TESIS DE DOCTORADO

INFLUENCIA DE LA SUPLEMENTACIÓN CON SEMILLAS OLEAGINOSAS EN LA DIETA DE TERNEROS DE RAZA RUBIA GALLEGA: MODIFICACIÓN DEL PERFIL LIPÍDICO

Laura González González

ESCUELA DE DOCTORADO INTERNACIONAL DE LA UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA QUÍMICA

SANTIAGO DE COMPOSTELA

2020

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

DECLARACIÓN DEL AUTOR/A DE LA TESIS

D./Dña. **Laura González González**

Título da tese: **Influencia de la suplementación con semillas oleaginosas en la dieta de terneros raza Rubia Gallega: modificación del perfil lipídico**

Presento mi tesis, siguiendo el procedimiento adecuado al Reglamento y declaro que:

1) La tesis abarca los resultados de la elaboración de mi trabajo.
2) De ser el caso, en la tesis se hace referencia a las colaboraciones que tuvo este trabajo.
3) Confirmo que la tesis no incurre en ningún tipo de plagio de otros autores ni de trabajos presentados por mí para la obtención de otros títulos.

Y me comprometo a presentar el Compromiso Documental de Supervisión en el caso que el original no esté depositado en la Escuela.

En **Santiago de Compostela**, **28 de diciembre de 2020**.

Firma electrónica

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR DE LA TESIS

Influencia de la suplementación con semillas oleaginosas en la dieta de terneros raza Rubia Gallega: modificación del perfil lipídico

D./Dª. **Teresa Moreno López**

INFORMA:

Que la presente tesis, se corresponde con el trabajo realizado por D/Dª. **Laura González González,** bajo mi dirección, y autorizo su presentación, considerando que reúne los requisitos exigidos en el Reglamento de Estudios de Doctorado de la USC, y que como director de esta no incurre en las causas de abstención establecidas en la Ley 40/2015.

De acuerdo con lo indicado en el Reglamento de Estudios de Doctorado, declara también que la presente tesis doctoral es idónea para ser defendida en base a la modalidad de Monográfica con reproducción de publicaciones, en los que la participación del doctorando/a fue decisiva para su elaboración y las publicaciones se ajustan al Plan de Investigación.

En ....., ... de ..... de 20..

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR/TUTOR DE LA TESIS

D./Dña. **Mª del Carmen Casais Laiño**

En condición de: **Tutor/a**

Título de la tesis: **Influencia de la suplementación con semillas oleaginosas en la dieta de terneros raza Rubia Gallega: modificación del perfil lipídico**

INFORMA:

Que la presente tesis, se corresponde con el trabajo realizado por D/Dña **Laura González González**, bajo mi dirección/tutorización, y autorizo su presentación, considerando que reúne los requisitos exigidos en el Reglamento de Estudios de Doctorado de la USC, y que como director/tutor de esta no incurre en las causas de abstención establecidas en la Ley 40/2015.

En **Santiago de Compostela**, **28 de diciembre de 2020**

Firma electrónica

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

La presente Tesis de Doctorado ha sido realizada en el Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (CIAM), dependiente de la Agencia Gallega de Calidad Alimentaria (AGACAL) de la Xunta de Galicia, mediante la concesión de una beca predoctoral de Formación de Personal Investigador financiada por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA); la cual se enmarcó dentro del proyecto de investigación *RTA2006-00133-00-00* (INIA), así como de la *Acción de Transferencia AC10/52* (D.X. Innovación e Investigación Agraria e Forestal. Consellería Medio Rural. Xunta de Galicia).



USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA



A ti, mamá

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

AGRADECIMIENTOS

Quisiera reflejar en estas líneas mi sincero agradecimiento a todas las personas que me han acompañado durante esta larga etapa y han colaborado en la realización de esta Tesis. Han sido muchas las personas que me han mostrado su apoyo y me siento profundamente afortunada. Gracias a todas ellas.

Agradezco a las instituciones que han hecho posible llevar a cabo este trabajo. Al INIA, por la financiación concedida y por la gran oportunidad de realizar estancias en otros centros. Al CIAM, por haberme facilitado los medios necesarios para llevar a cabo el desarrollo de un trabajo que hoy se ve concretado. Así mismo, agradezco al LAFIGA y a su personal toda la colaboración recibida.

A Teresa Moreno, directora de esta Tesis, gracias por guiarme y orientarme a lo largo de todo este proceso; sobre todo, por la paciencia que ha mostrado y el positivismo que me ha transmitido para continuar. Sin su ayuda la presente Tesis no llegaría a finalizarse.

A Mike Dugan, además de haberme permitido invadir su laboratorio y transmitirme sus conocimientos con absoluta pasión, gracias por su inmensa calidez humana, por la motivación personal y por los consejos recibidos.

A todo el personal del CIAM y a los compañeros con los que he compartido proyectos e ilusiones durante estos años, gracias. De una forma muy especial agradezco a Manel, Luis, Ricardo, Jaime, Matías y Fran su inestimable colaboración en la realización de los ensayos y el cuidado de los terneros; así como a Sonia Carracedo por su ayuda en el laboratorio y las risas compartidas. A Espe Bispo, Ali Latorre y María Chao, por prestarme su apoyo durante los inicios de este largo camino en el que compartimos buenas y malas etapas; especialmente a Ali por su confianza y las numerosas conversaciones fuera del trabajo. A Sonia Pereira, Marcos Veiga y Adrián Botana, por ser unos compañeros extraordinarios y mostrarme su colaboración siempre que la he necesitado, así como su entusiasmo por el trabajo en armonía, animándome a seguir adelante habiendo compartido conmigo tantos momentos de frustración. Especialmente gracias a Sonia Pereira por todo lo que me ha ayudado en la recta final. Gracias también a Bea Vilar y a Jaime Gutiérrez por su constante interés y preocupación.

Quisiera agradecer de manera especial a Gonzalo Flores por confiar en mí estos últimos años y transmitirme la motivación y superación necesaria para concluir este trabajo. Así mismo, agradezco a Thierry Dagnac, César Resch, Juan Castro y Jesús Moreno por su apoyo.

Gracias también a mis amistades, Laila, Laura, Paula y Carlos, gracias por estar siempre ahí, incondicionalmente... a pesar de mis desapariciones temporales.

Gracias a mis padres por apoyarme y animarme siempre; nada de esto hubiese sido posible sin los esfuerzos realizados por mí y el tiempo que les he robado. A mi hermana Cris, por su comprensión y por la serenidad que me aportan sus conversaciones y consejos.

Por último, agradezco especialmente a Diego su infinita paciencia… gracias por ser el soporte fundamental para llegar hasta aquí.

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

RESUMEN

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

RESUMEN

La importancia de la carne de vacuno en la dieta humana es incuestionable, pues se considera un alimento de alto valor nutritivo al ser fuente de proteínas de alto valor biológico, de minerales como el hierro y el zinc, de vitaminas principalmente del grupo B o de ácidos grasos esenciales que deben ser aportados a través de la dieta. Sin embargo, estas cualidades han quedado relegadas durante los últimos años debido a la imagen negativa de su elevado contenido en grasa en relación con sus efectos adversos sobre la incidencia de ciertas enfermedades crónicas en los humanos.

Las directrices nutricionales de los organismos internacionales encargados de regular la salud pública, alentando a reducir el consumo de ácidos grasos saturados (AGS) y *trans* monoinsaturados (*t*AGMI), son cada vez más restrictivas y señalan la importancia de incrementar el contenido de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), específicamente el de los omega-3 (*n-3*AGPI) y, concretamente, los de cadena larga (*n-3*AGPICL). Estas recomendaciones han generado en los últimos años una preocupación creciente por parte del consumidor acerca de la calidad nutritiva de la carne con relación a la composición de su grasa. Particularmente criticada ha sido la carne de rumiantes, al estar su perfil lipídico precisamente dominado por AGS y contener una presencia considerable de *t*AGMI, derivados ambos de la extensa biohidrogenación (BH) ruminal de los AGPI de las fuentes de lípidos en la ración animal; asociándose, el impacto de su consumo sobre la salud humana, con una imagen negativa y como consecuencia, recomendándose su reducción en la dieta, e incluso eliminación, con el objetivo de que esta sea más saludable. Debido a la evolución descendente experimentada en el consumo de carne de bovino durante las últimas décadas, ha existido un interés creciente por parte de la comunidad científica para aumentar su valor añadido mediante la mejora de su perfil lipídico, tratando de incrementar el contenido de *n*-3AGPI y favorecer el enriquecimiento con algunos AG potencialmente bioactivos que se producen exclusivamente durante la BH de las grasas a nivel ruminal, como el ácido linoleico conjugado (CLA), específicamente el isómero *c*9,*t*11-18:2 ($CLA_{c9,t11}$), o el ácido *trans* vaccénico (TVA, *t*11-18:1).

El ternero tradicional de raza Rubia Gallega es un animal genéticamente magro y se sacrifica alrededor de los 8-10 meses de edad, requiriéndose, para la producción de canales más engrasadas, un sistema de alimentación semiextensivo que combina, el manejo en pastoreo y la lactancia materna, con un período de acabado de 2 a 3 meses en cebadero y consumo *ad libitum* de concentrados y heno; alcanzando así una mayor infiltración de grasa en sus tejidos, un atributo altamente valorado en el mercado y de especial limitación en terneros RG. Este tipo de dietas proporcionan, en cambio, un perfil de grasa en la carne percibido como menos saludable, mostrando unas relaciones AGPI/AGS y de AG omega-6 a omega-3 (*n-6*/*n-3*) menos favorables en comparación con las procedentes de animales manejados en base a pastos y forrajes; produciéndose además, en determinadas condiciones, alteraciones en las rutas de BH de los AGPI que favorecen la indeseada acumulación relativa de *t*10-18:1 sobre TVA, por los posibles efectos adversos del *t*10-18:1 sobre la salud humana. Como consecuencia, para minimizar la merma de calidad lipídica que se produce al cambiar a dietas altas en concentrados, una de las iniciativas más prometedoras para mejorar el perfil de AG de la carne de rumiantes a través de la alimentación, y objeto de varias revisiones, es incluir en la ración del ganado fuentes ricas en AGPI, especialmente en ácido linoleico (LA) y α-linolénico (LNA); siendo el primero más abundante en la mayoría de cereales y oleaginosas, mientras que el segundo es mayoritario en los forrajes, en las semillas de lino (linaza) y en los lípidos de algas y pescados. Las estrategias más empleadas son la suplementación con oleaginosas, especialmente aquellas que aportan una elevada proporción de LA y LNA en sus lípidos, y el aumento de la proporción de forraje de alto valor nutritivo y elevada calidad lipídica en la ración animal.

La optimización de los sistemas de producción de carne con el fin de mejorar sus características nutricionales y organolépticas, adecuándose a las demandas de consumo emergentes que integran la preocupación por la salud, el mantenimiento del medio ambiente y el bienestar animal, contemplando cada vez más la alimentación como fuente de nutrientes, es hoy día una actividad prioritaria y abre la posibilidad de ocupar un nicho de mercado particular para la producción de carne de calidad diferenciada. Con el fin de mejorar el perfil lipídico de la carne hacia una composición de AG más saludable desde el punto de vista de la salud humana, se han realizado diversos trabajos acerca de los efectos del sistema de producción de terneros de raza RG, evaluando el tiempo en pastoreo y/o

cebadero, la edad y cobertura de grasa al sacrificio o la influencia del destete, pero no existe información acerca de los efectos de la suplementación con oleaginosas sobre la calidad lipídica de su grasa intramuscular y el enriquecimiento de *n-3*, $CLA_{c9,t11}$ y TVA en su carne.

A fin de evaluar el efecto de la inclusión de oleaginosas en los piensos convencionales suplementados durante la fase de acabado a los terneros de raza RG, sobre el perfil de su grasa intramuscular y subcutánea, así como de obtener información de las posibles variaciones sobre las características de producción animal, calidad de la canal y calidad organoléptica de la carne, se han planteado cuatro experimentos de alimentación animal que conforman la presente Tesis Doctoral; utilizándose para ello 125 terneros de raza RG (77 hembras y 48 machos) procedentes del rebaño experimental del Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (CIAM). En los dos primeros ensayos se analizó el efecto del tipo de oleaginosa (linaza, girasol o soja) incluida en la dieta animal, suministradas como aceite (Capítulo I) o como semillas parcialmente procesadas (Capítulo II). En el tercer y cuarto ensayo se evaluaron, respectivamente, los efectos del nivel de linaza incluido en el concentrado (5, 10 y 15%MS) (Capítulo III), y del mantenimiento del pastoreo durante la fase de acabado de terneros que consumen un pienso enriquecido en linaza (10%MS) (Capítulo IV).

Los resultados experimentales confirman que la suplementación con oleaginosas es efectiva en la modificación del perfil lipídico de la carne de terneros de raza RG, alterando la distribución individual de AG en función de su naturaleza, mostrando un impacto menor sobre las características de producción animal, calidad de la canal y calidad organoléptica de la carne. La suplementación con linaza alcanzó consistentemente, las mayores proporciones de LNA y *n-3*AGPI y mantuvo un perfil *t*AGMI más favorable (*t*10-18:1/TVA <1), siendo la soja y el girasol más efectivos en el aumento de las proporciones de TVA y CLA_{TOTAL}. Los cambios observados han sido, en todo caso, de baja magnitud. El incremento en la concentración de LNA y *n-3*AGPI en la carne, mediante cualquiera de las estrategias estudiadas, aunque supone cierta contribución a la ingesta recomendada de estos AG, ha sido limitada para alcanzar los requisitos de un etiquetado diferencial debido principalmente a la escasa protección de los AGPI de la dieta y a la condición magra de los teneros raza RG. El aumento del nivel de linaza suplementado en la dieta, con el objetivo de incrementar la proporción y cantidad de LNA y Σ*n-3* en la carne, resultó efectivo sólo hasta un nivel de 10% MS, a partir del

cual no se observan mejoras. El consumo de una mayor proporción de forraje (40 vs. 15%MS) de valor nutritivo y calidad lipídica superior (pasto frente a heno) en la ración final de la fase de acabado de los terneros de raza RG suplementados con un pienso enriquecido con linaza (10%MS), resultó ser, finalmente, bajo las condiciones experimentales de este trabajo, la opción más viable de entre las evaluadas para proteger a los AGPI de la dieta y favorecer su paso ruminal, observándose las relaciones AGPI/AGS y *n-6/n-3* más favorables en su carne, sin limitar la deposición de GIM. Además, la combinación del pasto con un pienso enriquecido en linaza proporcionó efectos sinérgicos, aumentando específicamente las proporciones de LNA y Σ*n-3* en la grasa intramuscular de su carne así como las de TVA y $CLA_{c9,t11}$; observándose incrementos sustanciales en la carne, exclusivamente, en la concentración de LNA y *n-3*AGPICL respecto a la procedente de los terneros estabulados. Mantener el pastoreo y la lactancia materna durante la etapa de acabado de terneros de raza RG suplementados con un pienso enriquecido en linaza, también mejoró las características de producción animal, calidad de la canal y calidad organoléptica de la carne respecto al sistema extensivo sin suplementación, proporcionando los beneficios de la finalización en dietas altas en concentrados, a la vez que favorece un perfil de AG más favorable desde el punto de vista de la salud humana.

En todo caso, para mejorar la protección de los AGPI de los lípidos de la dieta frente a la lipólisis y/o BH ruminal, con el fin de suplementar una dieta típica de terneros de raza RG que permita la producción de carne de calidad y alcanzar enriquecimientos significativos en sus tejidos de *n-3*AGPICL o de productos intermedios de la BH como el TVA y $CLA_{c9,t11}$, las acciones futuras deben prestar atención no sólo al procesamiento de la semilla oleaginosa sino también a la fracción no lípídica de la dieta, por lo que deben ir encaminadas a i) establecer una ingesta mínima de concentrado que permita la deposición de GIM necesaria, ii) incrementar el consumo de forraje de alto valor nutricional debido a la influencia positiva que puede ejercer la presencia de ciertos compuestos sobre el enriquecimiento de los AG de interés, y iii) adecuar la relación concentrado:forraje idónea en la dieta, lo que implica una alimentación controlada y limitada de ambos recursos alimenticios.

RESUMO

A importancia da carne de vacún na dieta humana é incuestionable, pois se considera un alimento de alto valor nutritivo ao ser fonte de proteínas de alto valor biolóxico, de minerais como o ferro e o zinc, de vitaminas principalmente do grupo B ou de ácidos graxos (AG) esenciais que deben ser aportados a través da dieta. Sen embargo, estas cualidades quedaron relegadas durante os últimos anos debido á imaxe negativa do seu elevado contido en graxa en relación cos seus efectos adversos sobre a incidencia de certas enfermidades crónicas nos humanos.

