI:10.1111/j.1365-2621.2001.tb15221.x.
- Dunne, P. G., O'Mara, F.P., Monahan, F. J., French, P., & Moloney, A. P. (2005). Colour of muscle of 18-month-old steers given long term daily exercise. *Meat Science*, 71, 219–229.
- Dunne, P., Monahan, F., & Moloney, A. (2011). Current perspectives on the darker beef often reported from extensively-managed cattle: Does physical activity play a significant role?. *Livestock Science*, 142 (1), 1-22. DOI: 10.1016/j.livsci.2011.06.018.
- Dweck, A. C. (2005). Introduction. *The folklore and cosmetic use of varius salvia species*. In S.E. Kintzios (Ed.). Sage, the genus Salvia. Singapore. Harwood Academic Publishers.
- Ekiz, B., Yilmaz, A., Yalcintan, H., Yakan, A., Kocak, O., & Ozcan, M. (2019). The effect of production system and finish weight on carcass and meat quality of Kivircik lambs. *Annals of Animal*, 19 (2), 517-528. DOI: 10.2478/aoas-2019-0010.
- Elmore, J. S., Cooper, S. L., Enser, M., Mottram, D. S., Sinclair, L. A., Wilkinson, R. G., & Wood, J.D. (2005). Dietary manipulation of fatty acid composition in lamb meat and its effect on the volatile aroma compounds of grilled lamb. *Meat Science*, 69, 233–242. DOI:10.1016/j.meatsci.2004.07.002.4
- Elliott, A. J., Scheiber, S. A., Thomas, C., & Pardini, R. S. (1992). Inhibition of glutathione reductase by flavonoids. *Biochemical Pharmacology*, 44, 1603-1608.
- 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 Science*, 42 (4), 443-456.

- Enser, M., Hallett, K. G., Hewett, B., Fursey, G. A. J., Wood, J. D., & Harrington, G. (1998). Fatty acid content and composition of UK beef and lamb muscle in relating to production system and implications for human nutrition. *Meat Science*, 49, 329–341.
- Erasmus, S.W., Muller, M., & Hoffman, L.C. (2017). Authentic sheep meat in the European Union: Factors influencing and validating its unique meat quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(7), 1979-1996. DOI.org/10.1002/jsfa.8180.
- Eurostat: Oficina europea de estadísticas. (2017). Comisión Europea. Recuperado de https://ec.europa.eu/info/departments/eurostat-european-statistics_es.
- Facciolongo, A. M., Lestingi, A., Colonna, M. A., De Marzo, D., & Toteda, F. (2018). Effect of diet lipid source (linseed vs. soybean) and gender on performance, meat quality and intramuscular fatty acid composition in fattening lambs. *Small Ruminant Research*, 159, 11-17. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2017.11.015.
- Falowo, A.B., Fayemi, P. O., & Muchenje, V. (2014). Natural antioxidants against lipid-protein oxidative deterioration in meat and meat products: A review. *Food Research International*, 64, 171–181. DOI: 10.1016/j.foodres.2014.06.022.
- Faria, P. B., Bressan, M. C., Vieira, J. O., Vicente-Neto, J., Ferrão, S. P. B., Rosa, F. C., ... Gama, L. T. (2012). Meat quality and lipid profiles in crossbred lambs finished on clover-rich pastures. *Meat Science*, 90 (3), 733-738. DOI:10.1016/j.meatsci.2011.11.004.
- Farida, S. H. M., Radjabian, T., Salami, S. A., Ranjbar, M., & Rahmani, N. (2014). Salvia seed oil: A potential source of omega-3 and omega-6 fatty acids. 2nd international conference and exhibition on pharmacognosy, phytochemistry & natural products, 25–27.
- Farida, S. H. M., Radjabian, T., Ranjbarb, M., Salamic, S. A., Rahmania, N., & Ghorbanid, A. (2016). Fatty acid patterns of seeds of some Salvia Species from Iran- A Chemotaxonomic Approach. *Chemistry & Biodiversity*, 13 (4), 451-458. DOI.org/10.1002/cbdv.201500147.
- Farmakalidis, E., & Murphy, P. A. (1984). Oestrogenic response of the CD-1 mouse to the soya-bean isoflavones genistein, genistin and daidzin. *Food and Chemical Toxicology*, 22 (3), 237–239. doi:10.1016/0278-6915(84)90134-0.
- FAO. (2004). Manejo pre-sacrificio y métodos de aturdimiento y de matanza. Recuperado de: <http://www.fao.org/3/y5454s/y5454s08.pdf>.
- Ferret, A., Calsamiglia, S., Bach, A., Devant, M., Fernández, C., & García-Rebollar, P. (2008).NORMAS FEDNA. Necesidades Nutricionales para rumiantes en cebo. Recuperado de: http://fundacionfedna.org/sites/default/files/NORMAS_RUMIANTES_2008.pdf
- Fernández, A. M., & Vieira, C. (2012). Effect of chilling applied to suckling lamb carcasses on hygienic, physicochemical and sensory meat quality. *Meat Science*, 92, 569–574.

- Fernandes, R. P. P., Trindade, M. A., Tonin, F. G., Pugine, S. M. P., Lima, C. G., Lorenzo, J. M., & De Melo, M. P. (2017). Evaluation of oxidative stability of lamb burger with *Origanum vulgare* extract. *Food Chemistry*, 233, 101–109. DOI.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.100.
- Fernández-Acosta, K., Salmeron, I., Chavez-Flores, D., Perez-Reyes, I., Ramos, V. Ingadi, M., ... Perez-Vega, S. (2019). Evaluation of different variable on the supercritical CO₂ extraction of oat (*Avena sativa L.*); main fatty acids, polyphenols, and antioxidant content. *Journal of Cereal Science*, 88, 118-124.
- Figiel, A., Szumny, A., Gutierrez-Ortiz, A., & Carbonell-Barrachina, A. A. (2010). Composition of oregano essential oil (*Origanum vulgare*) as affected by drying method. *Journal of Food Engineering*, 98, 240-247.
- Fisher, A. V., Enser, M., Ricjardson, R. I., Wood, J. D., Nute, G. R., Kurt, E., ... Wilkinson, R. G. (2000). Fatty acid composition and eating quality of lamb types derived from four diverse breed x production systems. *Meat Science*, 55, 141-147. DOI: 10.1016/s0309-1740(99)00136-9.
- Flakemore, A. R., Malau-Aduli, B .S., Nichols, P. D., & Malau- Aduli, O. E. A. (2017). Omega-3 fatty acids, nutrient retention values, and sensory meat eating quality in cooked and raw Australian lamb. *Meat Science*, 123, 79–87. DOI.org/10.1016/j.meatsci.2016.09.006.
- Font-i-Furnols, M., & Guerrero, L. (2014). Consumer preference, behaviour and perception about meat and meat products: An overview. *Meat Science*, 98 (3), 361-371. DOI: 10.1016/j.meatsci.2014.06.025.
- Fournier, V., Destaillats, F., Juanéda, P., Dionisi, F., Lambelet, P., Sébédio, J.-L., & Berdeaux, O. (2006). Thermal degradation of long-chain polyunsaturated fatty acids during deodorization of fish oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 108 (1), 33- 42. DOI:10.1002/ejlt.200500290.
- Frankel, E. N. (1982). Volatile lipid oxidation products. *Progress in Lipid Research*, 22, 1–33.
- Frank, D., Kaczmarska, K., Paterson, J., Piyasiri, U., & Warner, R. (2017). Effect of marbling on volatile generation, oral breakdown and in mouth flavour relase of grilled beef. *Meat Science*, 133, 61-68. DOI: 10.1016/j.meatsci.2017.06.006.
- Fraser, M. D., Speijers, M. H. M., Theobald, V. J., Fychan, R., & Jones, R. (2004).Production performance and meat quality of grazing lambs finished on red clover, Lucerne or perennial ryegrass swards. *Grass and Forage Science*, 59, 345-356.
- Freitas, M. T., Amaral, C. A. A., Coutrim, M. X., Afonso, R.J. C. F., & Junqueira, R. G. (2015).Effect of cooking method on the formation of 7-ketocholesterol in Atlantic hake (*Merluccius hubbsi*) and smooth weakfish (*Cynoscion leiar-chus*) fillets. *LWT-Food Science and Technology*, 62, 1141-1147. DOI.org/10.1016/j.lwt.2015.01.047.
- Freitas-de-Melo, A., & Ungerfeld, R., 2016. Destete artificial en ovinos: respuesta de estrés y bienestar animal (Artificial weaning in sheep: stress response and animal welfare). *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 7, 361–375.

- Fruet, A.P.B., De Mello, A., Trombetta, F., Stefanello, F.S., Speroni, C.S., De Vargas, D.P., & Nörnberg, J.L. (2018). Oxidative stability of beef from steers finished exclusively with concentrate, supplemented, or on legume-grass pasture. *Meat Science*, 145, 121-126. DOI: 10.1016/j.meatsci.2018.06.015.
- Galina, M. A., Osnaya, F., Cuchillo, H.M., & Haenlein, G. F.W. (2007). Cheese quality from milk of grazing or indoor fed Zebu cows and Alpine crossbred goats. *Small Ruminant Research*, 71, 264–272.
- Gallardo, B., Gómez-Cortés, P., Mantecón, A. R., Juárez, M., Manso, T., & de la Fuente, M. A. (2014). Effects of olive and fish oil Ca soaps in ewe diets on milk fat and muscle and subcutaneous tissue fatty-acid profiles of suckling lambs. *Animal*, 8 (7), 1178–1190. DOI:10.1017/s1751731114000238.
- Gandamer, G. (2002). Lipid in muscles and adipose tissues, changes during processing and sensory properties of meat products. *Meat Science*, 62, 309-321. DOI:10.1016/s0309-1740(02)00128-6.
- García, J., Rouco, A., & Correal, E. (2005). Análisis económico de las explotaciones de ganado ovino y caprino. *Anales de Veterinaria de Murcia*, 21, 109-120.
- Gaspar, V. T., De la Calle, D., S. Moreno, R., E., Tores, J. M. A., & Moreiras, G. V. (2010) Guía nutricional de la carne. FEDECARNE. <https://carnimad.es/ficheros/swf/pdf/guiaNutricion.pdf>
- Gaspar, P., Escribano, A.J., Mesías, F. J., Escribano, M. & Pulido, A. F. (2011). Goat systems of Villuercas-Ibores area in SW Spain: Problems and perspectives of traditional farming systems. *Small Ruminant Research*, 97 (1-3), 1-11. DOI.org/10.1016/j.smallrumres.2011.03.001.
- Gatellier, P., Mercier, Y., & Renerre, M. (2004). Effect of diet finishing mode (pasture or mixed diet) on antioxidant status of Charolais bovine meat. *Meat Science*, 67, 385–394.
- Geay, Y., Bauchart, D., Hovquette, J. F., & Culoli, J. (2001). Effect of nutritional factors on biochemical, structural and metabolic characteristics of muscle in ruminants, consequences on dietetic values and sensorial qualities of meat. Review. *Reproduction Nutrition Development*, 41, 1-26.
- Generalic, I., Skroza, D., Sürjaka, J. S., Mozinab, S. S., Ljubenkovic, I., & Katalinic, A. (2012). Seasonal Variations of Phenolic Compounds and Biological Properties in Sage (*Salvia officinalis* L.). *Chemistry & Biodiversity*, 9, DOI.org/10.1002/cbdv.201100219.
- Gerber, N., Scheeder, M. R. L., & Wenk, C. (2009). The influence of cooking and fat trimming on the actual nutrient intake from meat. *Meat Science*, 81, 148–154. DOI.org/10.1016/j.meatsci.2008.07.012.
- Gil, M. D., Bañón, S., Laencina, J., & Garrido, M. D. (2004). Oxidación del colesterol en carne y derivados: factores que determinan su formación. *Anales de Veterinaria de Murcia*, 20, 21-34.