As recomendacións nutricionais dos organismos internacionais, encargados de regular a saúde pública, alentado a reducir o consumo de ácidos graxos saturados (AGS) e *trans* monoinsaturados (*t*AGMI), sendo cada vez máis restritivas e sinalando a importancia de incrementar o contido de ácidos graxos poliinsaturados (AGPI), especificamente o dos omega-3 (*n-3*AGPI) e, concretamente os de cadea longa (*n-3*AGPICL), xeraron nos últimos anos unha preocupación crecente por parte do consumidor acerca da calidade nutritiva da carne en relación á composición da súa graxa. Particularmente criticada foi a carne de ruminantes, ao estar o seu perfil lipídico precisamente dominado por AGS e conter unha presenza considerable de *t*AGMI, derivados ambos da extensa biohidroxenación (BH) ruminal dos AGPI das fontes de lípidos na ración animal; asociándose o impacto do seu consumo sobre a saúde humana cunha imaxe negativa e como consecuencia, recomendándose a súa redución na dieta, e incluso a súa eliminación, co obxectivo de que esta sexa máis saudable. Debido á evolución descendente experimentada no consumo de carne de bovino durante as últimas décadas, houbo un interese crecente por parte da comunidade científica para aumentar o seu valor engadido mediante a mellora do seu perfil lipídico, tratando de incrementar o contido de *n*-3AGPI e favorecer o enriquecemento con algúns AG potencialmente bioactivos que se producen exclusivamente durante a BH das graxas a nivel ruminal, como o ácido linoleico conxugado (CLA), especificamente o isómero *c*9,*t*11-18:2 ($CLA_{c9,t11}$), ou o ácido *trans* vaccénico (TVA, *t*11-18:1).

O tenreiro tradicional de raza Rubia Galega é un animal xenéticamente magro e se sacrifica ao redor dos 8-10 meses de idade, requirindo un sistema de alimentación que combina o manexo en pastoreo e a lactancia materna cun período de acabado de 2 a 3 meses en cebadeiro e consumo *ad libitum* de concentrados e feno para a produción de canais máis engraxadas e acadar unha maior infiltración de graxa no seu tecido, un atributo moi valorado no mercado e de especial limitación nos tenreiros RG. Este tipo de dietas proporcionan, en cambio, un perfil de graxa na carne percibido como menos saudable, mostrando unhas relacións AGPI/AGS e de AG omega-6 a omega-3 (*n-6*/*n-3*) menos favorables en comparación coas procedentes de animais manexados en base a pastos e forraxes; producíndose ademais, en determinadas condicións, alteracións nas rutas de BH dos AGPI que favorecen a indesexable acumulación relativa de *t*10-18:1 sobre TVA, polos posibles efectos adversos do *t*10-18:1 sobre a saúde humana. Como consecuencia, para minimizar a mingua da calidade lipídica que se produce ao cambiar a dietas altas en concentrados, unha das iniciativas máis prometedoras para mellorar o perfil de AG da carne de ruminantes a través da alimentación, e obxecto de varias revisións, é incluír na ración do gando fontes ricas en AGPI, especialmente en ácido linoleico (LA) e α-linolénico (LNA); sendo o primeiro máis cuantioso na maioría de cereais e oleaxinosas, mentres que o segundo é maioritario nas forraxes, nas sementes de liño (liñaza) e nos lípidos de orixe mariña (peixe e algas). As estratexias máis empregadas son a suplementación con oleaxinosas, especialmente aquelas que aportan unha elevada proporción de LA e LNA nos seus lípidos, e o aumento da proporción de forraxe de alto valor nutritivo e elevada calidade lipídica na ración animal.

A optimización dos sistemas de produción de carne coa finalidade de mellorar as súas características nutricionais e organolépticas, adecuándose ás demandas de consumo emerxentes que integran a preocupación pola saúde, o mantemento do medio ambiente e o benestar animal, contemplando cada vez máis a alimentación como fonte de nutrintes, é hoxe en día unha actividade prioritaria e abre a posibilidade de ocupar un nicho de mercado particular para a produción de carne de calidade diferenciada. Coa finalidade de mellorar o perfil lipídico da carne cara unha composición de AG máis saudable desde o punto de vista da saúde humana, realizáronse diversos traballos acerca dos efectos do sistema de produción de tenreiros de raza RG, avaliando o tempo en pastoreo e/ou cebadeiro, a idade e cobertura de graxa ao sacrificio ou a influencia do destete, pero non existe información sobre os efectos da suplementación con oleaxinosas sobre a calidade

lipídica da súa graxa intramuscular e o enriquecemento de *n-3*, $CLA_{c9,t11}$ e TVA na súa carne.

Co fin de avaliar o efecto da inclusión de oleaxinosas aos pensos convencionais suplementados durante a fase de acabado aos tenreiros raza RG, sobre o perfil da súa graxa intramuscular e subcutánea, así como para obter información das posibles variacións sobre as características de produción animal, calidade da canal e calidade organoléptica da carne, propuxéronse catro experimentos de alimentación animal que conforman a presente Tese de Doutoramento; utilizándose para elo 125 tenreiros de raza RG (77 femias e 48 machos) procedentes do rabaño experimental do Centro de Investigacións Agrarias de Mabegondo (CIAM). Nos dous primeiros ensaios analizouse o efecto do tipo de oleaxinosa (liñaza, xirasol ou soia) incluída na dieta animal, subministradas como aceite (Capítulo I) ou como sementes parcialmente procesadas (Capítulo II). No terceiro e cuarto ensaio avaliáronse, respectivamente, os efectos do nivel de liñaza (5, 10 e 15%MS) incluído no concentrado (Capítulo III) e do mantemento do pastoreo durante a fase de acabado de tenreiros que consumen un penso enriquecido en liñaza (10%MS) (Capítulo IV).

Os resultados experimentais confirman que a suplementación con oleaxinosas é efectiva na modificación do perfil lipídico da carne de tenreiros de raza RG, alterando a distribución individual de AG en función da súa natureza, mostrando un impacto menor sobre as características de produción animal, calidade da canal e calidade organoléptica da carne. A suplementación con liñaza alcanzou consistentemente, as maiores proporciones de LNA e *n-3*AGPI e mantivo un perfil *t*AGMI máis favorable (*t*10-18:1/TVA <1), sendo a soia e o xirasol máis efectivos no aumento das proporcións de TVA e CLA_{TOTAL}. Os cambios observados foron en todo caso de baixa magnitude e o incremento na concentración de LNA e *n-3*AGPI na carne mediante calquera das estratexias estudadas, aínda que supón algunha contribución á inxesta recomendada de estes AG, foi limitada para acadar os requisitos dun etiquetado diferencial, principalmente debido á escasa protección dos AGPI da dieta e á condición magra dos tenreiros raza RG. O aumento do nivel de liñaza suplementado na dieta co obxectivo de incrementar a proporción e cantidade de LNA e Σ*n-3* na carne resultou efectivo só ata un nivel do 10% MS, a partir do cal non se observan melloras. O consumo dunha maior proporción de forraxe (40 vs. 15%MS) de valor nutritivo e calidade lipídica superior (pasto fronte ao feno) na ración final da fase de acabado dos tenreiros de raza RG suplementados cun

penso enriquecido con liñaza (10%MS), resultou ser, finalmente, baixo as condicións experimentais deste traballo, a opción máis viable de entre as avaliadas para protexer aos AGPI da dieta e favorecer o seu paso ruminal, observándose as relaciones AGPI/AGS e *n-6/n-3* máis favorables na súa carne, sen limitar a deposición de GIM. Ademais, a combinación do pasto cun penso enriquecido en liñaza proporcionou efectos sinérxicos, aumentando especificamente as proporciones de LNA e Σ*n-3* na graxa intramuscular da súa carne así como as de TVA e $CLA_{c9,t11}$; observándose incrementos substanciais na carne, exclusivamente, na concentración de LNA e *n-3*AGPICL respecto á procedente dos tenreiros estabulados. Manter o pastoreo e a lactancia materna durante a etapa de acabado de tenreiros de raza RG suplementados cun penso enriquecido en liñaza, tamén mellorou as características de produción animal, calidade da canal e calidade organoléptica da carne respecto ao sistema extensivo sen suplementación, proporcionando os beneficios da finalización en dietas altas en concentrados á vez que favorece un perfil de AG máis favorable desde o punto de vista da saúde humana.

En todo caso, para mellorar a protección dos AGPI dos lípidos da dieta fronte á lipólise e/ou BH ruminal, coa finalidade de suplementar unha dieta típica de tenreiros de raza RG que permita a produción de carne de calidade e acadar enriquecementos significativos de *n-3*AGPICL ou de produtos intermedios da BH como o TVA e $CLA_{c9,t11}$ nos seus tecidos, as accións futuras deben prestar atención non só ao procesamento da semente oleaxinosa senón tamén á fracción non lípídica da dieta, polo que deben ir encamiñadas a i) establecer unha inxesta mínima de concentrado que permita a deposición de GIM necesaria, ii) incrementar o consumo de forraxe de alto valor nutricional debido á influencia positiva que poden exercer a presenza de certos compostos sobre o enriquecemento dos AG de interese, e iii) adecuar a relación concentrado:forraxe idónea na dieta, o que implica unha alimentación controlada e limitada de ambos recursos alimenticios.

SUMMARY

Beef is an unquestionable food of high nutritional value in human diet, since it is a source of proteins with high biological value, minerals such as iron and zinc, vitamins mainly of group B and essential fatty acids that must be provided through the diet. However, these qualities have been faded in recent years due to the negative image of high fat content related to adverse effects on the incidence of certain chronic diseases in humans.

The nutritional guidelines from international organizations responsible for public health encourage to reduce consumption of saturated fatty acids (SFA) and *trans* monounsaturated (*t*MUFA) and point out the importance of improving the content of polyunsaturated fatty acids (PUFA) in the diet, specifically omega-3 (*n-3*PUFA) and those of long chain (*n-3*LCPUFA). These indications have generated in recent years a growing concern from consumers about the nutritional quality of meat in relation to fat composition. Ruminant meat has been criticized because its lipid profile is dominated by SFA and a considerable presence of *t*MUFA, both derived from the extensive ruminal biohydrogenation (BH) of PUFA from lipid sources in animal feed. It has been recommended to reduce its consumption and even its elimination from the human diet due to the negative image associated with the impact of a high intake on human health. Due to the downward evolution experienced in beef consumption over the past few decades, there has been a growing interest from part of the scientific community to increase its added value by improving its lipid profile, trying to increase the *n-3*PUFA content and to promote enrichments with some potentially bioactive FAs that occur exclusively during the BH of fats at the ruminal level, such as conjugated linoleic acid (CLA), specifically isomer *c*9,*t*11-18:2 ($CLA_{c9,t11}$), or *trans* vaccenic acid (TVA, t11-18:1).

Calves from Rubia Gallega (RG) breed are genetically lean animals slaughtered at 8-10 months old. The traditional semi-extensive production system involves a grazing period simultaneous with maternal suckling followed by a concentrate-based finishing diet fed indoors and *ad libitum* for 2 to 3 months to produce fattener carcasses and improve the intramuscular fat (IMF) deposition in their tissues, a highly valuable attribute in the commercial market and specially interesting for RG calves. However, this type of

diets provide a FA profile perceived as less healthy, showing less favourable PUFA/SFA and *n-6*/*n-3* ratios compared to those from animals managed on diets based mostly on pastures and conserved forages. In addition, the traditional system may produce, under certain conditions, alterations in the PUFA BH pathways that favour the non-desirable accumulation of *t*10-18:1 isomer instead of TVA. As consequence, to minimize the decline of beef lipid quality occurred when switching animals to high-concentrate diets, one of the most promising initiatives to improve the FA profile of ruminant meat through animal feeding is to include PUFA enriched feed sources, especially those rich in linoleic acid (LA) and α-linolenic acid (LNA); being LA most abundant in cereals and oilseeds while LNA has a major presence in forages, linseed, and algae and fish lipids. Thus, the feeding strategies most commonly used are oilseed supplementation and increasing the proportion of forage from high nutritional quality in the animal diet.

Optimization of ruminant production systems targeted to improve meat nutritional and organoleptic characteristics for meeting new consumption demands that raise concern for human health, environmental sustainability and animal welfare is nowadays a priority activity, which opens up the possibility of occupying a specific market niche for the production of meat of differentiated quality. So much work has been carried out to study the effect of several factors affecting the RG calf production systems on the improvement of meat lipid profile with a healthier FA composition. Factors have included evaluation of time of grazing and/or cereal feeding, the age and fat coverage at slaughter, or the influence of weaning. However, information is lacking about the effects of oilseed, including linseed, supplementation on the lipid quality of the intramuscular fat and the enrichment of *n*-3, $CLA_{c9,t11}$ and TVA in the meat.

To evaluate the effect of including oilseeds in a conventional diet during the finishing phase of RG breed calves on the profile of intramuscular and subcutaneous fat, as well as to obtain information about possible variations in animal performance, the carcass characteristics and the meat quality, four animal feeding experiments have been designed and carried out for conducting this Doctoral Thesis. One-hundred and twenty-five RG calves (77 females and 48 males) from the experimental herd of the Mabegondo Agricultural Research Center (CIAM) were used for this purpose. The effect of the type of oilseeds (linseed, sunflower or soybean) included in the animal diet was analysed in the first two trials, supplied either as oil (Chapter I) or as partially processed seeds (Chapter II). The effects of the level of linseed (5, 10 and 15% MS) included in the

concentrate (Chapter III) and the maintenance of grazing during the finishing phase of calves consuming a linseed enriched concentrate (10% MS) (Chapter IV) were evaluated in the third and fourth trial, respectively.

Experimental results confirm that oilseed supplementation is effective in modifying the lipid profile of RG breed calves, altering the individual distribution of FA, while showing a minor impact on animal production characteristics, such as carcass quality and organoleptic meat quality. Linseed supplementation consistently reached the highest proportions of LNA and n-3PUFA and maintained a more favorable tMUFA profile (t10-18:1/TVA <1), while soybeans and sunflower were more effective in increasing the proportions of TVA and CLA_{TOTAL}. The observed changes have in any case been of low magnitude. The increase in the concentration of LNA and n-3PUFA in meat through any of the strategies studied was limited for reaching the requirements of a differential labelling, mainly due to the low protection of PUFA from the diet and the lean condition of the RG races, although it makes favorable contribution to reach the recommended intake of these FAs. The increase in the level of supplemented linseed in the diet with the aim of increasing the proportion and quantity of LNA and Σn-3 in meat was effective only up to a level of 10% MS; no improvements were observed for higher levels. Consumption of a higher proportion of fodder (40 vs. 15% MS) of superior nutritional value and lipid quality (grass versus hay) in the final diet of the finishing phase of RG calves supplemented with feeds enriched with linseed (10% MS), turned out to be, under the experimental conditions of this work, the most viable option among those evaluated to protect PUFA from the diet and promote its ruminal passage, observing the most favorable PUFA/SFA and n-6/n-3 ratios in their meat, without limiting the deposition of IMF. In addition, the combination of grazing with a feeds enriched in linseed provided synergistic effects, specifically increasing the proportions of LNA and Σn-3 in the intramuscular fat of its meat as well as those of TVA and $CLA_{c9,t11}$; substantial increases of LNA and n-3 were observed in the meat of these calves compared to that from stabled calves. Maintaining grazing and breastfeeding during the finishing stage of RG calves supplemented with feeds enriched in linseeds also improved some animal production characteristics, such as channel quality and organoleptic quality of meat compared to the extensive system without supplementation. This strategy provided the benefits of finishing diets high in concentrates while favoring a FA profile from the point of view of human health.

In any case, to improve the protection of PUFA from dietary lipids against lipolysis and/or ruminal BH in a standard supplementary diet for RG calves that allows the production of quality meat and achieve significant enrichments of n-3CLPUFA or intermediate BH products such as TVA and $CLA_{c9,t11}$ in their tissues, future actions should pay attention not only to the processing of oilseed, but also to the non-lipid fraction of the diet. Thus, strategies should be aimed at (i) establishing a minimum intake of concentrate that allows the deposition of IMF; (ii) increasing the consumption of forage of high nutritional value due to the positive influence that the presence of certain compounds can exert on the enrichment of FAs of interest; and (iii) choosing a suitable ratio of feeds to forage in the diet, which implies a controlled and limited diet of both food resources.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ABREVIATURAS

ARA	Ácido araquidónico, 20:4*n-6*
ACRUGA	Asociación Nacional de Criadores de Ganado Vacuno Selecto de
AG	Ácidos grasos
Ag+-HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución y argentación de columnas
AGCR	Ácidos grasos de cadena ramificada
AGME	Ácidos grasos metilados
AGMI	Ácidos grasos monoinsaturados
AGPI	Ácidos grasos poliinsaturados
AGPICL	Ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga
AGS	Ácidos grasos saturados
AG_T/AG_{TOTLES}	Ácidos grasos totales
ANOVA	Análisis de varianza
BH	Biohidrogenación
C	Concentrado Control
c	Configuración *cis*
°C	Grados Celsius
*c*AGMI	Ácidos Grasos *cis* Monoinsaturados
CE	Comisión Europea
CIAM	Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo
CL	Cadena Larga
CLA	Ácido linoleico conjugado
$CLA_{c9,t11}$	Isómero *cis*9, *trans*11 del Ácido linoleico conjugado
CLNA	Ácido linolénico conjugado
cm	centímetros
CoA	Coenzima A
CR	Cadena ramificada
CRA	Capacidad de retención de agua
CS	Conformación de la canal
d	Días
DHA	Ácido docosohexaenoico, 22:6*n-3*
DPA	Ácido docosapentaenoico, 22:5*n-3*
ECV	Enfermedades Cardiovasculares
EE	Extracto Etéreo
EFSA	Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (European Food Safety Authority)
EM	Energía Metabolizable
EN	Energía neta
ENg	Energía neta para ganancia
ENm	Energía neta para mantenimiento
EPA	Ácido eicosapentaenoico, 20:5*n-3*

EUA	Estados Unidos de América
FAD	Fibra Ácido Detergente
FAO	Organización de las Naciones Unidas de la Alimentación y la Agricultura (Food and Agriculture Organization)
FB	Fibra Bruta
FC	Cobertura de grasa
FDA	Food and Drug Administration
FEDNA	Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal
FID	Detector de ionización de llama
FND	Fibra Neutro Detergente
FS	Cobertura de grasa de la canal
G	Aceite de Girasol
g	gramos
GB	Grasa bruta
GC	Cromatografía de gases
GC/MS	Cromatografía de gases /espectrometría de masas
GIM	Grasa intramuscular
GMD	Ganancia media diaria
GMD_A	Ganancia media diaria de acabado
GMDc	Ganancia media diaria en cebadero
GMD_P	Ganancia media diaria en pastoreo
GMD_T	Ganancia media diaria periodo total
GSC	Grasa subcutánea
h	Horas
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
HPLC	Cromatografía de líquidos de alta resolución
IA	Índice aterogénico
IC	Ingesta de concentrado
IGP	Indicación geográfica protegida
IH	Ingesta de heno
INIA	Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria
IT	Índice trombogénico
Kg	Kilogramos
L	Suplementación con Aceite de Lino
L5	Suplementación con Semilla de Lino (5% MS)
L10	Suplementación con Semilla de Lino (10% MS)
L15	Suplementación con Semilla de Lino (15% MS)
LA	Ácido linoleico, 18:2*n-6*
LAD	Lignina Ácido Detergente
LAFIGA	Laboratorio Agrario y Fitopatológico de Galicia
LC	Suplementación con Semilla de Lino (10% MS) en cebadero
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
LNA	Ácido α-linolénico, 18:3*n-3*
LP	Suplementación con Semilla de Lino (10% MS) durante pastoreo

LT	*Longissimus Thoracis*
m	Metros
M	Molaridad
MAB	Medio ambiente
Máx.	Valor máximo
µL	Microlitros
µm	Micrómetros
µg	Microgramos
mg	Miligramos
min	Minutos
Mín.	Valor mínimo
MJ	Mega Julios
mL	Mililitros
mm	Milímetros
MO	Materia Orgánica
MS	Materia Seca/ espectrometría de masas
N	Nitrógeno/ Normalidad
*n-3*AGPI	Ácidos grasos poliinsaturados omega-3
*n-3*AGPICL	Ácidos grasos poliinsaturados omega-3 de cadena larga
*n-6*AGPI	Ácidos grasos poliinsaturados omega-6
nCLA	Isómeros no conjugados del ácido linoleico
NIRS	Espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano
nm	Nanómetro
NRC	National Research Centre
ns	No significativo
OA	Ácido oleico, c9-18:1
p_{value}	Probabilidad calculada
P	Sistema Extensivo (Pastoreo + lactancia materna); Fósforo
P_{TOTAL}	Fósforo Total
PB	Proteína Bruta
PC	Pérdida de agua por cocción
PDA	Detector de matriz de fotodiodos
PCC	Peso de la canal en caliente
PCF	Peso de la canal en frio
PG	Pérdida de agua por goteo
PIC	Peso al inicio del período de cebo
PN	Peso al nacimiento
PP	Pérdida de agua por presión; compuestos polifenólicos
PPO	Ezima polifenol-oxidasa
PV	Peso vivo al sacrificio
RA	Ácido ruménico, isómero *c*9,*t*11-18:2 ó $CLA_{c9,t11}$
RC	Rendimiento de la canal
RG	Rubia Gallega
RLA	Ácido rumelénico, *c*9,*t*11,*c*15-18:3
s	Segundo

SAS	Sistema de análisis estadístico
SCD	Stearoyl-CoA desaturasa
SD	Desviación estándar
SEM	Error estándar de la media
SEUROP-CS	Escala conformación de la canal
SEUROP-FC	Escala cobertura de grasa de la canal
SG	Semilla de Girasol (10% MS)
SJ	Aceite de Soja
SL	Semilla de Lino (10% MS)
SSJ	Semilla de Soja (19% MS)
t	Toneladas métricas
t	Configuración *trans*
*t*AG	Ácidos Grasos *trans*
*t*AGMI	Ácidos Grasos *trans* Monoinsaturados
*t*AGPI	Ácidos Grasos *trans* Poliinsaturados
TG	Triglicéridos
TLC	Cromatografía en capa fina
TPA	Análisis del perfil de textura
TVA	Ácido *trans* vaccénico, *t*11-18:1
UE	Unión Europea
UK	Reino Unido
UV	Ultravioleta
UV/VIS	Región ultravioleta-visible
V	Volumen
WB	Warner Bratzler
WHO	Organización Mundial de la Salud (World Health Organization)

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ÍNDICE GENERAL

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN GENERAL 1
1.1. EL SECTOR DE GANADO VACUNO 1
1.1.1. Censo, explotaciones y cebaderos 1
1.1.2. Producción y comercialización de carne 3
1.1.3. Carne certificada bajo la IGP *Ternera Gallega* 5
1.2. SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE CARNE DE VACUNO EN GALICIA 6
1.2.1. La raza Rubia Gallega 7
1.2.2. Sistemas Tradicionales de Producción de Carne 8
1.2.3. Período de pastoreo en los sistemas de producción de carne 10
1.2.4. Alimentación invernal a vacas madre en sistemas de pastoreo 12
1.2.5. Suplementación a los terneros durante el período de pastoreo 12
1.2.6. Período de acabado en cebadero 13
1.3. PRODUCCIÓN DE CARNE DE VACUNO DE CALIDAD 14
1.3.1. Atributos de calidad de la canal. 15
1.3.1.1. Conformación 17
1.3.1.2. Engrasamiento 17
1.3.2. Atributos de calidad organoléptica de la carne 19
1.3.2.1. pH 20
1.3.2.2. Color 21
1.3.2.3. Capacidad de retención del agua 23
1.3.2.4. Textura 24
1.3.3. Calidad Certificada 27
1.4. CALIDAD LIPÍDICA DE LA CARNE Y SALUD HUMANA 29
1.4.1. Ingesta de carne y aporte graso 33
1.4.2. La composición en ácidos grasos de la carne 35
1.5. ESTRATEGIAS DE ALIMENTACIÓN ANIMAL PARA MEJORAR EL PERFIL LIPÍDICO DE LA CARNE DE RUMIANTES 45
1.5.1. Metabolismo ruminal de lípidos 45
1.5.2. Dietas basadas en pastoreo o en forrajes 47
1.5.3. Suplementación con oleaginosas 47

2. OBJETIVOS 53

3. METODOLOGÍA GENERAL 57
3.1. DISEÑO EXPERIMENTAL Y MANEJO ANIMAL 57
3.2. DIETAS EXPERIMENTALES 58
3.2.1. Material Vegetal 58
3.2.1.1. Pasto Fresco 58
3.2.1.2. Heno 60
3.2.2. Piensos concentrados 61

3.3. MEDIDAS DE CONTROL ANIMAL Y DE LOS ALIMENTOS OFERTADOS A LOS TERNEROS 62
3.3.1. Control Animal 62
3.3.2. Control de Alimentos 63
3.3.2.1. Consumo de hierba fresca 63
3.3.2.2. Consumo de concentrados y heno 63
3.4. DETERMINACIONES DEL VALOR NUTRITIIVO DE LOS ALIMENTOS OFERTADOS A LOS TERNEROS 64
3.4.1. Determinación materia seca y pretratamiento de las muestras de alimentos 64
3.4.2. Determinación de la composición química y el valor nutricional de los alimentos 64
3.4.3. Determinación del perfil lipídico de los alimentos 65
3.4.3.1. Pretratamiento de las muestras de alimento 65
3.4.3.2. Extracción y derivatización de los lípidos en los alimentos 65
3.4.3.2.1. Extracción y derivatización de lípidos en las muestras de alimento del ensayo del Capítulo I 65
3.4.3.2.2. Extracción y derivatización de lípidos en las muestras de alimento de los ensayos de los Capítulos II, III y IV 65
3.4.3.3. Análisis cromatográfico de los ácidos grasos en los alimentos 66
3.5. SACRIFICIO, CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL Y TOMA DE MUESTRAS 67
3.5.1. Sacrificio y determinación de las características de calidad de la canal 67
3.5.2. Muestreo del *longissimus thoracis* 67
3.6. DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD ORGANOLÉPTICA EN CARNE: ANÁLISIS FISICOQUÍMICO, DE TEXTURA Y SENSORIAL 68
3.6.1. Determinaciones fisicoquímicas en el *longissimus thoracis* 68
3.6.1.1. Determinación del pH 68
3.6.1.2. Determinación de la composición química 69
3.6.1.3. Determinación del color 69
3.6.1.3.1. Medida instrumental del color: sistema CIELAB 69
3.6.1.3.2. Contenido en pigmentos hemínicos 70
3.6.1.4. Determinación de la capacidad de retención de agua 70
3.6.1.4.1. Pérdidas de agua por presión 70
3.6.1.4.2. Pérdidas de agua por goteo 71
3.6.1.4.3. Pérdidas de agua por cocción 71
3.6.2. Análisis instrumental de textura 71
3.6.2.1. Test fuerza de corte Warner-Bratzler 72
3.6.2.2. Análisis del perfil de textura 72
3.6.3. Análisis sensorial 73
3.7. DETERMINACIÓN DE LA CALIDAD LIPÍDICA DE LA CARNE: ANÁLISIS DE LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS 73
3.7.1. Extracción de lípidos en los tejidos animales 74
3.7.1.1. Extracción de lípidos en el tejido muscular y la grasa subcutánea de las muestras de los Capítulos I y II 74
3.7.1.2. Extracción de lípidos en el tejido muscular de las muestras 75

de los Capítulos III y IV
3.7.2. Derivatización de ácidos grasos procedentes de tejidos animales 76
3.7.2.1. Metilación de ácidos grasos en el tejido muscular y grasa subcutánea de las muestras de los Capítulos I y II 76
3.7.2.2. Metilación de los ácidos grasos en el tejido muscular de las muestras de los Capítulos III y IV 77
3.7.2.2.1. Metilación ácida de los ácidos grasos en el tejido muscular de las muestras de los Capítulos III y IV 77
3.7.2.2.2. Metilación básica de los ácidos grasos en el tejido muscular de las muestras de los Capítulos III y IV 78
3.7.3. Purificación de los ácidos grasos 78
3.7.4. Análisis cromatográfico de los ácidos grasos en los tejidos animales 79
3.7.4.1. Análisis cromatográfico de ácidos grasos en el tejido muscular y la grasa subcutánea de las muestras de los Capítulos I y II 79
3.7.4.2. Análisis cromatográfico de ácidos grasos en el tejido muscular de las muestras de los Capítulos III y IV 80
3.7.4.2.1. Análisis cromatográfico de ácidos grasos e isómeros *trans*-18:1 en el tejido muscular de las muestras de los Capítulos III y IV 80
3.7.4.2.2. Análisis cromatográfico de los isómeros del ácido linoleico conjugado en el tejido muscular de las muestras de los Capítulos III y IV 81
3.7.5. Identificación y cuantificación de los ácidos grasos 81
3.8. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS 83

4. CAPÍTULO I
RESPUESTA ANIMAL A LA SUPLEMENTACIÓN CON ACEITES EN LA DIETA DE TERNERAS DE LA RAZA RUBIA GALLEGA EN TÉRMINOS DE PRODUCCIÓN, VARIACIÓN DEL PERFIL LIPÍDICO Y CARACTERÍSTICAS DE LA CALIDAD DE LA CANAL 89
4.1. INTRODUCCIÓN 89
4.2. MATERIAL Y MÉTODOS 91
4.2.1. Diseño experimental y manejo animal 91
4.2.2. Aceites y concentrados 92
4.2.3. Análisis de alimentos 93
4.2.4. Sacrificio y toma de muestra 93
4.2.5. Análisis fisicoquímico y sensorial del *longissimus thoracis* 94
4.2.5.1. pH, color, mioglobina y composición química 94
4.2.5.2. Capacidad de Retención de Agua 94
4.2.5.3. Análisis de Textura: Warner-Bratzler y Perfil de Textura 94
4.2.5.4. Análisis Sensorial 94
4.2.6. Análisis de ácidos grasos: *longissimus thoracis* y grasa subcutánea 95
4.2.6.1. Extracción lipídica y derivatización 95
4.2.6.2. Condiciones cromatográficas 95
4.2.7. Análisis estadístico 96
4.3. RESULTADOS 97

4.3.1. Composición de los alimentos 97
4.3.2. Características de producción animal y calidad de la canal 98
4.3.3. Características fisicoquímicas y atributos sensoriales del *longissimus thoracis* 98
4.3.4. Perfil de ácidos grasos: *longissimus thoracis* y grasa subcutánea 101
4.3.4.1. Ácidos grasos poliinsaturados 101
4.3.4.2. Relación *n-6/n-3* 102
4.3.4.3. Ácido linoleico conjugado 102
4.3.4.4. Ácidos grasos *trans* monoinsaturados 103
4.3.4.5. Ácidos grasos *cis* monoinsaturados 103
4.3.4.6. Ácidos grasos saturados y de cadena ramificada 105
4.3.4.7. Relación AGPI/AGS 105
4.4. DISCUSIÓN 105
4.4.1. Características de producción animal y calidad de la canal 105
4.4.2. Calidad organoléptica de la carne 105
4.4.3. Calidad lipídica del *longissimus thoracis* y la grasa subcutánea 107
4.4.3.1. Ácidos grasos poliinsaturados 107
4.4.3.2. Relación *n-6/n-3* 108
4.4.3.3. Ácido linoleico conjugado 109
4.4.3.4. Ácidos grasos *trans* monoinsaturados 109
4.4.3.5. Ácidos grasos *cis* monoinsaturados 111
4.4.3.6. Ácidos grasos saturados y de cadena ramificada 111
4.4.3.7. Relación AGPI/AGS 112
4.5. CONCLUSIONES 113