Bibliografía

- Giua, L., Blasi, F., Simonetti, M. S., & Cossignani, L. (2013). Oxidative modifications of conjugated and unconjugated linoleic acid during heating. *Food Chemistry*, 140 (4), 680–685. DOI:10.1016/j.foodchem.2012.09.067.
- Giuliani, C., Ascrizzi, R., Corrà, S., Bini, L. M., Flamini, G., & Fico, G. (2017). Ultrastructural insight into terpene-producing trichomes and essential oil profile in *Salvia greggii* A. Gray. *Flora*, 236, 107-114.
- Gladine, C., Rock, E., Morand, C., Bauchart, D., & Durand, D. (2007). Bioavailability and antioxidant capacity of plant extracts rich in polyphenols, given as a single acute dose, in sheep made highly susceptible to lipoperoxidation. *British Journal of Nutrition*, 98 (4), 691–701. DOI:10.1017/S0007114507742666.
- Gloria-Trujillo, A., Hernández-Sánchez, D., Hernández-Mendo, O., Crosby-Galván, M. M., Merez-Romero, E., Mata-Espinosa, M. A., & Pinto-Ruiz, R. (2018). Biohidrogenación ruminal de ácidos grasos en carneros complementados con *Saccharomyces cerevisiae*. *Agrociencia*, 53 (1), 13-23.
- Gómez-Cortes, P., Guerra, C., Gallerdo, B., Lavín, P., Mantecón, A. R., De la Fuente, M. A., & Manso, T. (2018). Grape pomace in ewe diets: Effects on meat quality and the fatty acid profile of their suckling lamb. *Food Research International*, 113, 36-42. doi:10.1016/j.foodres.2018.06.052.
- Gravador, R. S., Jongberg, S., Andersen, M. L., Luciano, G., Priolo, A., & Lund, M. N. (2014). Dietary citrus pulp improves protein stability in lamb meat stored under aerobic conditions. *Meat Science*, 97 (2), 231–236. DOI:10.1016/j.meatsci.2014.01.016.
- Gravador, R. S., Luciano, G., Jongberg, S., Bognanno, M., Scerra, M., Andersen, L. M., ... & Priolo, A. (2015^a). Fatty acids and oxidative stability of meat from lambs fed carob-containing diets. *Food Chemistry*, 182, 27-34. DOI.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.094.
- Gravador, R. S., Serra, A., Luciano, G., Pennisi, P., Vasta, V., Mele, M., Pauselli, M., & Priolo, A. (2015^b). Volatiles in raw and cooked meat from lambs fed olive cake and linseed. *Animal*, 9, 715–722. DOI: <https://doi.org/10.1017/S1751731114002730>.
- Gray, J. I., Gomaa, E. A., & Buckley, D. J. (1996). Oxidative quality and shelf life of meats. *Meat Science*, 43, S111–S123.
- Guerrero, A., Sañudo, C., Campo, M. M., Olleta, J. L., Muela, E., Macedo, R. M. G., & Macedo, F. A. F. (2018). Effect of linseed supplementation level and feeding duration on performance, carcass and meat quality of cull ewes. *Small Ruminant Research*, 167, 70–77. DOI:10.1016/j.smallrumres.2018.07.014.
- Guerreiro, O., Alves, S. P., Soldado, D., Cachucho, L., Almeida, J., Francisco, A., ... Jerónimo, E. (2019). Inclusion of the aerial part and condensed tannin extract from *Cistus ladanifer* L. in lamb diets – Effects on growth performance, carcass and meat quality and fatty acid composition of intramuscular and subcutaneous fat. *Meat Science*, 107945. DOI:10.1016/j.meatsci.2019.107945.

- Guidera, J., Kerry, J. P., Buckley, D. J., Lynch, P. B., & Morrissey, P. A. (1997). The effect of dietary vitamin E supplementation on the quality of fresh and frozen lamb meat. *Meat Science*, 45, 33–43.
- Ha, Y. L., Grimm, N. K., & Pariza, M. W. (1989). Newly recognized anticarcinogenic fatty acids: Identification and quantification in natural and processed cheeses. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 37, 75–81. DOI.org/10.1021/jf00085a018.
- Hajji, H., Joy, M., Ripoll, G., Smeti, S., Mekki, I., Molino Gahete, F., ... Atti, N. (2016). Meat physicochemical properties, fatty acid profile, lipid oxidation and sensory characteristics from three North African lamb breeds, as influenced by concentrate or pasture finishing diets. *Journal of Food Composition and Analysis*, 48, 102-110. DOI.org/10.1016/j.jfca.2016.02.011.
- Harfoot, C. G., & Hazlewood, G. P. (1988). *The rumen microbial ecosystem*. London, New York: Elsevier applied science.
- Haro, A. M., Artacho, R., & Cabrera-Vique, C. (2006). Ácido linoleico conjugado: Interés actual en nutrición humana. *Revisión Medicina Clínica*, 127 (13), 508–515.
- Hayouni, E. A., Chraief, I., Abedrabba, M., Bouix, M., Leveau, J.-Y., Mohammed, H., & Hamdi, M. (2008). Tunisian *Salvia officinalis* L. and *Schinus molle* L. essential oils: Their chemical compositions and their preservative effects against *Salmonella* inoculated in minced beef meat. *International Journal of Food Microbiology*, 125 (3), 242–251.
- Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., & Bobilya, D. J. (2002). Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of nutritional biochemistry*, 13,(10), 572-584. DOI: 10.1016/S0955-2863(02)00208-5.
- Hénon, G., Kemény, Z., Recseg, K., Zwobada, F., & Kövári, K. (1997). Degradation of α-linolenic acid during heating. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 74b (12), 1615–1617. DOI:10.1007/s11746-997-0087-z .
- Hernández, P., Navarro, J. L., & Toldrá, F. (1999). Lipids of pork meat as affected by various cooking techniques. *Food Science and Technology International*, 5 (6), 501–508.
- Herraiz-Peñaíver, D., Usano-Alemany, J., Cuadrado, J., Jordán, M. J., Lax, V., Sotomayor, J. A., & Palá- Paúl, J. (2010). Essential oil composition of wild populations of *Salvia lavandulifolia* Vahl. From Castilla- La Mancha (Spain). *Biochemical Systematics and Ecology*, 38, 1224-1230. DOI:10.1016/j.bse.2010.10.015.
- Hess, B. W., Moss, G. E., & Rule, D. C. (2008). A decade of developments in the area of fat supplementation research with beef cattle and sheep. *Journal of Animal Science*, 86, 188–204. DOI:10.2527/jas.2007-0546.
- Ho, C. -T., Oh, Y. C., & Bae-Lee, M. (1994). The flavour of pork. In F. Shahidi (Ed.), *Flavour of meat and meat products*, 38–51 Glasgow: Chapman and Hall.
- Hopkins, D. L., Stanley, D. F., Martin, L. C., Toohey, E. S., & Gilmour, A. R. (2007). Genotype and age effects on sheep meat production. 3. Meat quality. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 47, 1155–116.

- Hopkins, D. L., & Mortimer, S. I. (2014). Effect of genotype, gender and age on sheep meat quality and a case study illustrating integration of knowledge. *Meat Science*, 98, 544-555. DOI: 10.1016/j.meatsci.2014.05.012.
- Hrdina-Dubsky, D. L. (1989). Sous vide finds its niche. *Food Engineering International*, 14 (40-42), 44- 48.
- Hu, S. J., Lee, S. Y., Moon, S. S., & Lee, S. J. (2014) In vitro effect of cooking methods on digestibility of lipids and formation of cholesterol oxidation products in pork. *Korean Journal of Food Science of animal resource*, 34 (3), 280-286. DOI: 10.5851/kosfa.2014.34.3.280.
- Huang, T-C., & Ho, C-T. (2012). *Flavors and flavor generation of meat products*. Handbook of meat and meat processing (2nd ed.). 107-138.
- Humada, M. J., Sañudo, C., & Serrano, E. (2014). Chemical composition, vitamin E content, lipid oxidation, colour and cooking losses in meat from Tudanca bulls finished on semi-extensive or intensive systems and slaughtered at 12 or 14 months. *Meat Science*, 96, 908–915.
- Hur, S.J., Park, G. B., & Joo, S. T. (2007). Formation of cholesterol oxidation products (COP) in animal products. *Food Control*, 18, 939–947.
- Igene, J. O., King, J. A., Pearson, A. M., & Gray, J. I. (1979). Influence of heme pigments, nitrite, and non-heme iron on development of warmed-over flavor (WOF) in cooked meat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 27, 838–841. DOI.org/10.1021/jf60224a052.
- Inserra, L., Priolo, A., Biondi, L., Lanza, M., Bognanno, M., Gravador, R., Luciano, G. (2014). Dietary citrus pulp reduces lipid oxidation in lamb meat. *Meat Science*, 96, 1489-1493. DOI.org/10.1016/j.meatsci.2013.12.014.
- ISO 1443. (1973). Determination of total fat content. In international Organization for Standardization (Ed.), International standards meat and meat products. www.iso.org.
- ISO 1442. (1997). Determination of moisture content. In international standards meat and meat products. www.iso.org.
- ISO 2917. (1999). Measurement of the pH. In international standards meat and meat products. www.iso.org.
- ISO 16649-2. (2001). Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive Escherichia coli-Part 2: Colonycount technique at 44 degrees C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta-D-glucuronide. www.iso.org
- ISO 6579 . (2002). Microbiology of the food chain. Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella. Part 1: Detection of Salmonella spp. www.iso.org.
- ISO 4833. (2003). Microbiology of food animal feeding stuffs. Horizontal method for the enumeration of microorganism. Colony-count technique at 30 ° C. www.iso.org.

ISO 4121. (2003). Publications. Sensory analysis methodology. Evaluation of food products by methods using scales. In international Organization for Standardization- www.iso.org.

ISO 8589. (2007). Publications. Sensory analysis methodology. General guidance for the design of test rooms. In international Organization for Standardization- www.iso.org.

ISO 8586. (2012). Publications. Sensory analysis methodology. General guidance for the selection and training and monitoring of assessors. Part 1. Selected assessors. In international Organization for Standardization- www.iso.org.

Ito, R. H., Valero, M. V., Prado, R. M., Rivalori, D. C., Perotto, D., & Prado, I. N. (2012). Meat quality from four genetic groups of bulls slaughtered at 14 months old. *Acta Scientiarum Animal Science*, 34 (4), 425-432. DOI: 10.4025/actascianimsci.v34i4.14728.

Janoszka, B., Blaszczyk, U., Damasiewicz-Bodzek, A., & Sajewicz, M. (2009). Analysis of heterocyclic amines (HAs) in pan-fried pork meat and its gravy by liquid chromatography with diode array detection. *Food Chemistry*, 113 (4), 1188–1196. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.08.005.

Jayanegara, A., Kreuzer, M., & Leiber, F. (2012). Ruminal disappearance of polyunsaturated fatty acids and appearance of biohydrogenation products when incubating linseed oil with alpine forage plant species. *Livestock Science*, 147, 104-112. DOI.org/10.1016/j.livsci.2012.04.009.

Jenkins, T. C. (1994). Regulation of lipid metabolism in the rumen. *Journal of Nutrition*, 124, 1372S–1376.

Jeremiah, L. E. (2001). Packaging alternatives to deliver fresh meats using short-or long-term distribution. *Food Research International*, 34, 749-772.

Jeronimo, E., Alves, S. P., Prates, J. A. M., Santos-Silva, J., & Bessa, R. J. B. (2009). Effect of dietary replacement of sunflower oil with linseed oil on intramuscular fatty acids of lamb meat. *Meat Science*, 83, 499-505. DOI:10.1016/j.meatsci.2009.06.033.

Jeronimo, E., Alfaia, C. M. M., Alves, S. P., Dentinho, M. T. P., Prates, J. A. M., Vasta, V., ... Bessa, R. J. B. (2012). Effect of dietary grape seed extract and Cistus ladanifer L. in combination with vegetable oil supplementation on lamb meat quality. *Meat Science*, 92 (4), 841-847. DOI: 10.1016/j.meatsci.2012.07.011.

Jiang, H., Wang, Z., Ma, Y., Qu, Y., Xiaonan, L., Guo, H., & Luo, H. (2015). Effect of dietary lycopene supplementation on growth performance, meat quality, fatty acid profile and meat lipid oxidation in lambs in summer conditions. *Small Ruminant Research*, 131, 99-106.

Jordán, M. J., Martínez, C., Moñino, M. I., Lax, V., Quílez, M., & Sotomayor, J. A. (2009). Chemical Characterization of *Salvia lavandulifolia* subsp. *Vellerea* in South-Eastern Spain. Ist IC on Culinary Herbs, *Acta Horticulturae*, 826, 317-324.

- Jordán, J. M., Moñino, I. M., Martínez, C., LaFuente, A., & Sotomayor, J. A. (2010). Introduction of distillate Rosemary Leaves into the diet of the Murciano-Granadina Goat: Transfer: transfer of polyphenolic compounds to Goats' Milk and the plasma of suckling goat kids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 8265-8270. DOI:10.1021/jf100921z.
- Jordán, M., Castillo, J., Bañón, S., Martínez-Conesa, C., & Sotomayor, J.S. (2014). Relevance of the carnosic acid/ carnosol ratio for the level of rosemary diterpene transfer and for improving lamb meat antioxidant status. *Food Chemistry*, 151, 212-218. DOI.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.068.
- Joy, M., Ripoll, G., & Delfa, R. (2008). Effects of feeding system on carcass and non-carcass composition of Churra Tensina light lambs. *Small ruminant research*, 78, 123-133. DOI.org/10.1016/j.smallrumres.2008.05.011
- Joy, M., Álvarez-Rodríguez, J., Revilla, R., Delfa, R., & Ripoll, G. (2008). Ewe metabolic performance and lambs carcass traits in pasture and concentrate-base production systems in Churra Tensina breed. *Small Ruminant Research*, 75 (1), 24-35. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2007.07.005.
- Joy, M., Ripoll, G., Molino, F., Dervishi, E., & Álvarez-Rodriguez, J. (2012). Influence of the type of forage supplied to ewes in pre- and post-partum on the meat fatty acids of suckling lambs. *Meat Science*, 90, 775-782. DOI.org/10.1016/j.meatsci.2011.11.013.
- Joy, M., Sanz, A., Ripoll, G., Panea, B., Ripoll-Bosch, R., Blasco, I., & Alvarez-Rodriguez, J. (2012^a). Does forage type (grazing vs. hay) fed to ewes before and after lambing affect suckling lambs performance, meat quality and consumer purchase intention? *Small Ruminant Research*, 104 , 1-9. DOI:10.1016/j.smallrumres.2011.09.048.
- Joy, M., Ripoll, G., Molino, F., Dervishi, E., & Álvarez-Rodriguez, J. (2012^b). Influence of the type of forage supplied to ewes in pre- and postpartum periods on the meat fatty acids of suckling lambs. *Meat Science*, 90, 775-782. DOI:10.1016/j.meatsci.2011.11.013.
- Kaic, A., Mioč, B., Kasap, Ante., & Levart, A. (2016). Physicochemical properties of meat of Lika Pramenka lambs raised under semi-extensive production system: effects of sex, slaughter weight and season. *Veterinarski Archiv*, 86 (2), 229-241.
- Karamanos, A. J. (2000). *The cultivation of sage. Cultivation and breeding. Sage: the genus Salvia. Medicinal and Aromatic Plants*. Kintzios, SE (Ed). Harwood Academic Publishers, Amsterdam, 14, 93-108.
- Karpinska-Tymoszczyk, M. (2007). Effects of sage extract (*Salvia officinalis* L.) and amixture of sage extract and sodium isoascorbate on the quality and shelf life of vacuum-packed turkey meatballs. *Journal of Muscle Foods*, 18 (4), 420-434. DOI.org/10.1111/j.1745-4573.2007.00096.x
- Kanner, J. (1994). Oxidative processes in meat and meat products: Quality implications. *Meat Science*, 36, 169-174.
- Kanokruangrong, S., Birch, J., & Bekhit, A. A. (2019). Processing effects on meat flavour. *Encyclopedia of Food Chemistry*. 302-308.

- Karabagias, I., Badeka, A., & Kontominas, M.G. (2011). Shelf life extensión of lamb meat using tyhmes or oregano essential oils and modified atmosphere packaging. *Meat Science*, 88 (1), 109-116. DOI: 10.1016/j.meatsci.2010.12.010.
- Khan, M. I., Min, J-S., Lee, S-O., Yim, D, G., Seol, K-H., Lee, M., & Jo, C. (2015). Cooking, storage, and reheating effect on the formation of cholesterol oxidation products in processed meat products. *Lipids in Health and Disease*, 14, 89. DOI 10.1186/s12944-015-0091-5.
- Khlijji, S., Van de Ven, R., Lamb, T.A., Lanza, M., & Hopkins, D.L. (2010). Relationship between consumer ranking of lamb colour and objective measures of colour. *Meat Science*, 85, 224–229. DOI: 10.1016/j.meatsci.2010.01.002.
- King, N. J., & Whyte, R. (2006). Does it look cooked? A review of factors that influence cooked meat color. *Journal of Food Science*, 71, 31–40. DOI.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00029.x.
- Kilic, T., Dirmenci, T., Satil, F., Bilsel, G., Kocagoz, T., Altun, M., & Goren, A. C. (2005). Fatty acid composition of seed oils of three Turkish Salvia species and Biological activities. *Chemistry of Natural Compounds*, 41 (3), 276-279.
- Kitessa, S., Liu, S., Briegel, J., Pethick, D., Gardner, G., Ferguson, M., ... Hopkins, D. (2010). Effects of intensive or pasture finishing in spring and linseed supplementation in autumn on the omega-3 content of lamb meat and its carcass distribution. *Animal Production Science*, 50 (2), 130. DOI:10.1071/an09095.
- Klejdus, B., Mikelová, R., Adam, V., Zehnálek, J., Vacek, J., Kizek, R., & Kubáň, V. (2004). Liquid chromatographic–mass spectrometric determination of genistin and daidzin in soybean food samples after accelerated solvent extraction with modified content of extraction cell. *Analytica Chimica Acta*, 517(1-2), 1–11. doi:10.1016/j.aca.2004.05.003
- Kondo, T., Yoshikane, M., Goto, T., & Yoshida, K. (1989). Structure of anthocyanins in scarlet, purple, and blue flowers of salvia. *Tetrahedron Letters*, 30 (48), 6729–6732. DOI:10.1016/s0040-4039(00)70662-9.
- Kotsampasia, B., Tsiplakoub, E., Christodoulou, C., Mavrommatis, A., Mitsiopoulou, C., Karasikou, C., ... Zervas, G. (2018). Effects of dietary orange peel essential oil supplementation on milk yield and composition, and blood and milk antioxidant status of dairy ewes. *Animal Feed Science and Technology*, 245, 20-31. DOI.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.08.007.
- Kooohmaraie, M., & Geesink, G. H. (2006). Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. *Meat Science*, 74, 34-43.
- Lambooij, E., Potgieter, C. M., Britz, C. M., Nortje, G. L., & Pieterse, C. (1999). Effects of electrical and mechanical stunning methods on meat quality in ostriches. *Meat Science*, 52, 331-337.

- Lanza, M., Bella, M., Priolo, A., Bargalla, D., Galofaro, V., Landi, C., Pennisi, P. (2006). Lamb meat quality as affected by a natural or artificial milk feeding regime. *Meat Science*, 73, 313–318. DOI.org/10.1016/j.meatsci.2005.12.006.
- Lanza, M., Fabro, C., Scerra, M., Bella, M., & Pennisi, P (2011). Lamb meat quality and intramuscular fatty acid composition as affected by concentrates including different legume seeds. *Italian Journal of Animal Science*, 10 (2), DOI.org/10.4081/ijas.2011.e18.
- Lee, J.H., Waller, J.C., Melton, S.L., Saxton, A.M., & Pordesimo, L.O. (2004). Feeding encapsulated ground full-fat soybeans to increase polyunsaturated fat concentrations and effects on flavor volatiles in fresh lamb. *Journal of Animal Science* 82, 2734–2741.
- Lee, S. O., Lim, D. G., Seol, K. H., Erwanto, Y., & Lee, M. (2006) Effects of various cooking and re-heating methods on cholesterol oxidation products of beef loin. *Asian Australasian Journal of Animal Science*, 19 (5) , 756-762. DOI: 10.5713/ajas.2006.756.
- Ledward, D. A., & Shorthose, W. R. (1971). A note on the haem pigment concentration of lamb as influenced by age and sex. *Animal Production*, 13, 193–195.
- Lercker, G., & Rodriguez-Estrada, M. T. (2000). Cholesterol oxidation: Presence of 7-ketocholesterol in different food products. *Journal of Food Composition and Analysis*, 10 (4), 625–631. DOI.org/10.1006/jfca.2000.0901.
- Lestingi, A., Facciolongo, A. M., Marzo, D. De., Nicastro, F., & Toteda, F. (2015). The use of faba bean and sweet lupin seeds in fattening lamb feed. 2. Effects on meat quality and fatty acid composition. *Small Ruminant Research*, 182, 27-34. DOI.org/10.1016/j.smallrumres.2015.07.003.
- Lestingi, A., Facciolongo, A. M., Caputi Jambrenghic, A., Ragnic, M., & Toteda, F. (2016). The use of peas and sweet lupin seeds alone or in association for fattening lambs: Effects on performance, blood parameters and meat quality. *Small Ruminant Research*, 143, 15-23.
- Li, B., Zhang, C., Peng, L., Liang, Z., Yan, X., Zhu, Y., & Liu, Y. (2015). Comparison of essential oil composition and phenolic acid content of selected *Salvia* species measured by GC-MS and HPLC methods. *Industrial Crops and Products*, 69, 329-334. DOI.org/10.1016/j.indcrop.2015.02.047.
- Li, K., McKeith, A. G., Shen, C., & McKeith, R. (2017). A comparison study of quality attributes of ground beef and veal patties and thermal inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 after double pan-broiling under dynamic conditions. *Foods*, 7, 1. DOI:10.3390/foods7010001
- Lin, C. S. K., Koutinas, A. A., Stamatelatou, K., Mubofu, E. B., Matharu, A. S., Kopsahelis, N., ... Luque, R. (2014). Current and future trends in food waste valorization for the production of chemicals, materials and fuels: a global perspective. *Biofuels, Bioproducts & Biorefining*, 8, 686–715.

- Linares, M. B., Bórnez, R., & Vergara, H. (2008). Effect of stunning systems on meat quality of Manchego suckling lamb packed under modified atmospheres. *Meat Science*, 78, 279–287.
- Lobón, S., Blanco, M., Sanz, A., Ripoll, G., Bertolín, J. R., & Joy, M. (2017). Meat quality of light lambs is more affected by the dam's feeding system during lactation than by the inclusion of quebracho in the fattening concentrate1. *Journal of Animal Science*, 95 (11), 4998–5011. DOI:10.2527/jas2017.1595.
- López-Andrés, P., Luciano, G., Vasta, V., Gibson, T. M., Biondi, L., Priolo, A., & Mueller-Harvey, I. (2013). Dietary quebracho tannins are not absorbed, but increase the antioxidant capacity of liver and plasma in sheep. *British Journal of Nutrition*, 110 (4), 632–639. DOI:10.1017/s0007114512005703.
- Lorenz, S., Buettner, A., Ender, K., Nürnberg, G., Papstein, H.J., Schieberle, P., & Nürnberg, K. (2002). Influence of keeping system on the fatty acid composition in the longissimus muscle of bulls and odorants formed after pressure-cooking. *European Food Research and Technology*, 214, 112–118.
- Lourenço, M., Cardozo, P. W., Calsamiglia, S., & Fievez, V. (2008). Effects of saponins, quercetin, eugenol, and cinnamaldehyde on fatty acid biohydrogenation of forage polyunsaturated fatty acids in dual-flow continuous culture fermenters. *Journal of Animal Science*, 86 (11), 3045–3053. DOI: 10.2527/jas.2007-0708.
- Lu, Y., & Fo, Y. (2001). Antioxidant activities of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*). *Food Chemistry*, 72, 197–202.
- Lu, Y., & Fo, L. Y. (2002). Polyphenolics of Salvia—a review. *Phytochemistry*, 59 (2), 117–140. DOI:10.1016/s0031-9422(01)00415-0.
- Luciano, G., Biondi, L., Pagano, R. I., Scerra, M., Vasta, V., López-Andrés, P., ... Avondo, A. (2012). The restriction of grazing duration does not compromise lamb meat colour and oxidative stability. *Meat Science*, 92, 30–35. DOI:10.1016/j.meatsci.2012.03.017.
- Luciano, G., Biondi, L., Scerra, M., Serra, A., Mele, M., Lanza, M., & Priolo, A. (2013). The effect of the change from a herbage- to a concentrate- based diet on the oxidative stability of raw and cooked lamb meat. *Meat Science*, 95, 212–218.
- Luciano, G., Nataello, A., Mattioli, S., Pauselli, M., Sebastiani, B., Niderkorn, V., ... Valenti, B. (2019). Feeding lambs with silage mixtures of grass, sainfoin and red clover improves meat oxidative stability under high oxidative challenge. *Meat Science*, 156, 59–67. DOI.org/10.1016/j.meatsci.2019.05.020.
- Luna, P., Juárez, M., & de la Fuente, M. A. (2007). Fatty acid and conjugated linoleic acid isomer profiles in human milk fat. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109, 1160–1166. DOI 10.1002/ejlt.200700139
- Lynch, A., Kerry, J.P., O'Sullivan, M.G., Lawlor, J.B.P., Buckley, D.J., & Morrissey, P.A. (2000). Distribution of alpha-tocopherol in beef muscles following dietary alpha-tocopheryl acetate supplementation. *Meat Science*. 56, 211–214. DOI.org/10.1016/S0309-1740(00)00033-4.