5. CAPÍTULO II
EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE SEMILLAS OLEAGINOSAS EN LA DIETA DE ACABADO DE TERNERAS DE RAZA RUBIA GALLEGA SOBRE EL PERFIL LIPÍDICO DE SU CARNE Y LAS CARACTERÍSTICAS DE PRODUCCIÓN ANIMAL, CALIDAD DE LA CANAL Y CALIDAD ORGANOLÉPTICA DE LA CARNE 119
5.1. INTRODUCCIÓN 119
5.2. MATERIAL Y MÉTODOS 121
5.2.1. Diseño experimental y manejo animal 121
5.2.2. Concentrados suplementados 122
5.2.3. Análisis de alimentos 123
5.2.4. Sacrificio y toma de muestra 123
5.2.5. Análisis fisicoquímico y de textura del *longissimus thoracis* 123
5.2.6. Análisis de los ácidos grasos del *longissimus thoracis* y de la grasa subcutánea 124
5.2.6.1. Extracción lipídica y derivatización 124
5.2.6.2. Condiciones cromatográficas 124
5.2.7. Análisis estadístico 125
5.3. RESULTADOS 125
5.3.1. Composición de los alimentos 125
5.3.2. Características de producción animal y calidad de la canal 127
5.3.3. Caracterísitcas fisicoquímicas y de textura del *longissimus* 129

thoracis: calidad organoléptica
5.3.4. Composición de ácidos grasos del *longissimus thoracis* y de la grasa subcutánea: calidad lipídica 130
5.3.4.1. Contenido total de ácidos grasos 130
5.3.4.2. Ácidos grasos poliinsaturados 130
5.3.4.3. Ácido linoleico conjugado 132
5.3.4.4. Ácidos grasos monoinsaturados 132
5.3.4.5. Ácidos grasos saturados y de cadena ramificada 134
5.3.4.6. Relaciones AGPI/AGS y *n-6/n-3* 135
5.4. DISCUSIÓN 135
5.4.1. Rendimiento animal y calidad de la canal 135
5.4.2. Calidad organoléptica de la carne 136
5.4.3. Calidad lipídica del *longissimus thoracis* y de la grasa subcutánea 137
5.4.3.1. Contenido total de lípidos y ácidos grasos 137
5.4.3.2. Ácidos grasos poliinsaturados 138
5.4.3.3. Ácido linoleico conjugado 140
5.4.3.4. Ácidos grasos monoinsaturados 142
5.4.3.5. Ácidos grasos saturados y de cadena ramificada 144
5.4.3.6. Índices de calidad lipídica: AGPI/AGS y *n-6/n-3* 145
5.4.3.7. Cantidades de AG depositadas en carne 146
5.4.3.8. Implicaciones 150
5.5. CONCLUSIONES 153

6. CAPÍTULO III
EFECTO DEL NIVEL DE LINAZA SUPLEMENTADO EN LA DIETA DE ACABADO DE TERNEROS MACHO Y HEMBRA DE RAZA RUBIA GALLEGA SOBRE LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS DE LA CARNE, SU CALIDAD ORGANOLÉPTICA Y LAS CARACTERÍSTICAS DE PRODUCCIÓN ANIMAL Y CALIDAD DE LA CANAL 157
6.1. INTRODUCCIÓN 157
6.2. MATERIAL Y MÉTODOS 161
6.2.1. Diseño experimental y manejo animal 161
6.2.2. Concentrados 162
6.2.3. Análisis de alimentos 162
6.2.4. Sacrificio y toma de muestra 163
6.2.5. Análisis fisicoquímico y de textura del *longissimus thoracis* 163
6.2.6. Análisis de ácidos grasos: *longissimus thoracis* 164
6.2.7. Análisis estadístico 164
6.3. RESULTADOS 165
6.3.1. Composición de los alimentos 165
6.3.2. Características de producción animal y calidad de la canal 167
6.3.3. Características fisicoquímicas y de textura del *Longissimus thoracis*: calidad organoléptica 169
6.3.4. Composición de ácidos grasos del *longissimus thoracis*: calidad lipídica 172
6.3.4.1. Contenido total de grasa y ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) 172

6.3.4.2. Ácido linoleico conjugado, ácido linolénico conjugado y dienos atípicos no conjugados del ácido linoleico 174
6.3.4.3. Ácidos grasos *trans* monoinstarurados 176
6.3.4.4. Ácidos grasos *cis* monoinstarurados 178
6.3.4.5. Ácidos grasos saturados y de cadena ramificada 178
6.3.4.6. Relaciones AGPI/AGS y *n-6*/*n-3* 180
6.4. DISCUSIÓN 180
6.4.1. Características de producción animal y calidad de la canal 180
6.4.2. Calidad organoléptica de la carne 181
6.4.3. Calidad lipídica del *longissimus thoracis* 183
6.4.3.1. Ácidos grasos poliinsaturados 183
6.4.3.2. Ácido linoleico conjugado, ácido linolénico conjugado y dienos atípicos no conjugados del ácido linoleico 187
6.4.3.3. Ácidos grasos monoinsaturados 189
6.4.3.4. Ácidos grasos saturados y de cadena ramificada 192
6.4.3.5. Índices de calidad lipídica: AGPI/AGS y *n-6/n-3* 193
6.4.3.6. Cantidades de AG depositadas en carne 195
6.4.3.7. Implicaciones 201
6.5. CONCLUSIONES 203

7. CAPÍTULO IV
EFECTO DEL CONSUMO DE PASTO EN LA FASE DE ACABADO DE TERNEROS DE RAZA RUBIA GALLEGA SUPLEMENTADOS CON PIENSO ENRIQUECIDO EN LINAZA SOBRE EL PERFIL LIPÍDICO DE SU CARNE, LAS CARACTERÍSTICAS DE PRODUCCIÓN ANIMAL, CALIDAD DE LA CANAL Y CALIDAD ORGANOLÉPTICA DE LA CARNE 207
7.1. INTRODUCCIÓN 207
7.2. MATERIAL Y MÉTODOS 211
7.2.1. Diseño experimental y manejo animal 211
7.2.2. Dietas 212
7.2.3. Análisis de alimentos 213
7.2.4. Sacrificio y toma de muestra 214
7.2.5. Análisis fisicoquímico y de textura del *longissimus thoracis* 214
7.2.6. Análisis de los ácidos grasos del *longissimus thoracis* 215
7.2.7. Análisis estadístico 215
7.3. RESULTADOS 216
7.3.1. Composición de los alimentos 216
7.3.2. Características de producción animal y calidad de la canal 218
7.3.3. Características fisicoquímicas y de textura del *longissimus thoracis*: calidad organoléptica 220
7.3.4. Composición de ácidos grasos del *longissimus thoracis*: calidad lipídica 222
7.3.4.1. Contenido total de grasa y ácidos grasos poliinsaturados 222
7.3.4.2. Ácido linoleico conjugado, ácido linolénico conjugado y dienos atípicos no conjugados del ácido linoleico 224
7.3.4.3. Ácidos grasos *trans* monoinstarurados 226

7.3.4.4. Ácidos grasos *cis* monoinstarurados 228
7.3.4.5. Ácidos grasos saturados y de cadena ramificada 229
7.3.4.6. Relaciones AGPI/AGS y *n-6/n-3* 230
7.4. DISCUSIÓN 231
7.4.1. Características de producción animal y calidad de la canal 231
7.4.2. Calidad organoléptica de la carne 232
7.4.3. Calidad lipídica del *longissimus thoracis* 237
7.4.3.1. Ácidos grasos poliinsaturados 239
7.4.3.2. Ácido linoleico conjugado, ácido linolénico conjugado y dienos atípicos no conjugados del ácido linoleico 244
7.4.3.3. Ácidos grasos *trans* monoinsaturados 248
7.4.3.4. Ácidos grasos *cis* monoinsaturados 252
7.4.3.5. Ácidos grasos saturados y de cadena ramificada 253
7.4.3.6. Índices de calidad lipídica: AGPI/AGS y *n-6/n-3* 254
7.4.3.7. Cantidades de AG depositadas en carne 256
7.4.3.8. Implicaciones 266
7.5. CONCLUSIONES 274

8. CONCLUSIONES GENERALES 279
9. BIBLIOGRAFÍA 289
10. ANEXO 337

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1. Composición media de ácidos grasos en diferentes cereales y semillas empleados en la alimentación de ganado bovino 48

Tabla 3.1. Valor nutritivo promedio de la hierba fresca ofertada en pastoreo por los terneros de raza Rubia Gallega en los diferentes ensayos 59

Tabla 3.2. Valor nutritivo promedio del heno consumido por los terneros de raza Rubia Gallega en los diferentes ensayos 60

Tabla 3.3. Composición promedio de ingredientes (%MS) que componen los concentrados suplementados a los terneros de raza Rubia Gallega en los diferentes ensayos 61

Tabla 3.4. Valor nutritivo promedio de los concentrados suministrados a los terneros de raza Rubia Gallega en los diferentes ensayos 62

Tabla 4.1. Composición nutricional promedio (g/kg MS) del concentrado y fuentes de forraje ofrecidas a terneras de raza Rubia Gallega 97

Tabla 4.2. Composición promedio de ácidos grasos (% del total de ácidos grasos) de los alimentos ofrecidos a terneras de raza Rubia Gallega 98

Tabla 4.3. Efecto del tipo de aceite suplementado en el concentrado sobre las características de producción animal y calidad de la canal de terneras de raza Rubia Gallega 99

Tabla 4.4. Efecto del tipo de aceite suplementado en el concentrado sobre las características fisicoquímicas del *longissimus thoracis* de terneras de raza Rubia Gallega 99

Tabla 4.5. Efecto del tipo de aceite suplementado en el concentrado sobre los parámetros de textura y atributos sensoriales del *longissimus thoracis* de terneras de raza Rubia Gallega 100

Tabla 4.6. Efecto del tipo de aceite suplementado en el concentrado sobre la composición de ácidos grasos poliinsaturados (% del total de ácidos grasos) del *longissimus thoracis* y la grasa subcutánea de terneras de raza Rubia Gallega 101

Tabla 4.7. Efecto del tipo de aceite suplementado en el concentrado sobre la composición de ácidos grasos monoinsaturados, saturados y de cadena ramificada (% del total de ácidos grasos) del *longissimus thoracis* y la grasa subcutánea de terneras de raza Rubia Gallega 104

Tabla 5.1. Ingredientes (% MS) de los concentrados suplementados con semillas oleaginosas ofrecidos a las terneras de raza Rubia Gallega 126

Tabla 5.2. Composición nutricional promedio (%MS) de los concentrados y fuentes de forraje ofrecidos a las terneras de raza Rubia Gallega 126

Tabla 5.3. Composición promedio de ácidos grasos (% del total de ácidos grasos) de los concentrados y fuentes de forraje ofrecidos a las terneras de raza Rubia Gallega 127

Tabla 5.4. Efecto del tipo de semilla suplementada en el concentrado sobre el rendimiento animal y calidad de la canal de terneras de raza Rubia Gallega 128

Tabla 5.5. Efecto del tipo de semilla suplementada en el concentrado sobre la calidad organoléptica del *longissimus thoracis* de terneras de raza Rubia Gallega 129

Tabla 5.6. Efecto del tipo de semilla suplementada en el concentrado sobre la composición de ácidos grasos poliinsaturados (% del total de ácidos grasos) del *longissimus thoracis* y la grasa subcutánea de terneras de raza Rubia Gallega 131

Tabla 5.7. Efecto del tipo de semilla suplementada en el concentrado sobre la composición de ácidos grasos monoinsaturados (% del total de ácidos grasos) del *longissimus thoracis* y la grasa subcutánea de terneras de raza Rubia Gallega 133

Tabla 5.8. Efecto del tipo de semilla suplementada en el concentrado sobre la composición de ácidos grasos saturados y de cadena ramificada (% del total de ácidos grasos) del *longissimus thoracis* y la grasa subcutánea de terneras de raza Rubia Gallega 134

Tabla 5.9. Efecto del tipo de semilla suplementada en el concentrado sobre el contenido de ácidos grasos específicos del *longissimus thoracis* (mg/100 g carne) y la grasa subcutánea (mg/g grasa subcutánea) de terneras de raza Rubia Gallega 147

Tabla 6.1. Ingredientes (%MS) de los concentrados suplementados con niveles crecientes de semilla extrusionada de lino (5, 10 y 15% MS) ofrecidos a los terneros de raza Rubia Gallega 165

Tabla 6.2. Composición nutricional (% MS) y perfil lipídico (% de los AG totales) promedio de las fuentes de alimento ofrecidas a los terneros de raza Rubia Gallega 166

Tabla 6.3. Efecto del nivel de linaza suplementado en el concentrado sobre las características de producción animal y calidad de la canal de terneros de raza Rubia Gallega 168

Tabla 6.4. Efecto del nivel de linaza suplementado en el concentrado sobre las características fisicoquímicas del *longissimus thoracis* y sobre el color de la grasa subcutánea de terneros de raza Rubia Gallega 170

Tabla 6.5. Efecto del nivel de linaza suplementado en el concentrado sobre los parámetros de textura del *longissimus thoracis* de terneros de raza Rubia Gallega 171

Tabla 6.6. Efecto del nivel de linaza suplementado en el concentrado sobre la composición de ácidos grasos poliinsaturados (% del total de ácidos grasos) del *longissimus thoracis* de terneros de raza Rubia Gallega 173

Tabla 6.7. Efecto del nivel de linaza suplementado en el concentrado sobre la composición de isómeros del ácido linoleico conjugado, dienos no conjugados y del ácido linolénico conjugado (% del total de ácidos grasos) del *longissimus thoracis* de terneros de raza Rubia Gallega 175

Tabla 6.8. Efecto del nivel de linaza suplementado en el concentrado sobre la composición de ácidos grasos monoinsaturados (% del total de ácidos grasos) del *longissimus thoracis* de terneros de raza Rubia Gallega 177

Tabla 6.9. Efecto del nivel de linaza suplementado en el concentrado sobre la composición de ácidos grasos saturados y de cadena ramificada (% del total de ácidos grasos) del *longissimus thoracis* de terneros de raza Rubia Gallega 179

Tabla 6.10. Efecto del nivel de linaza suplementado en el concentrado sobre el contenido de ácidos grasos en el *longissimus thoracis* (mg/100g carne) de terneros de raza Rubia Gallega 197

Tabla 7.1. Composición química (% MS) media de las fuentes de alimento suministradas a los terneros de raza Rubia Gallega en los diferentes sistemas de manejo experimental 216

Tabla 7.2. Composición promedio de ácidos grasos (% de AG totales) media de las fuentes de alimento suministradas a los terneros de raza Rubia Gallega en los diferentes sistemas de manejo experimental 217

Tabla 7.3. Efecto del tipo de acabado sobre las características de producción animal y calidad de la canal de terneros de raza Rubia Gallega 219

Tabla 7.4. Efecto del tipo de acabado sobre las características fisicoquímicas del *longissimus thoracis* de terneros de raza Rubia Gallega 221

Tabla 7.5. Efecto del tipo de acabado sobre los parámetros de textura del *longissimus thoracis* de terneros de raza Rubia Gallega 222

Tabla 7.6. Efecto del tipo de acabado sobre la composición de ácidos grasos poliinsaturados (%del total de AG) del *longissimus thoracis* de terneros de raza Rubia Gallega 223

Tabla 7.7. Efecto del tipo de acabado sobre la composición de isómeros del ácido linoleico conjugado, de dienos no conjugados y del ácido linolénico conjugado (% del total de AG) del *longissimus thoracis* de terneros de raza Rubia Gallega 225

Tabla 7.8. Efecto del tipo de acabado sobre la composición de ácidos grasos monoinsaturados del *longissimus thoracis* de terneros de raza Rubia Gallega 227

Tabla 7.9. Efecto del tipo de acabado sobre la composición de ácidos grasos saturados y de cadena ramificada del *longissimus thoracis* de terneros de raza Rubia Gallega 230

Tabla 7.10. Efecto del sistema de acabado sobre el contenido de ácidos grasos en el *longissimus thoracis* (mg/100g carne) de terneros de raza Rubia Gallega 257

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 3.1. Esquema del diseño experimental para cada uno de los ensayos realizados en la presente Tesis 57

Figura 4.1. Diagrama del diseño y duración del experimento con terneras de raza Rubia Gallega alimentadas con concentrados enriquecidos con aceite de linaza (L), girasol (G) o soja (SJ) 92

Figura 5.1. Diagrama del diseño y duración del experimento con terneras de raza Rubia Gallega alimentadas con un concentrado control (C) o enriquecido con semillas de lino (SL), girasol (SG) o soja (SSJ) 122

Figura 6.1. Diagrama del diseño y duración del experimento con terneros de raza Rubia Gallega (macho y hembra) alimentados con un concentrado enriquecido con linaza a diferentes niveles sobre MS: 5 (L5), 10 (L10) y 15% (L15) 161

Figura 7.1. Diagrama del diseño y duración del experimento con terneros de raza Rubia Gallega manejados bajo un sistema extensivo (P) o en dos modalidades del semiextensivo mediante la suplementación de un concentrado enriquecido en linaza (10%MS) durante la fase de acabado en la propia parcela de pastoreo (manteniendo lactancia materna) (LP) o en el establo (LC) 212

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

INTRODUCCIÓN GENERAL

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1. EL SECTOR DE GANADO VACUNO

1.1.1. Censo, explotaciones y cebaderos

El ganado vacuno español actualmente censado se encuentra estabilizado alrededor de los 6,6 millones de cabezas, observándose cierta recuperación en la última década, siendo la comunidad con mayor número de animales Castilla y León (21,3%), seguido de Galicia (13,9%) y Extremadura (13,6%), por delante de Cataluña (10,8%) (MAPA, 2020a). A nivel de la UE, España está posicionada en el cuarto puesto en cuanto a censo de ganado vacuno tras Francia (21%), Alemania (13,4%) y Reino Unido (10,9%).