Bibliografía

- McAfee, A. J., McSorley, E. M., Cuskelly, G. J., Moss, B. W., Wallace, J. M. W., Bonham, M. P., & Fearon, M. (2010). Red meat consumption: An overview of the risks and benefits. *Meat Science*, 84, 1–13. DOI:10.1016/j.meatsci.2009.08.029
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remez, C., & Jimenez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 727–747.
- Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A., & Rémesy, C. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans, I. Review of 97 bioavailability studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81, 230–242. DOI: 10.1093/ajcn/81.1.230S.
- Manso, T., Bodas, R., Vieira, C., Mantecó, A.R., & Castro, T. (2011). Feeding vegetable oils to lactating ewes modifies the fatty acids profile of suckling lambs, *The Animal Consortium*, 5 (10), 1659-1667. DOI:10.1017/S175173111000632.
- Maranesi, M., Bochicchio, D., Montellato, L., Zaghini, A., Pagliuca, G., & Badiani, A. (2005). Effect of microwave cooking or boiling on selected nutrient contents, fatty acid patterns and true retention values in separable lean from lamb rib-loin, with emphasis on conjugated linoleic acid. *Food Chemistry*, 90, 207–218.
- Martínez-Álvaro, M., Blasco, A., & Hernández, P. (2017). XVII Jornadas sobre Producción Animal, Efecto de la selección por grasa intramuscular en la composición de ácidos grasos de la carne de conejo. AIDA 477-479, Zaragoza.
- MAPA. (2019). Informe del consumo alimentario en España 2018. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.
- MAPAMA. (última consulta 2019). Catálogo Oficial de Razas de Ganado en España. Ovino de raza autóctona de fomento. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.
- MAPAMA. (última consulta 2019). Denominaciones comerciales de la carne del ovino. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.
- MAPAMA. (2017). Informe del impacto, vulnerabilidad y adaptación al cambio climático de los sistemas extensivos de producción ganadera en España. Ministerio de Agricultura, Pesca, Alimentación y Medio Ambiente.
- MAPA. (2018). El sector ovino y caprino de carne en cifras. Principales indicadores económicos. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.
- Marmer, W. N., Maxwell, R. J., & Williams, J. E. (1984). Effects of dietary regimen and tissue site on bovine fatty acid profiles. *Journal of Animal Science*, 59 (1), 109–121.
- Mazzone, G., Giamarco, M., Vignol, G., Sardi, L., & Lambertini, L. (2010). Effects of the rearing season on carcass and meat quality of suckling Apennine light lambs. *Meat Science*, 86, 474-478.
- Mekinic, I. G., Skroza, D., Surjak, J., Mozina, S. S., Ljubenkov, I., Katalinic, A., ... Katalinic, V. (2012). Seasonal variations of phenolic compounds and biological properties in sage (*Salvia officinalis* L.). *Chemistry & Biodiversity*, 9 (2), 441–457. DOI: 10.1002/cbdv.201100219.

- Mel'uchová, B., Blaško, J., Kubinec, R., Górová, R., Dubravská, J., Margetín, M., & Soják, L. (2008). Seasonal variations in fatty acid composition of pasture forage plants and CLA content in ewe milk fat. *Small Ruminant Research*, 78 (1-3), 56-65. DOI.org/10.1016/j.smallrumres.2008.05.001.
- Min, B. R., Barry, T. N., Attwood, G. T., & McNabb, W. C. (2003). The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 106 (1-4), 3-19. DOI.org/10.1016/S0377-8401(03)00041-5.
- Mira-Sánchez, M. D., Castillo-Sánchez, J., & María Morillas-Ruiz, J. (2019). Comparative study of rosemary extracts and several synthetic and natural food antioxidants. Relevance of carnosic acid/carnosol ratio. *Food Chemistry*, 125688. DOI:10.1016/j.foodchem.2019.125688.
- Mizi, L., Cofrades, S., Bou, R., Pintado, T., López-Caballero, M. E., Zaidi, F., & Jiménez-Colmenero, F. (2019). Antimicrobial and antioxidant effects of combined high pressure processing and sage in beef burgers during prolonged chilled storage. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 51, 32-40. DOI.org/10.1016/j.ifset.2018.04.010.
- Moñino, I., Martínez, C., Sotomayor, J. A., Lafuente, A., & Jordán, M. J. (2008) Polyphenolic transmission to Segureño lamb meat from ewes' diet supplemented with the distillate from rosemary (*Rosmarinus officinalis*) leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 3363–3367.
- Moñino, I. (2010). *Incorporación de hoja destilada de romero y tomillo en la dieta de oveja Segureña. Estudio de la transmisión de antioxidantes a carne de cordero.* (Tesis Doctoral). Universidad de Murcia. Facultad de Veterinaria, (España).
- Molendi-Coste, O., Legry, V., & Leclercq, I. A. (2011). Why and how meet n-3 PUFA dietary recommendations? A Review. *Gastroenterology Research and Practice*, 11. DOI.org/10.1155/2011/364040.
- Morales, R., & Ungerfeld, E. M. (2015). Use of tannins to improve fatty acids profile of meat and milk quality in ruminants: a review. *Chilean Journal of Agricultural research*, 75, 239–248. DOI.org/10.4067/S0718-58392015000200014.
- Morán, L., Andrés, S., Mateo, J., Blanco, C., Soto, S., & Giráldez, F. J. (2014). Effect of dietary carnosic acid on meat quality from suckling lambs. *Small Ruminant Research*, 121, 314-319. DOI.org/10.1016/j.smallrumres.2014.08.003.
- Moreno, S., Scheyer, T., Romano, C. S., & Vojnov, A. A. (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. *Free Radical Research*, 40 (2), 223-231. DOI: 10.1080/10715760500473834.
- Mottram, D. S. (1998). Flavour formation in meat and meat products: a review. *Food Chemistry*, 62, 415–424.
- Muíño, I., Apeleo, E., De la Fuente, J., Pérez-Santaescolástica, C., & Rivas-Cañedo. (2014). Effect of dietary supplementation with red wine extracto r vitamin E, in combination with linseed and fish oil, on lamb meat quality. *Meat Science*, 98, 116-123. DOI: 10.1016/j.meatsci.2014.05.009.

- Mueller-Harvey, I. (2006). Review. Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 2010–2037.
- Napolitano, F., Cifuni, G. F., Pacelli, C., Riviezzi, A. M., & Girolami, A. (2002). Effect of artificial rearing on lamb welfare and meat quality. *Meat Science*, 60 (3), 307–315. doi:10.1016/s0309-1740(01)00140-1.
- Nieto, G. (2009). *Efecto de la alimentación de ovejas gestantes con romero (rosmarinus officinalis, L.) y tomillo (thymus zygis subsp. gracilis) sobre la calidad de la carne de cordero*. (Tesis doctoral). Universidad de Murcia, Facultad de Veterinaria, Murcia, (España).
- Nieto, G., Díaz, P., Bañón, S., & Garrido, M. D. (2010). Dietary administration of ewe diets with a distillate from rosemary leaves (*Rosmarinus officinalis* L.): Influence on lamb meat quality. *Meat Science*, 84 (1), 23–29. DOI:10.1016/j.meatsci.2009.08.001.
- Nieto, G., Bañón, S., & Garrido, M. D. (2011). Effect of supplementing ewes' diet with thyme (*Thymus zygis* ssp. *gracilis*) leaves on the lipid oxidation of cooked lamb meat. *Food Chemistry*, 125, 1147–1152. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.09.090.
- Nieto, G., Bañón, S., & Garrido, M.D. (2012). Incorporation of thyme leaves in the diet of pregnant and lactating ewes: Effect on the fatty acid profile of lamb. *Small Ruminant Research*, 105, 140-147.
- Nieto, G. (2013). Incorporation of by-products of rosemary and thyme in the diet of ewes: Effect on the fatty acid profile of lamb. *European Food Research and Technology*, 236 (2), 279-389. DOI: 10.1007/s00217-012-1892-7.
- Nieto, G., Garrido, M. D., & Bañón, S. (2015). Efecto de la alimentación de ovejas gestantes con hoja de tomillo sobre la estabilidad oxidativa de la carne de sus corderos. *Albeitar*, 174.
- Nudda, A., McGuire, M. A., Battacone, G., & Pulina, G. (2005). Seasonal variation in conjugated linoleic acid and vaccenic acid in milk fat of sheep and its transfer to cheese and ricotta. *Journal of Dairy Science*, 88 (4), 1311–1319. DOI.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72797-1.
- Nudda A., Battacone, G., Boe, R., Manca, M. G., Rassu, S. P. G., & Pulina, G. (2013). Influence of outdoor and indoor rearing system of suckling lambs on fatty acid profile and lipid oxidation of raw and cooked meat. *Italian Journal of Animal Science*, 12, 459-467.
- Nuernberg, K., Fischer, A., Nuernberg, G., Ender, K., & Dannenberger, D. (2008). Meat quality and fatty acid composition of lipids in muscle and fat tissue of Skudde lambs fed grass versus concentrate. *Small Ruminant Research* 74, 279–283. DOI:10.1016/j.smallrumres.2007.07.009.
- Olagaray, K. E., & Bradford, B. J. (2019). Plant flavonoids to improve productivity of ruminants – A review. *Animal Feed Science and Technology*. doi:10.1016/j.anifeedsci.2019.02.004.

Olivan, M., Sierra, V., & Espina, P. G. (2013). Efecto del tiempo de maduración sobre la calidad organoléptica de la carne de vacuno. *Tecnología alimentaria*, 12, 45-52.

Ono, K., Berry, B., & Paroczay, W. E. (1985). Contents and retention of nutrients in extra lean, lean and regular ground beef. *Journal of Food Science*, 50, 701-706.

Orczewska-Dudek, S., Bederska-Łojewska, D., Pieszka, M., & Pietras, M. (2012). Cholesterol and Lipid Peroxides in Animal Products and Health Implications - A Review. *Annals of Animal Science*, 12 (1), 25-52. DOI:10.2478/v10220-012-0003-9.

Ortuño, J. (2014). *Polifenoles del romero en la dieta del cordero: efecto sobre la calidad y capacidad de conservación de la carne. Rosemary polyphenols on the diet of lambs: effect on meat quality and preservative capacity.* (Tesis Doctoral). Universidad de Murcia. Facultad de Veterinaria, Murcia (España).

Ortuño, J., Serrano, R., Jordán, M. J., & Bañón, S. (2014). Shelf life of meat from lambs given essential oil-free rosemary extract containing carnosic acid plus carnosol at 200 or 400 mg kg ⁻¹. *Meat Science*, 96 (4) 1452-1459. DOI.org/10.1016/j.meatsci.2013.11.021.

Ortuño, J., Serrano, R., & Bañón, S. (2015^a). Antioxidant and antimicrobial effects of dietary supplementation with rosemary diterpenes (carnosic acid and carnosol) vs vitamin E on lamb meat packed under protective atmosphere. *Meat Science*, 110, 62-69. DOI: 10.1016/j.meatsci.2015.07.011.