Galicia representa el 14% del censo de ganado bovino nacional con 933 150 cabezas de animales, siendo 546 634 el número de vacas en Galicia, de las cuáles se corresponden el 40% con vacas de aptitud cárnica (219 263 nodrizas) y el 60% con vacas de aptitud láctea (327 371) (MAPA, 2020a).

La distribución provincial del censo bovino en Galicia es heterogénea, quedando A Coruña y Lugo como provincias netamente ganaderas, y siendo A Coruña la que cuenta con una mayor proporción de ganado destinado a la producción de leche, mientras que casi la mitad del vacuno de carne se encuentra ubicado en la provincia de Lugo (55,36%). En las de Ourense y Pontevedra la cabaña de bovino es sensiblemente inferior. De igual modo que a nivel nacional, en Galicia se ha experimentado en las últimas décadas un aumento paulatino en el censo de efectivos de vacuno de aptitud cárnica.

Con el desarrollo de la economía y de la agricultura en España el modelo productivo ha evolucionado, mejorando la base animal y distinguiéndose una actividad dual para el sector del ganado vacuno de carne, diferenciándose dos subsectores; el de la vaca nodriza (aquellas de razas de aptitud cárnica o un cruce de éstas) y el de vacuno de cebo, con localizaciones y sistemas de producción claramente diferenciados entre sí. La cría de vacas nodrizas en España garantiza el abastecimiento al sector del cebo de terneros, en el que predominan los sistemas intensivos altamente especializados según el tipo de animal producido (hembras, machos, mamón, pastoreo…), optimizándose los

medios de producción e instalaciones, atendiendo a las demandas del mercado nacional y exterior.

El censo de vacas nodrizas en España representa el 34,3% del total de vacuno (6 706 484), siendo el segundo tipo de animal más abundante, después de los animales jóvenes (<2años) que suponen un 50% del total: incluyendo a animales de <1 año (37%) y a animales entre 1-2 años (13%). Específicamente, el censo de vacas nodrizas muestra una tendencia al alza en los últimos 5 años, ascendiendo a casi 2,3 millones en el mes de enero del 2020 y manteniendo una distribución tradicional con el 76% del censo localizado en sólo 5 CCAA, comprendiendo la Cornisa Cantábrica y el suroeste peninsular, mayoritariamente (MAPA, 2020a). Concretamente, la comunidad gallega ocupa el cuarto puesto en cuanto al censo de vacas nodrizas (10% del total nacional), por detrás de Castilla y León (26%), Extremadura (23%) y Andalucía (11%); en cuanto a la distribución provincial para el censo de vacas nodrizas, Lugo es la quinta provincia, después de Cáceres, Salamanca, Badajoz y Asturias (MAPA, 2020a).

Destaca, además, la diversidad genética, con numerosas razas autóctonas perfectamente adaptadas a las condiciones climáticas y edafológicas; siendo predominantes en algunas regiones, como las razas Asturiana de los Valles y Asturiana de la Montaña en Asturias y la Pirenaica en Navarra, o con elevada presencia como la raza Rubia Gallega en Galicia y la raza de Lidia en comunidades como Valencia, Navarra, Murcia o Madrid. El tamaño medio de las explotaciones sigue siendo reducido, con más del 70% de las granjas teniendo menos de 25 vacas, destacando el elevado número de granjas en la zona productiva de la Cornisa y su bajo tamaño medio (8,8 nodrizas/explotación) lo que refleja la elevada atomización del sector en el noroeste de la península (MAPA, 2020a).

El número de explotaciones de bovino en España (114 763), ha ido decreciendo (14%) desde el año 2007 (184 367), siendo el descenso más acusado en las de producción mixta (71%) y en las de precebo (87%), moderado para las de cebo (16,2%) y más estabilizado para las de producción cárnica (1%), observándose un aumento en el número de explotaciones de recría de novillas (156%) (MAPA 2020a). Esta variación en el número de explotaciones, inversa al número de animales censados, indica una reconversión en las explotaciones de aptitud cárnica y concentración de la producción en núcleos de mayor tamaño (MAPA, 2020a). Galicia es la CCAA dónde se ubican el mayor

número de explotaciones de bovino, con un 27,5% del total, siendo también mayoría las que producen carne (22 962), seguidas de las de cebo (8 594) y de las de leche (7 007).

De los 20 357 cebaderos registrados en España y con 1 437 139 animales censados en ellos, el 38,7% se sitúan en Galicia, el 16,6% en Castilla y León, el 12,0% en Cataluña y el 10,5% en Aragón; sin embargo, el censo de los animales que se encuentran en cebaderos no sigue este patrón geográfico, sino que es en Cataluña donde se concentran el 27,4% del total de los animales, seguida por Aragón con el 18,3%, Castilla y León con el 17,7% y Castilla-La Mancha con el 16,5%. (MAPA, 2020a). Teniendo en cuenta los datos por provincias, se observa una gran concentración de cebaderos en ciertas regiones, estando registrados en Pontevedra y en A Coruña el 22,9 y el 9,6% del total nacional de cebaderos, y, sin embargo, abarcan en ambos casos sólo el 0,7% del censo nacional de animales cebados (MAPA, 2020a).

Respecto al tamaño de los cebaderos en España, también existen notables diferencias entre regiones, teniendo en cuenta un tamaño medio de aproximadamente 104 animales por cebadero, encontramos en el umbral inferior (entre 4 y 17 animales por cebadero de media) a las provincias de Pontevedra, Coruña, Vizcaya o Tenerife. Por el contrario, se encuentran en el umbral superior (entre 225 y 259 animales por cebadero), las provincias de Toledo, La Rioja, Cuenca y Murcia. Comparando estas cifras con las del estudio anterior, se constata una disminución del 17% en el número de cebaderos y un incremento del 40% en el censo (MAPA, 2020a).

En cuanto al género, los datos globales indican que el 31% de los animales cebados fueron hembras y el 69% machos, aunque existen diferencias en este aspecto entre CCAA. Los datos referentes a Galicia muestran que el 92,5% de los cebaderos gallegos activos ceban menos de 20 animales anuales, siendo el 60% machos y el 40% hembras (MAPA, 2020a). En Galicia, en el cebo de los machos tiene mayor presencia la raza frisona frente a la autóctona, la Rubia Gallega (RG) (20 vs. 5%, respectivamente), y en el caso del cebo de las hembras, el 92% fueron mestizas, el 4% RG y el 1,7% frisona (MAPA, 2020a).

1.1.2. Producción y comercialización de carne

La producción de carne de vacuno es una de las principales actividades ganaderas de la UE, con un valor estimado de unos 32 000 millones de € en el año 2019 y casi 8

millones de toneladas de carne (MAPA, 2020a). España es el cuarto país de la UE en cuanto a su aportación al valor económico del sector, con 3 300 millones de € (9% del total), sólo por detrás de Francia, Reino Unido y Alemania (MAPA, 2020a); mostrando una producción de carne de vacuno en España que tiende claramente al alza desde el 2014; con un total de 2,5 millones de animales sacrificados y más de 650 000 toneladas de carne de bovino producidas en el año 2018, con aumentos respectivos del 1,4 y 4,0% en el año 2019 (MAPA, 2020a).

El sector vacuno de carne representa el 6,3% de la producción final agraria de España. Dentro de las producciones ganaderas, es el tercero en importancia económica en nuestro país, por detrás del sector porcino y del sector avícola, representando aproximadamente el 17,5% de la producción final ganadera en 2019.

En cuanto a la edad de los animales sacrificados en España, el 38,7% fueron animales jóvenes (<1 año) debido a las preferencias de nuestro mercado, seguidos por los machos mayores de 1 año con el 26,4% del total; incrementándose sobre todo el sacrificio de novillas en un 22,3% respecto al 2018 (MAPA, 2019).

Por CCAA, Cataluña (21,5%), Castilla y León (16,4%) y Galicia (13,9%) concentran el 52% de la producción de carne de vacuno de toda España. El sector de ganado bovino de carne en Galicia tiene un peso importante con un 23% sobre la producción ganadera de la comunidad (427 148 t), ocupando el segundo lugar por detrás del sector avícola, que supone más de la mitad de la producción ganadera con 224 085 toneladas de carne de ave producida (AEA, 2019). De manera paralela a lo comentado para el ámbito nacional, la producción de carne de bovino en Galicia alcanzó su cifra más alta el pasado año 2019, con un incremento del 11% desde el año 2009 (85 800 t), después del brusco descenso sufrido por efecto de la crisis económica.

Galicia produjo en el año 2019, 96 700 toneladas de carne de bovino, un 1,4% más respecto al año 2018. Concretamente, en el año 2019 se sacrificaron en Galicia 419 974 cabezas de bovino, el 17% del total de las sacrificadas a nivel nacional repartidas en las diferentes tipologías (ternera, añojo, vacuno menor, bueyes/cebones y vacuno mayor); correspondiendo el 58% al tipo ternero (244 368 cabezas) y suponiendo el 25% de los terneros sacrificados en España (AEA, 2019). Del 55 al 60% de los terneros producidos en Galicia se ceban en la propia comunidad y el resto son cebados en otras comunidades de España, lo que supone unas pérdidas de alrededor de 17 000 t de carne que no son

producidas en nuestra CCAA, ya que lo que se vende es ganado para carne en lugar de carne o productos elaborados, con el consiguiente efecto negativo sobre el proceso de generación de valor añadido (AEA, 2019).

1.1.3. Carne certificada bajo la IGP *Ternera Gallega*

La producción de carne amparada en denominaciones de calidad y en certificaciones ecológicas da un valor añadido al producto y responden a las nuevas demandas del consumidor.

Según dos datos del MAPA (2020a) las indicaciones geográficas protegidas (IGP) de raza bovina reconocidas en el año 2019 en España son once: Carne de Ávila; Carne de Cantabria; Carne de Morucha de Salamanca; Carne de la Sierra de Guadarrama; Ternera de Asturias; Ternera de Extremadura; Ternera Gallega; Ternera de Navarra; Carne vacuno del País Vasco; Ternera de Aliste y Ternera de los Pirineos Catalanes. El número total de explotaciones de cría de las citadas IGP ascendió a 16 746 y con 39 407 toneladas de carne comercializada durante el año 2019. Galicia mantiene el liderazgo en la producción de carne de bovino de calidad amparada por un sello de garantía, representado *Ternera Gallega*, dentro de las 11 IGP de carne de vacuno existentes en España, el 53,9% del conjunto nacional total, seguida de la IGP *Ternera Asturiana* con el 17,3%.

El informe anual de *Ternera Gallega* para el año 2019 (Ternera Gallega, 2019), indica que esta IGP creció en el campo y mantuvo sus cifras en el mercado, el número de explotaciones ganaderas activas (8 298) y el número de terneros registrados (135 263) crecieron significativamente, con valores próximos al 2%. Se identificaron 2 395 terneros más y se inscribieron 99 explotaciones de vacuno de carne nuevas en la IGP, en un entorno rural que a pesar de que va a menos, en el caso de la producción de carne de vacuno se sigue manteniendo. El número de canales certificadas (96 104) y las toneladas de carne comercializadas bajo el amparo de la IGP (21 235) fueron ligeramente inferiores a las del año 2018, con diferencias insignificantes de apenas un 0,5 %. *Ternera Gallega* mantuvo sus cifras en el mercado, a pesar de la presión a diferentes niveles que sufre el consumo de carne, lo que demuestra la confianza de los consumidores y la apuesta por productos de calidad certificada. A nivel territorial, Lugo continúa siendo la provincia con mayor peso, tanto a nivel productivo (57%) como industrial (46%). En el campo predominan las explotaciones tradicionales con vacas madres, principalmente de raza

Rubia Gallega y cruzadas; y a nivel comercial las categorías principales son *Ternera Gallega Suprema* (52%) y *Ternera Gallega* (48%).

A nivel socioeconómico, se señala en dicho informe que el 2019 fue un año estable, con precios moderados en origen que fluctuaron entre 4,30 y 5 € / kg canal, dependiendo del tipo de animales y de su categoría (*Ternera Gallega* o *Ternera Gallega Suprema*) (Ternera Gallega, 2019). La IGP *Ternera Gallega* cumple 30 años, logrando situarse en todos los mercados en la gama de alta calidad y mostrando un crecimiento sólido, superando las sucesivas crisis del sector, siendo además certificación de calidad de referencia en el sector de la carne de vacuno en España, pues significa el 55 % de la carne comercializada con IGP, y con un valor económico en primera venta de alrededor de 123 millones de euros (Ternera Gallega, 2019).

1.2. SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE CARNE DE VACUNO EN GALICIA

La producción ganadera en Galicia es una actividad estratégica, no sólo por su valor económico, sino por la contribución que realiza la ocupación de las zonas rurales, la vertebración del territorio y el mantenimiento del paisaje.

Los beneficios ambientales que produce la explotación de la ganadería sobre el territorio son muy elevados, especialmente en Galicia por el uso racional de los recursos naturales, contribuyendo a la conservación del medio, al fomento de sistemas silvopastorales, a la preservación de las razas autóctonas, así como en la prevención de los incendios forestales al contribuir en la disminución de la biomasa vegetal de los montes. Además, la producción ganadera genera beneficios socioeconómicos en las áreas dónde se explotan, al fijar población en zonas desfavorecidas y con importantes condicionantes orográficos, permitiendo de esta forma el desarrollo de las zonas rurales con menos oportunidades productivas y laborales.

El sector agrario gallego tradicional está conformado mayoritariamente por explotaciones familiares y se caracteriza por un elevado nivel de dispersión. Galicia cuenta con una ganadería distinguida por su elevada calidad, resultante de una alimentación diferenciada, la potenciación de las razas autóctonas y el mantenimiento de exigentes protocolos de sanidad animal.

La producción de carne de vacuno en Galicia se basada fundamentalmente a partir de los efectivos lecheros y de aquellos de raza Rubia Gallega pertenecientes a rebaños de

vacas nodrizas (en pureza o cruces con la Holstein Friesian), completándose con la que generan las vacas mestizas utilizadas para esta producción a través del cruzamiento industrial.

Los terneros procedentes de rebaños lecheros se explotan normalmente, en granjas de cebo sin ninguna vinculación con el territorio. Los animales frecuentemente cruzados se engordan con piensos hasta su sacrificio con aproximadamente 400 kg de peso vivo. En Galicia, se producen unos 560 000 terneros, de los cuáles del 55 al 60 % se ceban en Galicia y el resto sale para otras comunidades del resto de España.

La producción del ternero tradicional se realiza en explotaciones muy ligadas al territorio, con vacas nodrizas, principalmente, de raza Rubia Gallega. Los terneros se sacrifican sin destetar, son alimentados con la leche de su madre complementada con forrajes y cereales, y salen de la explotación acabados, con destino normalmente para la carnicería y alcanzando un buen precio en el mercado por su reconocida calidad.

1.2.1. La raza Rubia Gallega

La raza Rubia Gallega se caracteriza por presentar gran rusticidad y capacidad de adaptación a medios adversos, ha sido seleccionada genéticamente para la producción de carne, siendo una de las razas autóctonas españolas con el censo más elevado. Actualmente se sitúa alrededor de 40 mil cabezas, de las cuales más del 60 % corresponde a reproductores. El número de explotaciones asociadas al Libro Genealógico se sitúa alrededor de las 1 804 lo que da lugar a una densidad ganadera de más de 18 cabezas/explotación.

Como raza paternal, se utiliza en el cruce industrial tanto con razas de aptitud lechera como con otras razas autóctonas de producción cárnica (Avileña, Limousine, Retinta, etc), aportando en estos cruzamientos unas características productivas de gran valor económico, proporcionando terneros con muy buena ganancia media diaria e índices de conversión, así como elevados rendimientos de la canal.