Ortuño, J., Serrano, R., & Bañón, S. (2015^b). Use of dietary rosemary diterpenes to extend the preservation of sulphited-lamb products. *Small Ruminant Research*, 123, 269-277. DOI.org/10.1016/j.smallrumres.2014.12.006.

Ortuño, J., Serrano, R., & Bañón, S. (2016). Use of dietary rosemary diterpenes to inhibit rancid volatiles in lamb meat packed under protective atmosphere. *Animal*, 10 (8), 1391-1401. DOI:10.1017/S1751731116000392.

Ortuño, J., Serrano, R., & Bañón, S. (2017). Incorporating rosemary diterpenes in lamb diet to improve microbial quality of meat packed in different environments. *Animal Science Journal*, 88, 1436-1445. DOI:10.1111/asj.12768.

Ortuño, J., Inchingolo, R., Delgado, P., Cardenia, V., Rodriguez-Estrada, M. T., Jordán, M. J., & Bañón, S. (2019). Enhancing lipid oxidative stability of cooked-chilled lamb meat through dietary diterpenes. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 122 (3). DOI.org/10.1002/ejlt.201900124.

Osés, S. M., Diez, A. M., Melero, B., Luning, P. A., Jaime, I., & Rovira, J., (2013).Characterization by culture-dependent and culture-independent methods of the bacterial population of suckling-lamb packaged in different atmospheres. *Food Microbiol*, 36 (2), 216–222. DOI: 10.1016/j.fm.2013.05.005.

Oviespaña, 25 de Septiembre de 2015. La alta restauración española prefiere utilizar el lechal al cordero de tipo reental. Reportado de: <https://www.oviespana.com/informacion-de-ovino/servicio-diario-de-noticias/en-portada/la-alta-restauracion-espanola-prefiere-utilizar-el-lechal-al-cordero-de-tipo-reental>

Bibliografía

Oviespaña, 13 Abril de 2020. El precio del cabrito en Murcia desciende a la mitad desde el inicio de la crisis del coronavirus. Reportado de: <https://www.oviespana.com/informacion-de-ovino/servicio-diario-de-noticias/en-portada/el-precio-del-cabrito-en-murcia-desciende-a-la-mitad-desde-el-inicio-de-la-crisis-del-coronavirus>.

Paillard, D., McKain, N., Chaudhary, L. C., Walker, N. D., Pizette, F., Koppova, I., ... Wallace, R. J. (2007). Relation between phylogenetic position, lipid metabolism and butyrate production by different *Butyrivibrio*-like bacteria from the rumen. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 91 (4), 417-22. DOI: 10.1007/s10482-006-9121-7.

Palacio, S., Millard, P., & Montserrat-Martí, G. (2006). Above ground biomass allocation patterns within Mediterranean sub-shrubs: a quantitative analysis of seasonal dimorphism. *Flora*, 201, 612-622.

Pannier, L., Ponnapalapam, E. N., Gardner, G. E., Butler, K. L., Hopkins, D. L., Ball, A. J., ... Pethick, D.W. (2010). Prime Australian lamb supplies key nutrients for human health. *Animal Production Science*, 50 (12), 1115-1122. DOI.org/10.1071/AN10132.

Park, C. H., Lee, B., Oh, E., Kim, Y. S., & Choi, Y. M. (2020). Combined effects of sous-vide cooking conditions on meat and sensory quality characteristics of chicken breast meat. *Poultry Science*. DOI:10.1016/j.psj.2020.03.004.

Parvar, R., Ghoorchi, T., Kashfi, H., & Parvar, K. (2018). Effect of *Ferulago angulata* (Chavil) essential oil supplementation on lamb growth performance and meat quality characteristics. *Small Ruminant Research*, 167, 48-54. DOI.org/10.1016/j.smallrumres.2018.07.026.

Pateiro, M., Barba, F. J., Domínguez, R., Sant'Ana, A. S., Mousavi Khaneghah, A., Gavahian, M., ... Lorenzo, J. M. (2018). Essential oils as natural additives to prevent oxidation reactions in meat and meat products: A review. *Food Research International*, 113, 156-166. DOI:10.1016/j.foodres.2018.07.014.

Pascual-Alonso, M., Resconi, V. C., Aguayo-Ulloa, L. A., Miranda-De La Lama., G. C., Olleta, J.L., ... María, G. A. (2018). Wine by-products feeding on ewe physiological traits, milk quality and the meat quality of their suckling lambs. *Large Animal Review*, 24 (4), 149-154.

Peiretti, P. G., & Meineri, G. (2008). Effects on growth performance, carcass characteristics, and the fat and meat fatty acid profile of rabbits fed diets with chia (*Salvia hispanica* L.) seed supplements. *Meat Science*, 80, 1116–1121.

Peng, S. K., Taylor, C. B., Hill, J. C., & Morin, R. J. (1985). Cholesterol oxidation derivatives and arterial endothelial damage. *Atherosclerosis*, 54 (2), 121–133.

Pérez-Fons, L., Garzón, M. T., & Micol, V. (2010). Relationship between the antioxidant capacity and effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) polyphenols on membrane phospholipid order. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 2010, 161-171. DOI: 10.1021/jf9026487.

Pérez-Linares, C., Sánchez-López, E., Rios-Rincon, F. G., & Olivas-Valdez, J. A. (2013). Pre and post slaughter cattle and carcass management factors associated to presence of DFD beef in the hot season. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 4 (2), 149-160.

- Pereira, C., Barros, L., & Isabel, C. F. T. F. (2017). Aromatic plants used as condiments: prevalence of polyunsaturated fatty acids. *Revista de Ciências Agrárias*, 40, 0871-018ZX. DOI.org/10.19084/RCA16227.
- Petron, M. J., Raes, K., Claeys, E., Lourenço, M., Fremaut, D., & De Smet, S. (2007). Effect of grazing pastures of different botanical composition on antioxidant enzyme activities and oxidative stability of lamb meat. *Meat Science*, 75, 737–745.
- Phelan, P., Moloney, A. P., McGeough, E. J., Humphreys, J., Bertilsson, J., O'Riordan, E. G., & O'Kiely, P. (2015). Forage legumes for grazing and conserving in ruminant production systems. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 34, 1–46. DOI.org/10.1080/07352689.2014.898455.
- Pie, J. E., Spahis, K., & Seillan, C. (1991). Cholesterol oxidation in meat products during cooking and frozen storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39 (2), 250–254. DOI:10.1021/jf00002a005.
- Pinheiro, S. B., Francisco, C. L., Lino, D. M., & Borba, H. (2019). Meat quality of Santa Inês lamb chilled-then-frozen storage up to 12 months. *Meat Science*, 148, 72–78. DOI.org/10.1016/j.meatsci.2018.09.017.
- Prache, S., Priolo, A., & Grolier, P. (2003). Persistence of carotenoid pigments in the blood of concentrate-finished grazing sheep: its significance for the traceability of grass-feeding. *Journal of Animal Science*, 81, 360–367.
- Priolo, A., Micol, D., & Agabriel, J. (2001). Effects of grass feeding systems on ruminant meat colour and flavour. A review. *Animal Research* 50, 185–200. DOI.org/10.1051/animres:2001125.
- Priolo, A., Micol, D., Agabiel, J., Prache, S., & Dransfield, E. (2002). Effect of grass or concentrate feeding on lamb carcass and meat quality. *Meat Science*, 62, 179–18. DOI:10.1016/s0309-1740(01)00244-3.
- Priolo, A., Cornu, A., Prache, S., Krogmann, M., Kondjoyan, N., Micol, D., & Berdagué, J-L. (2004). Fat volatiles tracers of grass feeding in sheep. *Meat Science*, 66 (2), 475–481. DOI:10.1016/s0309-1740(03)00136-0 .
- Ponnampalam, E. N., Sinclair, A. J., Egan, A. R., Blakeley, S. J., Li, D., & Leury, B. J. (2001). Effect of dietary modification of muscle long chain n-3 fatty acid on plasma insulin and lipid metabolites, carcass traits and fat deposition in lambs. *Journal of Animal Science*, 79, 895–903.
- Ponnampalam, E. N., Sinclair, A. J., Hosking, B. J., & Egan, A. R. (2002). Effects of dietary lipid type on muscle fatty acid composition, carcass leanness and meat toughness in lambs. *Journal of Animal Science*, 80, 628–636.
- Ponnampalam, E. N., Butler, K. L., Burnett, V. F., Jacobs, J. L., & Hopkins, D. L. (2013^a). Aged vacuum packaged lamb cuts are less brown than fresh muscle cuts under simulated retail display. *Food & Nutrition Sciences*, 4, 147–153. DOI: 10.4236/fns.2013.48A018.

Bibliografía

- Ponnampalam, E. N., Butler, K. L., Pearce, K. M., Mortimer, S. I., Pethick, D. W., Ball, A. J., & Hopkins, D. L. (2014). Sources of variation of health claimable long chain omega-3 fatty acids in meat from Australian lamb slaughtered at similar weights. *Meat Science*, 96, 1095-110. DOI: 10.1016/j.meatsci.2012.11.039.
- Ponnampalam, E. N., Norng, S., Burnett, V. F., Dunshea, F. R., Jacobs, J. L., & Hopkins, D. L. (2014^b). The Synergism of Biochemical Components Controlling Lipid Oxidation in Lamb Muscle. *Lipids*, 49 (8), 757–766. DOI: 10.1007/s11745-014-3916-5.
- Ponnampalam, E. N., Burnett, V. F., Norng, S., Hopkins, D. L., Plozza, T., & Jacobs, J. L. (2016). Muscle antioxidant (vitamin E) and major fatty acid group, lipid oxidation and retail color of meat from lambs fed a roughage based diet with flaxseed or algae. *Meat Science*, 111, 154-60. DOI: 10.1016/j.meatsci.2015.09.007.
- Popova, T., Gonzales-Barron, U., & Cadavez, V. (2015). A meta-analysis of the effect of pasture access on the lipid content and fatty acid composition of lamb meat. *Food Research International*, 77, 476–483. DOI.org/10.1016/j.foodres.2015.08.020.
- Porres-Martínez, M. (2014). *Actividad neuroprotectora del aceite esencial de Salvia lavandulifolia Vahl* (Tesis doctoral). Universidad Complutense de Madrid, Madrid (España).
- Porres-Martínez, M., González-Burgos, E., Emilia Carretero, M., & Gómez-Serranillos, M. P. (2014). Influence of phenological stage on chemical composition and antioxidant activity of Salvia 600 lavandulifolia Vahl. essential oils. *Industrial Crops and Products*, 53, 71-77. DOI: 10.1016/j.indcrop.2013.12.024.
- Quiñones, J., Maggiolino, A., Bravo, S., Muñoz, E., Lorenzo, J. M., Cancino, D., ... De Palo, P. (2019). Efecto del aceite de canola sobre la calidad de la carne y el perfil de ácidos grasos de los corderos criollos de Araucano. *Ciencia y tecnología de alimentación animal*, 248, 20-26.
- Raes, K., De Smet, S., & Demeyer, D. (2004). Effect of dietary fatty acids on incorporation of long chain polyunsaturated fatty acids and conjugated linoleic acid in lamb, beef and pork meat: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 113, 199–221. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2003.09.001.
- Ramírez, C. A., Blanco, F. P., Ibáñez, A. H., Domenech, F. R., Medina, P. G., & Martínez Marín, A. L. (2018). Effects of concentrates rich in by-products on growth performance, carcass characteristics and meat quality traits of light lambs. *Animal Production Science*. DOI:10.1071/an17798.
- Ramos-Morales, E., McKain, N., Gawad, R. M. A., Hugo, A., & Wallace, R. J. (2016). Veronia galamensis and vernolic acid inhibit fatty acid biohydrogenation *in vitro*. *Animal Feed Science and Technology*, 222, 54-63. DOI.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.10.002.
- Rant, W., Radzik-Rant, A., Swiatek, M., Niznikowski, R., Szymanska, Z., Bednarczyk, M., ... Slezark, M. (2019). The effect of aging and muscle type on the quality characteristics and lipid oxidation of lamb meat. *Archives Animal Breeding*, 62 (2), 383-391. DOI: 10.5194/aab-62-383-2019.