Esta raza presenta un índice de fertilidad entorno al 67%, el índice de prolificidad, considerado como la relación entre el número total de terneros por madre, es de 5, cifra superior a la media de las razas cárnicas. Es de destacar la facilidad de parto que supera el 85 % de vacas que paren solas. La producción lechera media de las madres en 3ª lactación es de 2 239 kg de leche en 296 días, con 4,4 % de grasa, lo que nos proporciona una

media de 7,5 kg /día, cifra muy considerable para una hembra bovina de aptitud cárnica (ACRUGA, 2020); siendo esta característica una de las más diferenciadoras frente a otras razas. Es precisamente esa producción láctea de las madres y el amamantamiento prolongado del ternero, lo que le transfiere a la carne de estos animales ciertos atributos diferenciadores. La carne de ternera RG presenta un color claro, típico de aquella procedente de terneros recién destetados o alimentados con leche. La terneza y la jugosidad, así como el aroma y el sabor, son atributos muy característicos y reconocidos en todo el territorio español. Posee un color rosa claro, con grasa de color blanco nacarado y distribuida homogéneamente, músculo de grano fino, de consistencia firme y ligeramente húmedo. Una vez madurada, es una carne tierna y con un perfil de ácidos grasos favorables desde el punto de vista dietético como indican las investigaciones realizadas anteriormente con la raza RG en el CIAM, en las que se estudiaron los efectos de la extensificación (Varela *et al*, 2004; Moreno, 2004; Moreno *et al*., 2007b) y el destete (Moreno *et al*., 2006; Bispo, 2010; Bispo *et al*., 2010a,b; 2011) sobre sus cualidades organolépticas y de calidad de su grasa intramuscular.

La principal producción es un ternero joven (6-11 meses) que se cría mediante lactancia natural, con destete a los 7-8 meses de edad y ganancias medias diarias en lactación de 1,2 kg/día e índices de conversión menores de 5, siendo sacrificados con un peso vivo entre 300-400 kg, mostrando un rendimiento canal entre 55-60% y comercializados bajo la categoría ternera (<1año).

1.2.2. Sistemas tradicionales de producción de carne

El sistema tradicional de producción de carne de terneros de la raza RG con vacas nodrizas se ha realizado tradicionalmente en Galicia de forma intensiva o extensiva. En el primer sistema, descrito por Monserrat en 1990, las vacas salen en pastoreo y los terneros se crían permanentemente estabulados, alimentándose con la leche que reciben de sus madres (amamantamiento dos veces al día hasta el destete) y de pienso concentrado y heno. El destete de los terneros se realiza a los 6-8 meses de edad. El segundo sistema se basa en el aprovechamiento en pastoreo del monte vecinal con vacas no seleccionadas, criándose los terneros hasta los 6 ó 7 meses para ser cebados posteriormente en otro lugar.

Como alternativa a estos sistemas tradicionales, se han desarrollado en el CIAM desde los años 70, los sistemas semiextensivos. De esta forma, se reduce a los últimos

meses de vida del ternero el período de acabado con piensos, necesario para mejorar la deposición de grasa en la canal de animales de raza RG, de maduración tardía (Brea *et al.*, 1998), mejorando sus características de calidad de canal y carne. Con el sistema semiextensivo, los terneros permanecen en el campo con sus madres aprovechando la hierba en pastoreo rotacional, de forma que el amamantamiento es libre hasta su destete a los 7-8 meses, siendo entonces trasladados a cebaderos donde son alimentados con concentrado y heno (leche, dependiendo del destete).

Los estudios realizados con este sistema alternativo al intensivo, incluyendo un período de pastoreo en el sistema de producción, confirman la producción de terneros con unas características similares al tradicional en cuanto a peso al sacrificio, canal y calidad de carne (Brea *et al.*, 1996; Carballo, 2003; Varela *et al.*, 2004; Moreno, 2004). Sin embargo, en los sistemas estudiados en el CIAM para producción de carne de terneros manejados en pastoreo, los problemas de alimentación más destacables derivan de la adecuación entre las necesidades nutritivas del rebaño y la disponibilidad de hierba, estando, estas últimas, condicionadas por la climatología de cada zona. Cualquier sistema de pastoreo debe permitir al animal la máxima eficiencia en la utilización del pasto, suministrando los nutrientes necesarios a lo largo de toda la estación y, al mismo tiempo, debe mantener la capacidad productiva de la pradera y evitar daños a la misma (Zea y Díaz, 1990).

Un aspecto fundamental para la adecuación entre las necesidades del rebaño y la disponibilidad de hierba es el agrupamiento de los partos, ya que determina en qué fase productiva se encuentra el rebaño durante los períodos de abundancia o escasez de hierba. Por tanto, es clave realizar una planificación de las parideras, adecuando la mayor disponibilidad de pastos con la mayor demanda del rebaño. En el CIAM se han ido estudiando desde 1986 las claves en el manejo de los animales para la producción del ternero tradicional en pastoreo. Los principales problemas que se plantean en la alimentación invernal y estival varían en función del sistema de agrupamiento de partos, por tanto, es necesario tenerlos en cuenta, siendo dos de los más empleados:

a) *Sistema de partos de otoño*: Al finalizar el otoño e iniciarse el invierno las necesidades del rebaño son máximas, pero los terneros disponen de hierba abundante hasta los 7-9 meses de edad. El período de la sequía del verano no

constituye un problema en la alimentación de la vaca con este tipo de sistema de partos ya que al estar el ternero destetado sus necesidades son mínimas.

b) *Sistema de partos de fin de invierno*: La disponibilidad de pasto coincide con el inicio de las necesidades máximas del rebaño al segundo mes postparto. En algunas zonas de Galicia se plantean ciertos problemas en estos sistemas cuando el ternero tiene aproximadamente 6 meses de vida, ya que coincide con el período crítico de la sequía de verano por lo que es necesario la suplementación.

Conviene considerar para un adecuado manejo, los dos momentos críticos de escasez de hierba, el verano para los animales del sistema de partos de fin de invierno, y el invierno para el de partos de otoño.

1.2.3. Período de pastoreo en los sistemas de producción de carne

En Galicia la producción de hierba es máxima en primavera, existe un período de sequía estival de aproximadamente dos meses, un rebrote otoñal muy variable según el año y una parada invernal de aproximadamente tres meses (Piñeiro, 1988). En este sentido, para la adecuación entre las necesidades y disponibilidades de pastos el sistema de agrupamiento de partos en otoño es el más común, ya que, cuando se acerca el invierno, se inician las máximas necesidades del rebaño, pero los terneros tienen hierba abundante hasta los 7-9 meses de edad. El período de la sequía del verano no constituye un problema en la alimentación de la vaca con este tipo de sistema de partos ya que al estar el ternero destetado sus necesidades son mínimas. Para cubrir la escasez de alimento en invierno y/o verano, es imprescindible conservar los excedentes de hierba producida en primavera mediante el ensilado o henificado.

La eficiencia productiva de los sistemas basados en pastoreo depende de factores como la carga ganadera, la producción y calidad del pasto y el consumo de hierba. La carga ganadera es el determinante más importante de la producción animal por unidad de superficie, siendo considerada como el número de animales de una clase específica que permanecen sobre una superficie durante un período de tiempo concreto (Holmes, 1989). Dado que las necesidades de los animales varían con el peso, la determinación más exacta

de la carga se hace al fijarla en función del peso vivo por hectárea y aún mejor del peso metabólico (= peso vivo ^{0,75}), lo que permite comparar animales de diferentes tamaños.

Osoro (1986) había señalado una carga ganadera de 1,1-1,2 vacas/ha como óptima para la producción de carne en la zona de montaña de Galicia, pero la carga ganadera ha de fijarse, además de tener en cuenta el tipo de animal, en función de la época del año y de la productividad del pasto. Así, Zea y Díaz (1990) en la raza Rubia Gallega observaron una fuerte reducción en las ganancias de peso (de 806 a 612 g/día), con cargas menores de 2 000 kg de peso vivo por hectárea, al pasar de 7,5 a 12,5 terneros por hectárea en primavera, cuando éstos eran de sólo 125 kg. Esto es debido a que los terneros jóvenes son más sensibles a la merma en la calidad del pasto, el incremento de la carga ganadera ocasiona una disminución del pastoreo selectivo y por tanto de la calidad de la dieta. En otoño, al disminuir la cantidad de hierba disponible y su ritmo de crecimiento, se requiere realizar una reducción de la carga ganadera para obtener ganancias aceptables.

La digestibilidad de la hierba es el factor que más influye en el valor nutritivo, en la ingestión y en la producción animal en condiciones de pastoreo (Munro y Walters, 1986), estando afectada de manera extrínseca por el manejo del pasto y por la climatología y la fertilización, mientras que el estado de madurez de la hierba y su contenido en materia muerta son los principales factores intrínsecos de la digestibilidad de la hierba.

Una característica importante que puede afectar a la acumulación de pasto es la utilización del pastoreo, continúo o rotacional, ya que en el primero la hierba crece y se consume al mismo tiempo, mientras que en el rotacional ambos procesos están separados. Concretamente, Vartha *et al.* (1977), con novillos, no observaron diferencias en la producción de pasto en primavera y verano, pero en otoño la producción fue mayor con el sistema rotacional y, de manera similar en Galicia, Brea (1993), con rebaños de raza RG empleando vacas madres y sus terneros a cargas elevadas, registraron mayores producciones por unidad de superficie en el pastoreo rotacional, aunque en este sistema el pasto sufre un mayor deterioro debido a una mayor invasión de especies espontáneas.

Una mejora del pastoreo rotacional es el pastoreo en avance, en él se permite a los terneros pastar por delante de sus madres, realizando un consumo selectivo de la hierba, de forma que son capaces de obtener una dieta de mayor calidad eliminando la competencia entre ambos.

1.2.4. Alimentación invernal a las vacas madre en sistemas de pastoreo

La alimentación invernal en la producción de carne con vacas nodrizas representa en Galicia un porcentaje muy elevado del total de gastos de alimentación; existe además la desventaja de la sequía del verano, que interrumpe durante dos meses el período de pastoreo. Para cubrir la escasez de alimento en invierno y/o verano es imprescindible conservar los excedentes de hierba producida en primavera.

Los resultados de un estudio en el que se evaluó el efecto del nivel de alimentación invernal de las vacas Rubia Gallega de partos de otoño en sistemas de pastoreo en el CIAM (Monserrat y Sánchez, 2000), muestran que un nivel bajo, con hierba ensilada en cantidad limitada al 80% de las necesidades, frente a uno alto, con hierba ensilada *ad libitum* más concentrado, para cubrir el 100% de las necesidades, no afectó a la fertilidad ni a la recuperación del peso de las vacas, pero sí a la producción de leche y al peso final de los terneros.

Dada la posibilidad de incrementar la ración de nivel bajo sólo con ensilaje y de utilizar con más eficiencia el concentrado, suministrándolo a los terneros, se estudió el efecto de suplementarlos con 2 kg/día y de alimentar a las vacas con silo *ad libitum.* Los resultados muestran que la suplementación invernal de los terneros con concentrado no afectó a su peso al destete, aunque afecte a su crecimiento invernal; y dado que la ganancia de peso del nacimiento al destete fue similar a la de los terneros de vacas con nivel alto de alimentación invernal, la recomendación final fue la de alimentar al rebaño con silo de hierba *ad libitum* sin utilizar concentrados ni para vacas ni para terneros (Monserrat y Sánchez, 2000).

1.2.5. Suplementación a los terneros durante el período de pastoreo

El objetivo durante el período de pastoreo es prescindir del concentrado en la alimentación, sin embargo, la suplementación de terneros puede ser útil en momentos de escasez o baja calidad de la hierba (Wright, 1992), con el fin de evitar una reducción en la ganancia de peso de los animales, así como en la preparación de los terneros para su cebo inmediato en el postdestete (Drennan, 1987).

El consumo de concentrados por los terneros varía alrededor de 1,0 kg (Rouquete *et al.*, 1983; Wright, 1992) hasta 3,6 kg por cabeza y día (Lusby *et al.*, 1976), estando la cantidad ingerida correlacionada negativamente con la cantidad de leche producida por

las madres y positivamente con la digestibilidad de los forrajes y el peso vivo del ternero (Lusby *et al.*, 1976). Por tanto, el consumo de concentrados por los terneros es bajo al inicio de su vida y muy alto al final de la lactación (Bailey *et al.*, 1991).

Los forrajes producidos en las explotaciones constituyen la fuente de alimentos más barata (Beauchemin y Rode, 2012; Guyader *et al*., 2016; Tabacco *et al*., 2018). Debido a la importancia económica de la suplementación con piensos, se estima que, si el forraje disponible es abundante y de buena calidad, el efecto de los concentrados sobre los terneros es inapreciable y su uso antieconómico (Simpson *et al.*, 1985), por el contrario, si el forraje es escaso o de mala calidad, la suplementación con piensos sería beneficiosa económicamente (Stricker et all., 1979; Vadiveloo y Holmes, 1979).

Se puede concluir, a la vista de los numerosos trabajos realizados (Conway, 1968; Zea y Díaz, 1980; 1981; Monserrat, 1994), que, durante la primavera, la suplementación con piensos al ganado durante el período de pastoreo no tiene resultados satisfactorios en términos de ganancia de peso vivo, siempre que la carga no sea demasiado alta y la digestibilidad de la hierba se mantenga en niveles altos.

En verano, como consecuencia de la falta de agua, el crecimiento del pasto se hace mínimo, llegando a detenerse incluso en Galicia. Como resultados el pasto disponible es escaso y de bajo valor nutricional. Todo esto, junto con la disminución del tiempo empleado en pastar como consecuencia del calor hace que disminuya la ingestión de hierba, con lo que el concentrado actuaría como un verdadero complemento en lugar de hacerlo como un sustitutivo del pasto.

El otoño es un momento en el que habitualmente se producen respuestas a la suplementación, como se deduce de los resultados de una serie de experimentos de Zea y Díaz (1980; 1981) con terneros de entre 198 y 342 kg, una observación detallada de los mismos revela que las respuestas a la suplementación dependerán de la disponibilidad de la hierba. En los casos en los que hubo respuesta la cantidad de hierba fue menor que 2 000 kg de materia seca por hectárea por cada 1 000 kg de peso vivo, también por hectárea, y mayor en los casos en los que no hubo.

1.2.6. Período de acabado en cebadero

Durante el periodo de acabado del sistema semiextensivo, los terneros permanecen en cebaderos ingiriendo concentrado y forraje (heno o ensilaje de maíz), y aquellos que

no hayan sido destetados, también la leche de sus madres. Los piensos son más caros respecto a los forrajes, pero reducen el período de cebo y favorecen el engrasamiento mínimo necesario para la mejor comercialización de razas de maduración tardía como es el caso de la RG (Brea *et al.*, 1998). El cebo tradicional se realiza con dietas a base de concentrado ofrecido *ad libitum*. La composición del pienso utilizado suele ser cereales como cebada, maíz y harina de soja como fuente proteica. El nivel de aportes alimentarios en esta etapa debe asegurar un crecimiento rápido que permita obtener canales de peso elevado y engrasamiento óptimo. Para un peso inicial dado, los períodos de cebo más largos, de forma general, incrementan el peso al sacrificio, el peso de la canal y el rendimiento (Vestergaard *et al.*, 2007). Con la duración del acabado aumentan el espesor de la grasa subcutánea (May *et al.*, 1992; Miller *et al.*, 1987), la grasa infiltrada en la carne y el porcentaje de animales en las categorías superiores (May *et al.*., 1992), incrementándose de igual modo, la terneza (Vestergaard *et al.*, 2007).

La suplementación de hierba henificada o heno en la ración alimenticia de acabado de los terneros se realiza para favorecer el consumo de concentrado, principalmente porque ayuda al desarrollo de las paredes ruminales, activando el proceso de la rumia y la salivación. Los rumiantes requieren una determinada proporción de forraje en la ración para favorecer la rumia y la salivación manteniendo la integridad y funcionalidad del rumen (*National Research Council* [NRC], 2000).

1.3. PRODUCCIÓN DE CARNE DE VACUNO DE CALIDAD

La producción y comercialización de carne de vacuno está sujeta a los requisitos establecidos en materia de trazabilidad y calidad. La trazabilidad constituye el pilar fundamental en la seguridad alimentaria y comprende el control integral de todo el proceso, desde la inscripción del ternero al nacer hasta el punto de venta. El sistema de identificación individual de vacuno (DIB) y su registro centralizado en el Sistema Integrado de Trazabilidad Animal (SITRAN), que integra al Registro General de Explotaciones Ganaderas (REGA), al Registro de Identificación Individual de Animales (RIIA) y al Registro de Movimientos (REMO) garantizando la trazabilidad del ganado vivo mediante una base de datos en la que se recogen todos los registros existentes de las distintas comunidades autónomas, junto con el sistema obligatorio de etiquetaje de las

canales (DOUE, 2000), ofrecen las garantías y la transparencia de mercado necesarias para preservar la confianza del consumidor.

El concepto de calidad, en cambio, es más complejo debido a intereses diferentes en función del eslabón de la cadena de producción y comercialización de la carne, pues no siempre es posible satisfacer todos los objetivos (productivos, sensoriales, dietéticos...). Por una parte, el objetivo del productor es obtener un animal que reúna las características de peso conformación y engrasamiento valoradas por el industrial, empleando el menor tiempo y coste posible. A la vez, debe lograr la obtención de animales con el máximo contenido de músculo, sin descuidar las características de calidad de la carne a fin de satisfacer al consumidor. El desafío para los productores es obtener carne de alta calidad a un precio rentable, debiendo ser conocedor de la influencia que tienen los factores controlables por él (raza, peso, sexo, edad, estado engrasamiento, ritmo crecimiento, alimentación) en los diferentes sistemas de explotación.

El consumidor percibe por los sentidos las propiedades organolépticas o sensoriales de un alimento (color, sabor, terneza, jugosidad, aroma, contenido graso, etc.), considerando en gran medida el contenido en grasa, el color y la terneza como parámetros de aceptación. Las exigencias de los consumidores son múltiples y variadas, contribuyendo, en cada caso, a definir los gustos y características del mercado. En general, la calidad de la carne, desde el punto de vista del consumidor, vendrá definida por su apariencia (color de la carne y de la grasa, forma y peso de la pieza), composición (proporción de carne y grasa en la pieza, y de los residuos que quedan en el plato) y características organolépticas: terneza, sabor, jugosidad, aroma y satisfacción que suscita al comerla). Además, hay que tener en cuenta, que la calidad es un concepto dinámico que varía con el tiempo y puede variar dependiendo de la situación geográfica o sociocultural. Atendiendo a diferentes criterios, como son la calidad higiénica, el valor nutritivo y las características organolépticas y tecnológicas, el termino “calidad de carne” presenta distintas interpretaciones para el consumidor (García, 2001).

1.3.1. Atributos de calidad de la canal

Se entiende por canal el cuerpo entero de un animal tras el sacrificio, sangrado, desollado y eviscerado. La calidad de la canal se define como el conjunto de características que le confieren una máxima aceptación en el mercado y que se traduce en

un mayor precio frente a los consumidores o frente a la demanda de mercado (García-Torres *et al.*, 2005). La calidad de la canal está determinada por sus proporciones relativas en términos de hueso, músculo, grasa y desechos. La gran variabilidad que se observa en las canales, incluso en animales de misma raza, sexo, edad o alimentación, es dependiente de la relación entre la velocidad de crecimiento del animal y la de crecimiento relativo de una parte de la canal (órgano, tejido o región) intrínseca de cada animal (crecimiento alométrico).

La clasificación de las canales se ha basado en factores como la conformación, el grado de engrasamiento y el color de la carne y la grasa. En el actual mercado de la carne y especialmente en los países de la U.E., existe la evidencia de que la conformación y el engrasamiento son buenos indicadores de la calidad de la canal, lo que tiene gran relación con su precio de mercado. La valoración objetiva de la conformación y el estado de engrasamiento de la canal, puede realizarse tomando una serie de medidas en puntos anatómicos concretos en la media canal izquierda (García-Torres *et al.*, 2005) en el primer caso, y, midiendo el espesor de la grasa, parámetro dominante en la apreciación objetiva en la mayoría de los países (Colomer-Rocher 1980), mediante ultrasonidos (Griffin *et al.*, 1999), procesador de imágenes (Bahamonde *et al.*, 2001) o conductividad eléctrica (Rodríguez-Rebollo, 1998), para determinar el grado de engrasamiento.

En el sector cárnico, la clasificación subjetiva de la canal, debido a lo expuesto anteriormente y a su influencia sobre el precio final, está sujeto a las normas europeas SEUROP para escalas de conformación y engrasamiento (DOUE, 2017; BOE, 2018), cuya apreciación visual y valoración es realizada por el personal cualificado. En base a éstas, los compradores pueden conocer la clase y calidad de la canal que se puede esperar, de acuerdo con los diferentes puntos de interés en la clasificación de una canal de vacuno, descritos en el anexo de la normativa en función de la i) conformación que, tras la ampliación con la categoría S, establece seis categorías (SEUROP): S (Superior), E (Excelente), U (Muy buena), R (Buena), O (Menos buena) y P (Mediocre) (en la práctica, la S no se usa) y del ii) grado de engrasamiento, cuyos rangos van desde 1 (canales no grasas) hasta 5 (canales muy grasas).

1.3.1.1. Conformación

Por conformación se entiende la constitución global de la canal, su morfología o forma de sus planos musculares. De forma genérica se puede decir que, a través de su evaluación, se pretende medir la cantidad de carne vendible o consumible, especialmente la de sus partes más selectas (Sañudo, 1998). La raza afecta a la conformación de la canal, hecho que ha sido repetidamente demostrado por Butler *et al.* (1956) y por Colomer-Rocher (1977). Albertí *et al.* (1997), en un estudio realizado con terneros de 7 razas españolas, encontraron diferentes notas de conformación, correspondiendo la categoría "U" a las razas Asturiana y Pirenaica y la "R" a la Avileña, Morucha, Parda, Retinta y Rubia Gallega. Monserrat *et al.* (1997), Varela *et al.* (1997) y Calvo (2001), trabajando todos ellos con terneros de raza Rubia Gallega, encontraron una mejora en la calificación subjetiva de la canal a medida que avanza la edad. El tipo de alimentación influye indirectamente, sobre la conformación y el rendimiento de la canal. Andersen *et al.* (1984), señalaron que el rendimiento canal y la conformación se reducen con la pérdida en la ganancia media diaria, motivada por la reducción de la energía de la ración y consiguientemente del engrasamiento, más que por modificaciones del volumen muscular. Esta reducción es más drástica en machos que en hembras. En general, los machos presentan una mejor clasificación de la canal que las hembras, debido a que proporcionan canales más pesadas. Dios (1997), al igual que Carballo *et al.* (1995), Sueiro (1995a y b) y Carballo (2003), encontraron diferencias significativas en este sentido en la raza Rubia Gallega.

1.3.1.2. Engrasamiento

Por estado de engrasamiento se entiende la proporción de tejido adiposo que presenta la canal en relación con su peso; evaluándose, en el exterior, por el estado (extensión y grosor) de cobertura grasa de la región subcutánea, y, en el interior, por la cantidad de grasa en la región pélvico y renal y el grado de cubrición de los músculos intercostales. La valoración del estado de engrasamiento de la canal es considerada unánimemente como un factor importante para la clasificación de las canales (Berg *et al.*, 1978; Colomer-Rocher, 1980). El reparto y localización de los depósitos adiposos del cuerpo pueden alterar el rendimiento comercial de los animales de carnicería, viéndose reducido con el aumento de los depósitos grasos. Además de su importancia cuantitativa,

la distribución anatómica de la grasa en el tejido subcutáneo (de cobertura), entre los haces musculares (intermuscular), en las cavidades torácica abdominal y pelviana (cavitaria) y entre las fibras musculares (intramuscular), influye sobre la calidad de la canal. Una mayor cantidad de grasa en el tejido subcutáneo es indicativa de mejor calidad en las razas de aptitud cárnica, en contraposición con los abundantes depósitos pélvicos y perirrenales de las razas de leche (Bass *et al.*, 1981). El estado de engrasamiento óptimo es aquel que compagina la cantidad mínima de grasa para satisfacer las demandas del consumidor con la cantidad suficiente para asegurar las condiciones de suculencia de la carne y de presentación y de conservación de la canal (Ruíz de Huidobro *et al.*, 1996). Si bien hay que considerar, que la apreciación del nivel de engrasamiento de la canal varía según los países y las tendencias de un determinado mercado, desempeñando en todos ellos un papel importante en la determinación de su precio (Flamant y Boccard, 1966).

La raza Rubia Gallega posee una cobertura de grasa de poco espesor y distribuida uniformemente por la superficie de la canal, considerándose un aspecto deseable que garantiza la protección del músculo frente a las bajas temperaturas y a las pérdidas de peso por deshidratación (Dios, 2000), encajando con las demandas del mercado español. De hecho, la mayoría de las canales comercializadas en España en el año 2018, para la tipología ternero (Z), se clasificaron en los niveles 2 y 3 (43 y 54%, respectivamente, del total de canales) para el estado de engrasamiento, presentando la mayoría, en cuanto a la conformación, la categoría O (42%), con cierta presencia de la R (28,4%,), especialmente en canales con un nivel de engrasamiento 3 (MAPA, 2019).

A medida que aumenta el peso vivo aumenta el grado de engrasamiento. Las variaciones observadas en el desarrollo del tejido adiposo, a igualdad de peso y edad, dependen del nivel nutritivo de la dieta, es decir, la cantidad de energía ingerida y de la relación energía - proteína de la ración (Hammond, 1944). Un nivel nutritivo bajo reduce la ganancia de peso y modifica la composición corporal, disminuyendo el porcentaje de grasa y, una proporción baja de proteína con relación a la energía de la dieta, generalmente, provoca una tendencia al engrasamiento. Crouse *et al.* (1984), estudiando los efectos de una dieta forrajera frente a una de concentrados, apreciaron que las dietas voluminosas ofrecen canales más ligeras y menos engrasadas, relacionado con su menor nivel energético y las mayores necesidades de los sistemas extensivos. Los animales cebados con una concentración energética elevada tienen más posibilidad de depositar grasa en la canal que los cebados con nivel de energía inferior, pudiéndose concluir que

una elevada concentración energética de la ración durante el periodo inmediato al sacrificio tiene un efecto positivo sobre el engrasamiento de la canal (Albertí, *et al.*, 1995).

Para un mismo peso vivo y raza, los depósitos adiposos corporales del animal varían con el sexo (Colomer y Espejo, 1973). Las hembras tienen un potencial de crecimiento más débil que los machos, pero un desarrollo más rápido del tejido adiposo (Micol *et al.*, 1993), por lo que se engrasan a pesos más bajos que los machos (Berg y Butterfield, 1978), habiéndose comprobado mayor acumulación de grasa subcutánea (Wilson *et al.,* 1963). En la raza Rubia Gallega, Dios (2000) con animales sacrificados a diez meses, sí encontró diferencias significativas entre ambos sexos, de forma que, a la misma edad, los machos presentaron menos grasa de cobertura que las hembras.

1.3.2. Atributos de calidad organoléptica de la carne

El término "calidad de carne" presenta distintas interpretaciones para el consumidor y atiende a diferentes y variados criterios como son las propiedades sensoriales, nutritivas, higiénicas, toxicológicas y tecnológicas (Ouali, 1991; Mohino, 1993).

Como se ha indicado anteriormente, desde la óptica del consumidor, la calidad de la carne engloba diferentes aspectos: higiénico-sanitarios (de obligado cumplimiento), comerciales (organoléptica y sensorial/ pH, color, aroma, gusto y textura), tecnológicos (estabilidad y aptitud para transformación y conservación), de servicio (facilidad de empleo, aptitud culinaria, precio, etc), de presentación (modificaciones en los cortes tradicionales, o el desarrollo de nuevos productos con nuevas presentaciones, pueden variar la intención de compra en un momento dado) y nutricionales (grado de satisfacción de las necesidades según contenido en energía, proteína, vitaminas y minerales y presencia de compuestos bioactivos); influyendo todas ellas en la decisión de compra.

Los factores *antemortem* modifican especialmente la cantidad, distribución y el tipo de tejido conjuntivo, destacando la especie, la raza, el genotipo, el sexo, la edad, el tipo de alimentación o la actividad física. Las condiciones del sacrificio del animal que afectan fundamentalmente al valor de pH último, como son condiciones de transporte o estrés, el tiempo de espera en el matadero.

La mayoría de las cualidades que presenta la carne son inherentes al animal y al sistema de producción. No obstante, la influencia de los tratamientos tecnológicos sobre las transformaciones físicas y bioquímicas, propias del período *postmortem*, pueden alterarlas sustancialmente. Los factores *postmortem* que influyen son las condiciones de la maduración o de la preparación culinaria.

Dentro de las características de calidad, las que intervienen decisivamente en el mercado son:

- Las *características tecnológicas*, que incluyen el color (intensidad, homogeneidad) el pH, la vida útil y la forma de presentación.
- Las *características organolépticas* que se corresponden con las características sensoriales; de color, aspecto (proporción de magro y grasa, grado de marmorización), aroma (olor y sabor, en el que los lípidos juegan un papel fundamental), terneza (grado de dificultad al masticar debido a la rigidez aportada por el acortamiento de las miofibrillas), la capacidad de retención de agua y jugosidad.

1.3.2.1. pH

El pH ejerce una gran importancia tanto sobre el proceso biológico de la transformación del músculo en carne, como sobre sus características organolépticas (color, jugosidad, terneza y flavor) y tecnológicas (capacidad de retención de agua, aptitud para la conservación). El pH muscular de los animales vivos se sitúa en valores comprendidos entre 7,08 y 7,30. Tras la muerte del animal, cesa el aporte sanguíneo de oxígeno y nutrientes al músculo, el cual utiliza sus reservas de energía para sintetizar ATP con el fin de mantener su temperatura e integridad estructural. Conforme se reducen los niveles de ATP se degrada el glucógeno a ácido láctico mediante la glucólisis anaeróbica. Este hecho provoca un descenso del pH muscular que continúa hasta que se agotan las reservas de glucógeno o hasta que se inactivan los enzimas que rigen el metabolismo muscular (Lawrie, 1998b). El descenso del pH puede alcanzar valores comprendidos entre 5,40 y 5,70. Si la glucólisis no es intensa, el contenido en lactato será menor y el pH de la carne superará el valor de 5,70, originando carnes denominadas oscuras, firmes y secas (DFD). Por el contrario, un exceso de lactato en el musculo provoca un rápido descenso del pH y se producen carnes pálidas, blandas y exudativas (PSE) (Briskey y Bray, 1964). El sistema de alimentación es uno de los factores que

influye sobre el pH final de la carne, Moreno (2004) observó valores de pH más elevados en terneros alimentados con leche hasta el sacrificio en comparación con los animales destetados anteriormente. En experimentos realizados con la raza Rubia Gallega, Moreno *et al.* (2002) y Moreno (2004) observaron valores de pH superiores en la carne de los animales criados en un sistema extensivo con una alimentación con leche materna y hierba fresca (pasto) o conservada (ensilaje), respecto a animales criados en un sistema semiextensivo con una alimentación con suplementación con concentrado en pastoreo y acabado en cebadero con concentrado *ad libitum*.

1.3.2.2. Color

El color rojo brillante o rojo cereza de la carne es uno de los atributos de calidad más importantes que determina la decisión de compra por parte del consumidor, ya que la pérdida de color está asociada a una menor frescura de la carne (Pérez y Andújar, 2000). El color de la carne depende de muchos factores, en concreto los más importantes son: contenido en pigmentos hemínicos (en particular, de la mioglobina y su estado químico) (Ordoñez *et al.*, 1998), factor intrínseco más importante relacionado con la especie, edad, raza, sexo y tipo de alimentación; las condiciones del periodo pre y post sacrificio (estrés, temperatura y humedad de la cámara) que afectarán al variar la velocidad de caída del pH; y el tiempo de almacenamiento y las condiciones de comercialización que modifican la apariencia del color debido a procesos de oxigenación y oxidación (Beiriain *et al*., 2009; Jacob, 2014)

La carne está compuesta por dos fracciones: el músculo y la grasa. El color del primero se ve influenciado por la concentración de pigmentos que determinan la cantidad de luz reflejada (Seideman *et al.*, 1984), mientras el color de la grasa depende, asimismo, de la concentración de pigmentos y de la composición química de los distintos ácidos grasos que componen el depósito graso (los colores de la grasa subcutánea, intermuscular e intramuscular son los que tienen importancia para el consumidor). Otros atributos relacionados con el color son el tono, la saturación y la luminosidad. El tono se trata de una propiedad del color definida por el estado químico de la mioglobina. La saturación se refiere a la cantidad de mioglobina presente en el músculo, y la luminosidad depende del estado físico de la superficie de la carne y se refiere al grado de luminosidad

de un color con relación a un gris neutro en una escala que va del negro al blanco absoluto.

La determinación instrumental del color en el músculo es compleja debido a que su apariencia varía al estar condicionada por los procesos químicos de oxidación y oxigenación de la mioglobina. Por este motivo, habrá que establecer el momento de medición del color y conocer su cinética de evolución durante el tiempo de vida comercial. Dunne *et al*. (2003) definieron el color de la carne como "el color obtenido por un trozo de tejido muscular fresco o madurado, de un espesor predefinido, normalmente de 2.5 cm, con su superficie de corte perpendicular a la dirección de las fibras musculares".