Ranucci, D., Branciari, R., Cobelis, G., Acuti, G., Miraglia, D., Olivieri, O., ...Trabalza-Marinucci. (2019). Dietary essential oil mix improves oxidative stability and hygieniccharacteristic of lamb meat. *Small Ruminant Research*, 175, 104-109. DOI.org/10.1016/j.smallrumres.2019.04.012.

Rasinska, E., Rutkowska, J., Czarniecka-Skubina, E., & Tambor, K. (2019). Effects of cooking methods on changes in fatty acids contents, lipid oxidation and volatile compounds of rabbit meat. *LW- Food Science and Technology*, 110, 64-70. DOI:10.1016/j.lwt.2019.04.067.

Reglamento (CE) Nº 796/2002. Diario Oficial de las Comunidades Europeas. Características de los aceites de oliva y de los aceites de orujo de oliva y sobre sus métodos de análisis. 6 de Mayo de 2002.

Reglamento (CE) Nº 852/2004; 853/2004; 854/2004. Diario Oficial de la Unión Europea. Normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal. 29 de abril de 2004.

Reglamento (CE) Nº 510/2006. Anexo. Pliego de condiciones. Indicación Geográfica Protegida "Cordero Segureño". Última modificación 10 de Diciembre de 2019.

Reglamento (CE) Nº 1249/2008. Diario Oficial de la Unión Europea. Disposiciones de aplicación relativas a los modelos comunitarios de clasificación de las canales de vacuno, porcino y ovino y a la comunicación de sus precios. 16 de Diciembre de 2008.

Reglamento (UE) Nº 1151/2012. Diario Oficial de la Unión Europea. Sobre los regímenes de calidad de los productos agrícolas. 21 de Noviembre de 2012.

Reglamento (UE) Nº 1242/2013. Diario Oficial de la Unión Europea. Por el que se inscribe una denominación en el Registro de Denominaciones de Origen Protegidas y de Indicaciones Geográficas Protegidas (Cordero Seguro IGP). 25 de Noviembre de 2013.

Reis, M. M., Reis, M.G., Mills, J., Ross, C., & Brightwell, G. (2016). Characterization of volatile metabolites associated with confinement odour during the shelf-life of vacuum packed lamb meat under different storage conditions. *Meat Science*, 113, 80-91. DOI:10.1016/j.meatsci.2015.11.017.

Reid, D. H., Young, O. A., & Braggins, T. J., (1993). The effects of antioxidative treatments on mutton flavour/odour intensity and species flavour differentiation. *Meat Science*, 35, 171-182.

Revello-Chion, A., Tabacco, E., Peiretti, P. G., & Borrean, G. (2011). Variation in the fatty acid composition of Alpine grassland during spring and summer. *Agronomy Journal*, 103 (4), 1072-1080. DOI: 10.2134/agronj2010.0509.

Rey, A. I., Kerry, J. P., Lynch, P.B., Lopez-Bote, C.J., Buckley, D.J., & Morrissey, P.A. (2001). Effect of dietary oils and alpha-tocopheryl acetate supplementation on lipid (TBARS) and cholesterol oxidation in cooked pork. *Journal of Animal Science*, 79, 1201-1208.

Bibliografía

- Rhee, K. S., Ziprin, Y. A., Bishop, C. E., & Waldron, D. F. (1997). Composition and Stability of Goat Meat Patties as Affected by Breed Type and Feeding Regimen. *Journal of Food Science*, 62 (5), 949–962. DOI:10.1111/j.1365-2621.1997.tb15013.x.
- Rhee, K. S., Lupton, C. J., Ziprin, Y. A., & Rhee, K. C. (2003). Effects of sheep production systems on oxidative storage stability of lean lamb patties. *Meat Science*, 65 (2), 701–706. DOI:10.1016/s0309-1740(02)00317-0.
- Richter, J., & Schellenberg, I. (2007). Comparison of different extraction methods for the determination of essential oils and related compounds from aromatic plants and optimization of solid-phase microextraction/gas chromatography. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 387 (6), 2207–2217. DOI:10.1007/s00216-006-1045-6.
- Rioba, N. B., Itulya, F. M., Saidi, M., Dudai, N., & Bernstein, N. (2015). Effects of nitrogen, phosphorus and irrigation frequency on essential oil content and composition of sage (*Salvia officinalis* L.). *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 2 (1), 21-29.
- Ripoll, G., Joy, M., & Muñoz, F. (2011^b). Use of dietary vitamin E and selenium (Se) to increase the shelf life of modified atmosphere packaged light lamb meat. *Meat Science*, 87, 88-93.
- Rivas-Cañedo, A., Apeleo, E., Muiño, I., Pérez, C., Lauzurica, S., Pérez-Santaescolástica, C., ... De la Fuente, J. (2013). Effect of dietary supplementation with either red wine extract or vitamin E on the volatile profile of lamb meat fed with omega-3 sources. *Meat Science*, 93 (2), 178-186. DOI.org/10.1016/j.meatsci.2012.08.017.
- Rodríguez-Estrada, M. T., Penazzi, G., Caboni, M. F., Bertacco, G., & Lercker, G. (1997). Effect of different cooking methods on some lipid and protein components of hamburgers. *Meat Science*, 45 (3), 365–375. DOI:10.1016/s0309-1740(96)00123-4.
- Rodríguez-Estrada, M. T., García-Llatas, G., & Lagarda, M. J. (2014). 7-Ketocholesterol as Marker of Cholesterol Oxidation in Model and Food Systems: When and How. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 446 (3), 792-797. DOI: 10.1016/j.bbrc.2014.02.098.
- Roldan, M., Antequera, T., Martin, A., Mayoral, A. I., & Ruiz, J. (2013). Effect of different temperature-time combinations on physicochemical, microbiological, textural and structural features of sous-vide cooked lamb loins. *Meat Science*, 93 (3), 572–578. DOI: 10.1016/j.meatsci.2012.11.014.
- Roldán, M., Ruiz, J., Sánchez del Pulgar, J., Pérez-Palacios, T., & Antequera, T. (2014). Volatile compound profile of sous-vide cooked lamb loins at different temperature-time combinations. *Meat Science*, 100, 52-57. DOI: 10.1016/j.meatsci.2014.09.010.
- Roldán, M., Antequera, T., Pérez-Palacios, T., & Ruiz, J. (2014). Effect of added phosphate and type of cooking method on physico-chemical and sensory features of cooked lamb loins. *Meat Science*, 97, 69-75. DOI.org/10.1016/j.meatsci.2014.01.012.

Roldán, M., Ruiz, J., Sánchez del Pulgar, J., Pérez-Palacios, T., & Antequera, T. (2015). Volatile compound profile of sous-vide cooked lamb loins at different temperature-time combinations. *Meat Science*, 100, 52-57. DOI: 10.1016/j.meatsci.2014.09.010.

Röhrle, F. T., Moloney, A. P., Black, A., Osorio, M. T., Sweeney, T., Schmidt, O., & Monahan, F. J. (2011^a). α-Tocopherol stereoisomers in beef as an indicator of vitamin E supplementation in cattle diets. *Food Chemistry*, 124, 935–940.

Rotolo, L., Gai, F., Nicola, S., Zoccarato, I., Brugiapaglia, A., & Gasco, L. (2013). Dietary supplementation of oregano and sage dried leaves on performances and meat quality of rabbits. *Journal of Integrative Agriculture*, 12 (11), 1937–1945. DOI.org/10.1016/S2095-3119(13)60631-0.

Rubio, M. A. (2002). Enfermedad cardiovascular y grasas: “amigo o villano.” *Endocrinología y Nutrición*, 49 (5), 145–167. DOI: 10.1016/s1575-0922(02)74448-3.

Ruiz, J., Muriel, E., & Ventanas, J. (2002) The Flavour of Iberian Ham. In Research Advances in the quality of meat and meat products. Toldra, F., Ed.; Trivandrum: Kerala, India, 1–21.

Ruiz, J., Calvarro, J., Sánchez del Pulgar, J., & Roldán, M. (2013). Science and technology for new culinary techniques. *Journal of Culinary Science & Technology*, 11 (1), 66-79. DOI.org/10.1080/15428052.2013.755422.

Sáez, L., (2010). Salvia L. Vol. XII.: Verbenaceae-Labiatae-Callitrichaceae. Morales R, Quintanar A, Cabezas F, Pujadas AJ, Cirujano S (Eds.). Flora ibérica, Real Jardín Botánico de Madrid (CSIC), Madrid, 298-326.

Salami, S. A., Valenti, B., O’ Grady, M. N., Kerry, J. P., Mattioli, S., Licita, G., ... Priolo, A. (2019). Influence of dietary cardoon meal on growth performance and selected meat quality parameters of lambs, and the antioxidant potential of cardoon extract in ovine muscle homogenates. *Meat Science*, 153, 126-134. DOI.org/10.1016/j.meatsci.2019.03.017.

Sánchez del Pulgar, J., Gazquez, A., & Ruiz-Carrascal, J. (2012). Physico-chemical, textural and structural characteristics of sous-vide cooked pork cheeks as affected by vacuum, cooking temperature, and cooking time. *Meat Science*, 90, 828–835. DOI: 10.1016/j.meatsci.2011.11.024.

Sánchez del Pulgar, J., Roldan, M., Ruiz-Carrascal, J. (2013). Volatile compounds profile of sous-vide cooked pork cheeks as affected by cooking conditions (vacuum packaging, temperatura and time). *Molecules*, 18, 12538-12547. DOI:10.3390/molecules181012538.

Sánchez-Vioque, R., Izquierdo-Melero, M. E., Quílez, M., Herraiz-Peñalver, D., Santana-Méridas, O., & Jordán, M. J. (2018). Solid residues from the distillation of *Salvia lavandulifolia* vahl as a natural source of antioxidant compounds. *Journal of the American Oil Chemists’ Society*. DOI 10.1002/aocs.12128.

Sander, B. D., Addis, P. B., Park, S. E., & Smith, D. E. (1989). Quantification of cholesterol oxidation products in a variety of foods. *Journal of Food Protection*, 52, 109-114.

Bibliografía

- Santé-Lhouetellier, V., Engel, E., & Gatellier, P. (2008). Assessment of the influence of diet on lamb meat oxidation. *Food Chemistry* 109, 573–579. DOI: [10.1016/j.foodchem.2007.11.081](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.11.081).
- Santos, V. A. C., Cabo, A., Raposo, P., Silva, J.A., Azevedo, J. M. T., & Silva, S. R. (2015). The effect of carcass weight and sex on carcass composition and meat quality of “Cordeiro Mirandês”—Protected designation of origin lambs. *Small Ruminant Research* 130, 136–140. Short communication.
- Santos y Fernandes. (2001). Organ and season-dependet variation in the essential oil composition of *Salvia officinalis* L. cultivated at twondifferent sites. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46 (6), 2908-16.
- Santos-Silva, J., Mendes, I. A., & Bessa, R. J. B. (2002). The effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs 1. Growth, carcass composition and meat quality. *Livestock Production Science*, 76, 17-25. DOI.org/10.1016/S0301-6226(01)00334-7.
- Sañudo, C., Sanchez, A., & Alfonso, M. (1998). Small ruminant production system and factors affecting lamb meat quality. *Meat Science*, 49 (1), 29-S64.
- Sañudo, C., Enser, M. E., Campo, M. M., Nute, G. R., Maria, G., Sierra, I., & Wood, J. D., (2000). Fatty acid composition and sensory characteristics of lambcarcasses from Britain and Spain. *Meat Science*, 54, 339–346. DOI: [10.1016/s0309-1740\(99\)00108-4](https://doi.org/10.1016/s0309-1740(99)00108-4).
- Sarriés, M. V., Murray, B. E., Moloney, A. P., Troy, D., & Beriain, M. J. (2009). The effect of cooking on the fatty acid composition of longissimus muscle from beef heifers fed rations designed to increase the concentration of conjugated linoleic acid in tissue. *Meat Science*, 81 (2), 307–312. DOI:[10.1016/j.meatsci.2008.08.006](https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.08.006).
- Scerra, M., Caparra, P., Foti, F., Galofaro, V., Sinatra, M. C., & Scerra, V. (2007). Influence of ewe feeding systems on fatty acid composition of suckling lambs. *Meat Science*, 76, 390-394. DOI:[10.1016/j.meatsci.2006.04.033](https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.04.033)
- Scerra, M., Luciano, G., Caparra, P., Foti, F., Cilione, C., Giorgi, A., & Scerra, V. (2011). Influence of stall finishing duration of Italian Merino lambs raised on pasture on intramuscular fatty acid composition. *Meat Science*, 89, 238-242.
- Scerra, M., Foti, F., Caparra, P., Cilione, C., Violi, L., Fiammingo,G., D'Agui, G., & Chies, L. (2018). Effects of feeding fresh bergamot (*Citrus Bergamia Risso*) pulp at up to 35% of dietary dry matter on growth performance and meat quality from lambs. *Small Ruminant Research*, DOI.org/10.1016/j.smallrumres.2018.09.016.
- Scheeder, M. R. L., Casutt, M. M., Roulin, M., Escher, F., Dufey, P. A., & Kreuzer, M. (2001). Fatty acid composition, cooking loss and texture of beef patties from meat of bulls fed different fats. *Meat Science*, 58, 321–328.
- Schreurs, M. N., Lane, G. A., Tavendale, M. H., Barry, T. N., & McNabb, W. C. (2008). Pastoral flavour in meat products from ruminants fed fresh forages and its amelioration bay forage condensed tannins. *Animal Feed Science and Technology*, 146, 193-221.

- Sebastià, I., Viallon, C., Berge, P., Dransfield, E., & Berdagué, J. L. (2003). Analysis of the volatile fraction and the flavour characteristics of lamb: Relationships with the type of feeding. *Sciences des Aliments*, 23, 497–511. DOI: 10.3166/sda.23.497-511.
- Selani, M. M., Shirado, G. A. N., Margiotta, G. B., Rasera, M. L., Marabesi, A. C., Piedade, S. M. S., ... Canniatti-Brazaca, S. G. (2016). Pineapple by-product and canola oil as partial fat replacers in low-fat beef burger: Effects on oxidative stability, cholesterol content and fatty acid profile. *Meat Science*, 115, 9–15. DOI:10.1016/j.meatsci.2016.01.002
- Serra, A., Mele, M., La Comba, F., Conte, G., Buccioni, A., & Secchiari, P. (2009). Conjugated linoleic acid (CLA) content of meat from three muscles of Massese suckling lambs slaughtered at different weights. *Meat Science*, 81, 396–404.
- Shahidi, F., Samaranayaka, A. G. P., & Pegg, R. B (2014). Maillard re-action and browning. Encyclopedia of Meat Science, 1:391–403. DOI:10.1016/B978-0-12-384731-7.00130-6
- Sharifi-Rad, M., Ozcelik, B., Altin, G., Daskaya-Dikmen, C., Martorell, M., Ramírez-Alarcón, K., ... Sharifi-Rada, J. (2018). Salvia spp. Plants—from farm to food applications and phytopharmacotherapy. *Trends in Food Science & Technology*, DOI:10.1016/j.tifs.2018.08.008.
- Simitzis, P. E., Bronis, M., Charismiadou, M. A., Mountzouris, K. C., & Deligeorgis. (2014). Effect of cinnamon (*cinnamomum zeylanicum*) essential oil supplementation on lamb growth performance and meat quality characteristics. *Animal*, 8 (9), 1554-1560.
- Smeti, S., Atti, N., Mahouachi, M., & Muñoz, F. (2013). Use of dietary rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*) essential oils to increase the shelf life of Barberine light lamb meat. *Small Ruminant Research*, 113 (2-3), 340-345.
- Smeti, S., Hajji, H., Mahouachi, M., & Atti, N. (2018). Effects of dose and administration form of rosemary essential oils on meat quality and fatty acid profile of lambs. *Small Ruminant Research*, 158 (158), 62-68. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2017.10.007.
- Sebastián, I., Viallon, C., Berge, P., Dransfield, E., & Berdagué, J.L (2003). Analysis of the volatile fraction and the flavour characteristics of lamb: relationships with the type of feeding. *Sciences des Aliments*, 23, 497-511.
- Sellami, I. H., Maamouri, E., Chahed, T., Wannes, W. A., Kchouk, M. E., & Marzouk, B. (2009). Effect of growth stage on the content and composition of the essential oil and phenolic fraction of sweet marjoram (*Origanum majorana L.*). *Industrial Crops and Products*, 30 (3), 395–402. DOI:10.1016/j.indcrop.2009.07.010.
- Sentandreu, M. A., Coulis, G., & Ouali, A. (2002). Role of muscle endopeptidases and their inhibitors in meat tenderness. *Trends in Food Science and Technology*, 13, 400-421.
- Serrano, R. (2014). *Extensión de la vida comercial de la carne de cordero mediante suplementación dietética con extracto de romero*. (Tesis doctoral). Universidad de Murcia, Facultad de Veterinaria, Murcia, (España).

Bibliografía

- Serrano, R., Jordán, M. J., & Bañón, S. (2014). Use of dietary rosemary extract in ewe and lamb to extend the shelf life of raw and cooked meat. *Small Ruminant Research*, 116 (2-3), 144–152. DOI:10.1016/j.smallrumres.2013.10.019.
- Serrano, R., Ortúño, J., & Bañón, S. (2014). Improving the sensory and oxidative stability of cooked and chill-stored lamb using dietary rosemary diterpenes. *Journal of Food Science*, 79, (9), 1805-1810. DOI: 10.1111/1750-3841.12585.
- Sheath, G. W., Coulon, J. B., & Young, O. A. (2001). Grassland management and animal product quality. In Proceedings of the 42nd International Grassland Congress, 1019–1026. Sao Paulo, Brazil.
- Silva, F. A. P., Ferreira, V. C. S., Madruga, M. S., & Estévez, M. (2016). Effect of the cooking method (grilling, roasting, frying and sous-vide) on the oxidation of thiols, tryptophan, alkaline amino acids and protein cross-linking in jerky chicken. *Journal of Food Science and Technology*, 53 (8), 3137–3146. DOI:10.1007/s13197-016-2287-8.
- Smith, S. B., Gill, C. A., Lunt, D. K., & Brooks, M. A. (2009). Regulation of fat and fatty acid composition in beef cattle. *Asian Aust. Journal of Animal Science*, 22, 1225–123.
- Simopoulos, A. P. (2002). Omega-3 Fatty Acids in Inflammation and Autoimmune Diseases. *Journal of the American College of Nutrition*, 21 (6), 495-505. DOI:10.1080/07315724.2002.10719248.
- Simitzis, P. E., Deligeorgis, S. G., Bizelis, J. A., Dardamani, A., Theodosiou, I., & Fegeros, K. (2008). Effect of dietary oregano oil supplementation on lamb meat characteristics. *Meat Science*, 79 (2), 217-223. DOI: 10.1016/j.meatsci.2007.09.005.
- Simitzis, P. E., Bronis, M., Charismiadou, M. A., Mountzouris, K. C., & Deligeorgis, S. G. (2014). Effect of cinnamon (cinnamoun zeylanicum) essential oil supplementation on lamb growth performance and meat quality characteristics. *Animal*, 8 (9), 1554-1560. DOI:10.1017/S1751731114001335.
- Sinanoglou, V. J., Batrinou, A., Mantis, F., Bizelis, I., & Miniadis-Meimaroglou, S. (2013). Lipid quality indices: Differentiation of suckling lamb and kid breeds reared by traditional sheep farming. *Small Ruminant Research*, 113 (1), 1–10.doi:10.1016/j.smallrumres.2013.01.008
- Siri Tarino, P., Sun, Q., Hu, F., & Krauss, R. (2010). Meta-analysis of prospective cohort studies evaluating the association of saturated fat with cardiovascular disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 91, 535-546.
- Stajić, S., Živković, D., Perunović, M., Šobajić, S., & Vranić. (2011). Cholesterol content and atherogenicity of fermented sausages made of pork meat from various breeds. *Procedia Food Science*, 1, 568–575. DOI:10.1016/j.profoo.2011.09.086
- Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. (2002). *Evolución y cambios socioeconómicos del sector ovino y caprino en España durante la última década*. Recuperado de http://www.uco.es/zootecniaygestion/img/pictorex/11_10_05_2002_Evolucion_ovino.caprino_Espana._MAPA.pdf.

Šojić, B., Pavlić, B., Zeković, Z., Tomović, V., Ikonić, P., Kocić-Tanackov, S., & Džinić, N. (2018). The effect of essential oil and extract from sage (*Salvia officinalis* L.) herbal dust (food industry by-product) on the oxidative and microbiological stability of fresh pork sausages. *Food Science and Technology*. DOI: 10.1016/j.lwt.2017.11.055.

Soldatou, N., Nerantzaki, A., Kontominas, M. G., & Savvaidis, I. N. (2009). Physicochemical and microbiological changes of “Souvlaki” — A Greek delicacy lamb meat product: Evaluation of shelf-life using microbial, colour and lipid oxidation parameters. *Food Chemistry*, 113, 36–42.

Solórzano-Santos, F., & Miranda-Novales, M. G. (2012). Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23 (2), 136–141. DOI:10.1016/j.copbio.2011.08.005.

Soltanizadeh, N., & Ghiasi-Esfahani, H. (2015). Qualitative improvement of low meat beef burger using Aloe vera. *Meat Science*, 99, 75–80. DOI.org/10.1016/j.meatsci.2014.09.002.

Sotomayor, J. A. (1998). *Estudio sobre las plantas aromáticas de los géneros Salvia y Thymus, espontáneas en el Sureste Iberico, para su establecimiento como cultivo*. (Tesis Doctoral). Universidad de Murcia. Departamento de Biología vegetal (Botánica), Murcia (España).

Sotomayor, J. A., Martínez, C., Moñino, J., Lax, V., Quílez, M., & Jordán, M. J. (2009). Effect of altitude on Rosmarinus officinalis essential oil in Murcia (Spain). *Acta Horticulturae*, 826, 309-316.

Suleman, R., Hui, T., Wang, Z., Liu, H., & Zhang, D. (2019). Comparative analysis of charcoal grilling, infrared grilling and superheated steam roasting on the colour, textural quality and heterocyclic aromatic amines of lamb patties. *International Journal of Food Science & Technology*. DOI:10.1111/ijfs.14388

Tejeda, J. F., Ramón, E., Peña, A. I., & Andrés, I. (2008). Effect of live weight and sex on physico-chemical and sensorial characteristics of Merino lamb meat. *Meat Science*, 80, 1061–1067.

Teixeira, A., Batista, S., Delfa, R., & Cadavez, V. (2005). Lamb meat quality of two breeds with protected origin designation. Influence of breed, sex and live weight. *Meat Science*, 71(3), 530–536. DOI:10.1016/j.meatsci.2005.04.036.

Tomás-Lorente, F., García-Grau, M. M., & Tomás Barberán, F. A. (1988). The wastes of the industrial treatment of *Salvia lavandulaefolia* as a source of biologically active flavonoids. *Fitoterapia*, 59 (1), 62-64.

Toral, P. G., Monahan, F. J., Hervás, G., Frutos, P., & Moloney, A. P. (2018). Review: Modulating ruminal lipid metabolism to improve the fatty acid composition of meat and milk. Challenges and opportunities. *Animal*, 12 (S2), s272-s281. DOI:10.1017/S1751731118001994animals272.

Torras-Claveira, L., Jauregui, O., & Bastida, J. (2007). Antioxidant activity and phenolic composition of Lavandin (Lavandula intermedia Emeric ex Loiseleur) wast. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 8436-8443. DOI:10.1021/jf070236n.

Bibliografía

- Toro-Mujica, P., García, A., Gómez-Castro, A., Perea, J., Rodríguez-Estévez, V., Angón, E & Barba, C. (2012). Organic dairy sheep farms in south-central Spain: Typologies according to livestock management and economic variables. *Small Ruminant Research*, 104 (1-3), 28– 36. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2011.11.005.
- Tsiplakou, E., Mountzouris, K. C., & Zervas, G. (2006). Concentration of conjugated linoleic acid in grazing sheep and goat milk fat. *Livestock Science*, 103 (1–2), 74–84.
- Tsiplakou, E., & Zervas, G. (2008). The effect of dietary inclusion of olive tree leaves and grape marc on the content of conjugated linoleic acid and vaccenic acid in the milk of dairy sheep and goats. *Journal of Dairy Research*, 75 (03). DOI:10.1017/s0022029908003270.
- Tulukcu, E., Yalcin, H., Ozturk, I., & Sagdic, O. (2012). Changes in the fatty acid compositions and bioactives of clary sage seeds depending on harvest year. *Industrial Crops and Products*, 39, 69–73. DOI:10.1016/j.indcrop.2012.02.012
- Ulbricht, T. L. V., & Southgate, D. A. T. (1991). Coronary heart disease: seven dietary factors. *Lancet*, 338, 985–992.
- Utrera, M., Morcuende, D., & Estévez, M. (2014^b). Fat content has a significant impact on protein oxidation occurred during frozen storage of beef patties. *Food Science and Technology*, 56 (1), 62–68. DOI:10.1016/j.lwt.2013.10.040 .
- Urrutia, O., Mendizabal, J. A., Insausti, K., Soret, B., Purroy, A., & Arana, A. (2015). Effects of Addition of Linseed and Marine Algae to the Diet on Adipose Tissue Development, Fatty Acid Profile, Lipogenic Gene Expression, and Meat Quality in Lambs. *PLoS ONE*, 11 (6). DOI:10.1371/journal.pone.0156765.
- Usano-Alemany, U. J. (2012). *Estudio del efecto de los factores ambientales y agronómicos sobre la producción de los aceites esenciales de Salvia lavandulifolia VAHL*. (Tesis doctoral). Universidad Complutense de Madrid, Madrid, (España).
- Usano-Alemany, J., Palá-Paúl, J., & Herráiz-Peña, D. (2016). Essential oil yields and qualities of different clonal lines of *Salvia lavandulifolia* monitored in Spain over four years of cultivation. *Industrial Crops and Products*, 80, 251–261. DOI:10.1016/j.indcrop.2015.11.010.
- Valenti, B., Natalello, A., Vasta, V., Campidonico, L., Roscini, V., Mattioli, S., ... Luciano, G. (2018). Effect of different dietary tannin extracts on lamb growth performances and meat oxidative stability: comparison between mimosa, chestnut and tara. *Animal*, 13 (2), 1–9. doi:10.1017/s1751731118001556.
- Vasta, V., & Priolo, A. (2006). Ruminant fat volatiles as affected by diet. A review. *Meat Science*, 73 (2), 218–228. DOI:10.1016/j.meatsci.2005.11.017.
- Vasta, V., Mele, M., Serra, A., Scerra, M., Luciano, G., Lanza, M., & Priolo, A. (2009). Metabolic fate of fatty acids involved in ruminal biohydrogenation in sheep fed concentrate or herbage with or without tannins. *Journal of Animal Science*, 87 (8), 2674-84. DOI: 10.2527/jas.2008-1761

- Vasta, V., Yanez-Ruiz, D. R., Mele, M., Serra, A., Luciano, G., Lanza, M., ... Priolo, A. (2010). Bacterial and protozoal communities and fatty acid profile in the rumen of sheep fed a diet containing added tannins. *Applied Environmental Microbiology* 76, 2549–2555. DOI:10.1128/AEM.02583-09.
- Vasta, V., & Luciano, G. (2011). The effects of dietary consumption of plants secondary compounds on small ruminants' products quality. *Small Ruminant Research*, 101,150–159.
- Vasta, V., Ventura, V., Luciano, G., Andronico, V., Pagano, R. I., Scerra, M., ... Priolo, A. (2012). The volatile compounds in lamb fat are affected by the time of grazing. *Meat Science*, 90 (2), 451–456. doi:10.1016/j.meatsci.2011.09.006.
- Vasta, V., Aouadi, D., Brogna, D. M., Scerra, M., Luciano, G., Priolo, A., & Ben Salem, H. (2013). Effect of the dietary supplementation of essential oils from rosemary and artemisia on muscle fatty acids and volatile compound profile in Barberine lambs. *Meat Science*, 95 (2), 235-241. DOI: 10.1016/j.meatsci.2012.12.021.
- Vaudagna, S. R., Sánchez, G., Neira, M. S., Insani, E. M., Picallo, A. B., & Gallinger, M. M. (2002). Sous-vide cooked beef muscles: effects of low temperature–log time (LT–LT) treatments on their quality characteristics and storage stability. *International Journal of Food Science and Technology*, 37, 411–425.
- Velasco, S., Caneque, V., Lauzurica, S., Perez, C., & Huidobro, F., (2004). Effect of different feeds on meat quality and fatty acid composition of lambs fattened at pasture. *Meat Science*, 66 (2), 457–465. DOI.org/10.1016/S0309-1740(03)00134-7.
- Veličković, D. T., Randelović, N. V., Ristić, M. S., Veličković, A. S., & Šmelcerović, A. A. (2003). Chemical constituents and antimicrobial activity of the ethanol extracts obtained from the flower, leaf and stem of *Salvia officinalis* L. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 68 (1), 17-24.
- Vergara, H., & Gallego, L. (2000). Effect of electrical stunning on meat quality of lamb. *Meat Science*, 56, 345–349.
- Vergara, H., Linares, M. B., Berruga, M. I., & Gallego, L. (2005). Meat quality in suckling lambs: Effect of pre-slaughter handling. *Meat Science*, 69, 473–478.
- Vestergaard, M., Oksbjerg, N., & Henckel, P. (2000). Influence of feeding intensity, grazing and finishing feeding on muscle fibre characteristics and meat colour of semitendinosus, *longissimus dorsi* and supraspinatus muscles of young bulls. *Meat Science*, 54 (2), 177–185. DOI:10.1016/S0309-1740(99)00097-2.
- Veterinarios sin fronteras (2012). Una política Agraria Común para el 1%. El reparto de las ayudas de la Política Agraria Común 2011. Recuperado de <https://justiciaalimentaria.org/sites/default/files/docs/Una%20%20PAC%20%20para%20el%201%25.pdf>
- Vidal-González, C., Barba, C., Perea, J., Angón, E., Puntas, J.A., & Rouco, A. (2016). Caracterización preliminar del sistema mixto ovino Seguro. *Archivos de Zootecnia*, 65(251), 433-435. Nota breve.

Bibliografía

- Vieira, C., Fernández-Diez, A., Mateo, J., Bodas, R., Soto, S., & Manso, T. (2012). Effects of addition of different vegetable oils to lactating dairy ewes's diet on meat quality characteristics of suckling lambs reared on the ewes' milk. *Meat Science*, 91, 277-283.
- Vieira, C. (2019). Suckling lamb meat quality from ewes fed with different sources of fat, during storage under display conditions. *Small Ruminant Research*, 176, 47-54. DOI.org/10.1016/j.meatsci.2006.04.033.
- Wagstaff, S. J., Hickerson, L., Spanglet, R., Reeves, P. A., & Olmstead, G. R. (1998). Phylogeny in Labiateae s.l. inferred from cpDNA sequences. *Plant systematics and evolution*, 269, 265-274.
- Walker, J. B., Sytsma, K. J., Treutlein, J., & Wink, M. (2004). *Salvia* (Lamiaceae) is not monophyletic: implications for the systematic, radiation, and ecological specializations of *Salvia* and Tribe mentheae. *American Journal of Botany*, 91, 1115-1125.
- Ward, P. F. V., Scott, T. W., & Dawson, R. M. C. (1964). The hydrogenation of unsaturated fatty acids in the ovine digestive tract. *Biochemical Journal*, 92, 60-68.
- Warris, P. D. (2003). *Ciencia de la carne*. Ed Acribia, S.A. Zaragoza (España).
- Weary, D. M., Jasper, J., & Hötzl, M. J. (2008). Understanding weaning distress. *Applied Animal Behaviour Science*, 110 (1-2), 24-41. DOI: 10.1016/j.applanim.2007.03.025.
- Webb, E., & Casey, N., (1995). Dietary, breed and slaughter weight factors influencing the composition and accumulation of subcutaneous fat in wethers. *Proceedings of the 41st Annual International Congress of Meat Science and Technology*, San Antonio, Texas, USA, Vol. II, pp. 634-635.
- Willstatter, R., & Bolton, E. K. (1916). Anthocyanes. XI. The anthocyan of red-flowering varieties of *Salvia*. *Liebigs Annalen*, 412, 113-136.
- Whitfield, F. B., & Mottram, D. S. (1992). Volatiles from interactions of Maillard reactions and lipids. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 31 (1-2), 1-58. DOI:10.1080/10408399209527560.
- Wolff, R. L. (1993). Heat-induced geometrical isomerization of α-linolenic acid: Effect of temperature and heating time on the appearance of individual isomers. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 70(4), 425-430. DOI:10.1007/bf02552718
- Wolski T., & Ludwiczuk A. (2004) Essential Oils: Extraction Techniques, Pharmaceutical And Therapeutic Potential - A Review, *Aromaterapia*, 10, 26.
- Wong, E., Johnson, C. B., & Nixon, L. N. (1975). The contribution of 4-methyloctanoic (hircinoic) acid to mutton and goat meat flavour. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 18 (3), 261-266. 18:3, 261-266, DOI: 10.1080/00288233.1975.10423642.
- World Cancer Research Found. 2011. Continuous Update Project Report: Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Colorectal Cancer. American Institute for Cancer Research.

- 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 Science*, 78, 343-358. DOI:10.1016/j.meatsci.2007.07.019
- Yagoubi, Y., Joy, M., Ripoll, G., Mahouachi, M., Bertolín, J. R., & Atti, N. (2018). Rosemary distillation residues reduce lipid oxidation, increase alpha-tocopherol content and improve fatty acid profile of lamb meat. *Meat Science*, 136, 23-29. DOI:10.1016/j.meatsci.2017.10.
- Yang, A., Brewster, M. J., Lanari, M. C., & Tume, R. K. (2002). Effect of vitamin E supplementation on α-tocopherol and β-carotene concentrations in tissues from pasture- and grain-fed cattle. *Meat Science*, 60, 35–40.
- Yoshida, H., Hirakawa, Y., Tomiyama, Y., Nagamizu, T., & Mizushina, Y. (2005). Fatty acid distributions of triacylglycerols and phospholipids in peanut seeds (*Arachis hypogaea L.*) following microwave treatment. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18 (1), 3–14.
- Young, O. A., Berdague', J. L., Viallon, C., Rousset-Akrim, S., & Theriez, M., (1997). Fat-borne volatile and sheep meat odour. *Meat Science*, 45, 183–200.
- Young, O. A., Lane, G. A., Priolo, A., & Fraser, K. (2003). Pastoral and species flavour in lambs raised on pasture, Lucerne or maize. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83, 93–104. DOI: 10.1002/jsfa.1282.
- Young, O. A., Lane, G. A., Podmore, C., Fraser, K., Agnew, M. J., Cummings, T.L & Cox, N.R. (2006). Changes in composition and quality characteristics of ovine meat and fat from castrates and ram aged to 2 years. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 49, 419-430.
- Zamora, R. & Hidalgo, F. J. (2004). Strecker-type degradation produced by the lipid oxidation products 4,5-epoxy-2-alkenals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7126–7131.
- Zamora, R., Gallardo, E., & Hidalgo, F. J. (2008). Model Studies on the Degradation of Phenylalanine Initiated by Lipid Hydroperoxides and Their Secondary and Tertiary Oxidation Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56 (17), 7970–7975. DOI:10.1021/jf801409w.
- Zaritzky, N. (2012). Physical-chemical principles in freezing. In Sun, D. W. (Ed), *Handbook of Frozen Food Processing and Packaging*, 3–38.
- Zervas, G., & Tsiplakou, E. (2011). The effect of feeding systems on the characteristics of products from small ruminants. *Small Ruminant Research*, 101, (1–3), 140-149. DOI:org/10.1016/j.smallrumres.2011.09.034.
- Zgur, S., Cividini, A., Kompan, D., & Birti, D. (2003). The effect of live weight at slaughter and sex on lambs carcass traits and meat characteristics. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 63 (3), 155-159.

Bibliografía

- Žugčić, T., Abdelkebir, R., Barba, F. J., Rezek-Jambrak, A., Gálvez, F., Zamuz, S., ... Lorenzo, J. M. (2018). Effects of pulses and microalgal proteins on quality traits of beef patties. *Journal of Food Science and Technology*. DOI:10.1007/s13197-018-3390-9