El sistema de representación del color más utilizado para la determinación del color en los productos animales es el CIE L*a*b*, que fue desarrollado por la Comisión Internacional de la Iluminación (*Commission Internationale d'Eclairage*) (CIE, 1986). Este sistema es un modelo tridimensional que emplea las coordenadas tricromáticas L* (luminosidad), a* (índice rojo) y b* (índice de amarillo), de manera que a partir de relaciones entre ellas se pueden obtener las coordenadas colorimétricas, la intensidad de color, o croma (*Chroma*, $C^* = (a^*)^2 + (b^*)^2)^{0,5}$), y el tono (*Hue*, H*= arctan (b*/a*)) (Onega, 2003).

Numerosos trabajos realizaron estudios del efecto de la alimentación sobre las coordenadas del color y el contenido en pigmentos de la carne. Yeates *et al.* (1975) observaron que las dietas con alto contenido en forrajes aportan coloraciones más oscuras a la carne. De igual modo, Realini *et al.* (2004) analizaron el efecto de alimentar terneros con pastos o con concentrado, observando valores de L* más bajos (carne más oscura) en los animales que consumieron dietas de acabado con pastos frente a los que consumieron el concentrado. Por otra parte, Priolo *et al.* (2001) indican la existencia de un efecto claro de la alimentación sobre el color de la carne, obteniendo carnes más oscuras en terneros alimentados con pastos. Los citados autores señalan la dificultad de evaluar la causa de este efecto, ya que consideran que están involucrados diversos factores además de la alimentación. Por la contra, Albertí *et al*. (2014) no encuentran efecto del tipo de alimentación durante la fase de acabado con concentrados (dieta control frente dieta con semilla de lino y dieta con semilla de lino y vitamina E) en las coordenadas del color estudiadas.

1.3.2.3. Capacidad de retención del agua

La carne cruda de los mamíferos inmediatamente tras el sacrificio contiene, como media un 75% de agua (Lawrie, 1998a), porcentaje variable en función de la especie y del músculo considerado. Parte del agua se pierde con el tratamiento de la carne: por evaporación durante el enfriamiento de las canales (2%), por goteo (como consecuencia de la sección de los tejidos, 6%) y las máximas pérdidas como consecuencia del cocinado de la carne (40%) (Offer y Knight, 1988).

La capacidad de la carne para retener el agua (CRA) se define como la capacidad que poseen las proteínas de la carne para retener el agua del musculo cuando éste se somete a procesos de elaboración. De la CRA dependen otras propiedades de la carne como el color y la textura (Offer y Knight, 1988). Es más que justificado pues, el interés por estudiar la capacidad de la carne para retener el agua (CRA) tanto cruda como cocinada. Considerando la forma en que el agua está presente en el músculo y los distintos mecanismos que la retienen en él, Hamm (1986) propone cuatro maneras de evaluar la CRA mediante la medida de las pérdidas de agua por goteo (exudación de la carne, sin aplicación de fuerzas, mediante gravedad), por descongelación (agua exudada tras su congelación-descongelación, sin aplicación de fuerzas externas), por cocinado (fluidos liberados tras el calentamiento de la carne) y por presión (aplicación se fuerzas externas de compresión).

Se ha establecido que los métodos de referencia internacionales se basen en la valoración de las pérdidas de agua por presión y por cocción, determinándose también, en el presente trabajo, las pérdidas de agua por goteo y definidas como:

- *Pérdidas por presión*: La medida de la CRA por la carne cruda mediante la aplicación de presiones externas, a pesar de no ser un método de alto poder predictivo, se ha utilizado ampliamente debido a su sencillez y rapidez. Aún no siendo un método de referencia, es el método más utilizado, en la bibliografía española, para estimar la CRA.

- *Pérdidas por cocción*: Las altas temperaturas originan pérdidas de agua en la carne debido a que sus proteínas se desnaturalizan y esto provoca cambios estructurales como: encogimiento del tejido conjuntivo, destrucción de membranas celulares, encogimiento longitudinal y transversal de las fibras musculares y agregación de proteínas sarcoplasmáticas.

- *Pérdidas por goteo* se deben a los cambios en el volumen de las miofibrillas causados por el rigor mortis y/o la contracción, cuando las miofibrillas se encogen por el descenso del pH o por la contracción subsiguiente a la unión de las cabezas de la miosina a los filamentos de la actina.

La capacidad de retención de agua tiene una importante repercusión en la apreciación de las características sensoriales, en el valor comercial y en la aptitud tecnológica de la carne. El descenso de la CRA disminuye la palatabilidad y jugosidad y el valor de la carne, asimismo el valor nutricional se reduce debido al arrastre de proteínas solubles, minerales y vitaminas por el agua liberada. Diversos factores tienen influencia sobre la CRA, en el caso del tipo de alimentación, un experimento realizado con terneros frisones, Albertí *et al.* (1988) observaron que el acabado prolongado con concentrado aumentaba la CRA, mientras que la tipología del pasto no mostró influencia sobre este parámetro.

1.3.2.4. Textura

La textura de la carne de vacuno es probablemente el aspecto de calidad organoléptica más influyente sobre el juicio de valor de la calidad global de la carne, siendo un parámetro difícil de definir, sin embargo, Szczesniak y Kleyn (1963) definieron la textura como "la manifestación sensorial de la estructura del alimento y la forma de reaccionar de la misma frente a la aplicación de fuerzas externas".

Las propiedades de textura de la carne vienen determinadas directamente por las propiedades de las estructuras miofibrilares, conjuntivas y del citoesqueleto; éstas varían según la especie, raza, sexo, edad, alimentación, etc., además de variables biológicas y tecnológicas. La textura de la carne engloba los aspectos relacionados con la terneza inicial y la terneza tras varias masticaciones, incluyendo atributos sensoriales más complejos como la cohesividad de las fibras musculares, la adherencia, la masticabilidad, la cantidad de tejido conectivo residual, la gomosidad, etc. (Juárez *et al*., 2012).

De todos los atributos de textura, la terneza es probablemente el más importante durante el consumo de la carne y que determinará en gran medida la aceptación o el rechazo por parte del consumidor, así como su disposición a pagar más por la adquisición de cortes más tiernos (Thompson, 2002). La terneza es definida como

la dificultad o la facilidad con la que una carne se puede cortar y/o masticar (Hui *et al*., 2006) y varía fundamentalmente a causa del contenido en colágeno del músculo y a las modificaciones transcurridas en la estructura miofibrilar de las proteínas entre el sacrificio del animal y el consumo de la carne (Monsón *et al.*, 2005). El proceso de ablandamiento de la carne tiene lugar en la fase *post mortem*, se trata de la degradación enzimática de la estructura miofibrilar del músculo y la degradación parcial del tejido conectivo.

La jugosidad es también un atributo valorado por la mayoría de los consumidores, pues en boca, las propiedades de textura de la carne de vacuno son dependientes de otras características de la carne como la CRA y el contenido en grasa, ya que contribuyen a la lubricación necesaria durante la masticación (Juárez *et al*., 2012). La jugosidad es la percepción de la humedad en el momento del consumo y depende de la cantidad de agua retenida por un producto cárnico. Se considera que la jugosidad de la carne surge de la humedad liberada por la carne durante la masticación, y la humedad de la saliva (Christensen, 1984), y está influenciado no sólo por factores relacionados con la carne, como el contenido de grasa, sino también por factores fisiológicos y psicológicos individuales. La jugosidad incrementa el sabor y contribuye a la terneza de la carne, haciendo que sea más fácil de masticar al estimular la producción de saliva. Se distinguen dos componentes de jugosidad combinados, la impresión de humedad durante las primeras masticaciones producida por la liberación rápida de jugo, es decir, jugosidad inicial, y la que se mantiene durante un tiempo debido al efecto estimulante de la grasa sobre la salivación, es decir, jugosidad sostenida. (Dransfield *et al*., 1984; Thompson, 2004)

Los cuatro factores importantes que determinan la terneza de la carne son la dureza de base (*ante mortem),* la fase de endurecimiento durante el inicio del *rigor,* la fase de ablandamiento (durante el período de envejecimiento *postmortem)* y la desnaturalización/solubilización de proteínas durante la cocción (Juárez *et al*., 2012). Lógicamente, los factores *antemortem* que influyen en la humedad o el contenido de la carne, así como los efectos de las fases de endurecimiento, ablandamiento y cocción en las proteínas, también afectan a la jugosidad de la carne (Winger y Hagyard, 1999). Por lo tanto, numerosos factores *ante* y *postmortem* pueden tener una influencia significativa en la terneza final y la jugosidad de la carne.

La textura es por tanto un atributo complejo como lo demuestra el gran número de características utilizadas para describirla y los diversos factores de los que depende (Lepetit, 1989; Szczesniak, 2002), por ello, a pesar de que la evaluación sensorial de la terneza y la jugosidad es el método más fiable y realista, el coste y tiempo requeridos para la evaluación rutinaria han llevado al desarrollo de métodos objetivos estandarizados en carne cruda y cocida para para la medición de los parámetros de textura (Juárez *et al*., 2012). La complejidad de la jugosidad también causa dificultades para realizar mediciones objetivas, empleándose la CRA medida tras la cocción de la carne como parámetro objetivo relacionado con su jugosidad (Grau y Hamm 1953), sin embargo, la única medida fiable y consistente de jugosidad se logra utilizando métodos sensoriales (Juárez *et al*., 2012).

Para la **medida instrumental (objetiva)** de la textura de la carne se emplea mayoritariamente el método mecánico de corte o fuerza de cizallamiento Warner-Bratzler (Bratzler, 1949) mediante una célula/hoja de corte estandarizada (Honikel, 1998), pero posee limitaciones a la hora de comparaciones absolutas de resultados (Janz y Aalhus, 2002). Sin embargo, la resistencia mecánica a la fuerza, generalmente llamada "terneza", se emplea en la literatura como equivalente al atributo sensorial de dureza–terneza/ternura. El sistema de alimentación ejerce influencia sobre la terneza de la carne, el incremento del nivel energético de la dieta consumida por el animal aumenta la terneza (Fishell *et al.*, 1985). Sin embargo, Albertí *et al.* (1992) indican que las características de la ración en los rumiantes sobre la terneza tienen un escaso efecto, si se trata de dietas isoenergéticas e isoproteicas. El mayor engrasamiento de las canales aumenta la terneza de la carne (Larick *et al.*, 1987), e inversamente la carne más magra presenta una menor palatabilidad (Koch *et al.*, 1988). Diversos autores han relacionado la terneza medida de forma instrumental con los resultados obtenidos por análisis sensorial (Caine *et al.*, 2003; Destefanis *et al.*, 2008). Shackelford *et al.* (1995) reportaron un coeficiente de determinación de 0,5 entre la fuerza de corte con célula WB y el panel de catadores. Así mismo, Destefanis *et al.* (2008) obtuvieron un coeficiente de correlación alto (0,72) al comparar los resultados del test Warner-Bratzler con el análisis sensorial realizado por 220 consumidores no entrenados. El análisis de perfil de textura (TPA) es otro procedimiento instrumental, adaptación de Bourne (1968) para la *Instron Universal Testing Machine,* que simula la masticación, ayudando a medir y a cuantificar parámetros de textura en la carne tales como: dureza, gomosidad, masticabilidad, elasticidad y

cohesividad (Bouton y Harris 1972; Bourne, 1978); relacionados, a su vez, con variables como la tasa de deformación aplicada y la composición del producto (Lepetit y Culioli, 1994). La principal ventaja es que se obtienen muchos parámetros con una doble compresión cíclica que simula el esfuerzo de la mandíbula al morder. Caine *et al*. (2003) compararon tanto el método TPA como la fuerza WBS con el análisis sensorial y concluyeron que los análisis del perfil de textura explicaban mejor la variación sensorial subjetiva que WBS.

El a**nálisis sensorial (subjetivo),** por su parte, es la disciplina científica que permite medir de forma objetiva y reproducible las características de la carne (sabor, olor, color y textura) mediante los órganos de los sentidos utilizando un panel de catadores entrenado (Guerrero, 2000). La dieta animal se ha identificado como el componente externo más influyente en la calidad sensorial de la carne pues ésta altera los niveles de los precursores del sabor en la carne una vez cocinada (aminoácidos libres y azúcares reductores) (Melton, 1990; Koutsidis *et al*., 2008). Diversos trabajos documentan críticas comunes hacia la carne procedente de sistemas de acabado forrajero en términos de aceptación del consumidor a causa de propiedades organolépticas menos deseadas (carne menos tierna y más oscura o menos GIM y más amarillenta) (Valsta *et al*., 2005; Nuernberg *et al*., 2005). La composición de AG en la carne también se ha visto que puede alterar la aceptación final por parte del consumidor, pues carnes con alto AGPI pueden desencadenar procesos de enranciamiento, originando olores y sabores desagradables que a la vez disminuyen su vida útil (Duckett *et al*., 1993; Dewhurst *et al*., 2003 Wood *et al*., 2004). Sin embargo, la valoración de los atributos de olor y sabor está ligada a aspectos culturales, observándose en Europa una preferencia de sabor hacia la carne de vacuno magra y con mayor nivel de AGPI, procedente de sistemas poco intensivos (Campo *et al*., 2003; Priolo *et al*., 2001).

1.3.3. Calidad Certificada

Centrándonos en el ámbito alimenticio, y particularmente en el caso de la carne, la calidad se puede definir como el conjunto de atributos que caracterizan a un alimento y que en definitiva son los que determinarán que sea aceptado o no por los consumidores, es decir, la calidad es aquello que gusta al consumidor y por lo que está dispuesto a pagar más que el precio medio (García, 2001).

Así mismo, la crisis del sector provocada por la EEB motivó que en la Reforma de la PAC se considerara el apoyo a campañas de promoción de los distintivos de calidad para recuperar la confianza del consumidor. Al amparo de esta filosofía y como respuesta a la demanda de la calidad impuesta por los consumidores, debido a problemas de salubridad existentes en algunos mercados (ej. carnes con presencia de hormonas, antibióticos, corticoides), han surgido numerosas denominaciones con las que se ha incrementado notablemente la venta de carne de vacuno con distintivos de calidad en toda Europa. El consumidor no sólo está concienciado con la importancia de la calidad comercial, sino que demanda productos que satisfagan su experiencia sensorial. Actualmente existe un creciente interés por parte de los consumidores de información de que ciertos alimentos pueden ejercer beneficios sobre la salud humana más allá de su valor nutricional y también se observa un aumento de la demanda de productos que integran la preocupación por el bienestar animal y por el tipo del sistema de producción, exigiendo modelos más respetuosos con los animales y el medioambiente.

La calidad diferenciada de un alimento se refiere a las características peculiares y específicas debidas a su origen y/o a los procedimientos de elaboración. Estos alimentos están regulados por la normativa de la UE que garantiza el cumplimiento de los requisitos de calidad adicionales a los exigidos para el resto de los productos convencionales. La diferenciación de productos de calidad a través de instrumentos legales puede ser de varios tipos:

a) Indicaciones Geográficas Protegidas (IGP) y Denominaciones de Origen Protegidas (DOP) de determinadas razas que se encuentran estrechamente ligadas al lugar geográfico de origen. Se trata de un producto que posee una calidad determinada u otra característica que pueda atribuirse a su origen geográfico. La DOP es indicativa del origen de un lugar, región determinada o un país cuya calidad o características son atribuidas a un medio geográfico particular, con factores inherentes a él y cuyas fases de producción tenga lugar en su totalidad en la zona geográfica definida. Ambas distinciones de calidad son otorgadas por el gobierno español y ratificados por la U.E.

b) Marcas de Calidad Certificadas por entidades de certificación, fundamentadas en reglamentaciones propias y comunitarias (Normas ISO) que regulan los procesos productivos, ofreciendo una garantía de que cumple una norma determinada. Para el control de la producción se realizan exhaustivas auditorías

realizadas por las entidades certificadoras al sistema productivo para la obtención de carne.

c) Producción Ecológica asegura que el sistema productivo para la obtención de carne de vacuno ha cumplido la reglamentación en cada una de las etapas del proceso, dictadas por la UE en materia de seguridad alimentaria y respecto a los animales y al medio ambiente. Los datos ofrecidos por el MAPA (2019) indican que en España se certificaron 23 004 toneladas de carne de vacuno amparadas en certificación ecológica, suponiendo el 3,5% del total de la carne de vacuno.

La IGP *Ternera Gallega* ampara la carne de los animales nacidos, criados y sacrificados en Galicia, de las razas Rubia Gallega, Morenas del Noroeste y los cruces entre sí y los cruces en primera generación de machos de las citadas razas con hembras de razas Holstein Frisian y Pardo Alpina. El sistema de manejo es extensivo o semiextensivo con amamantamiento, mínimo de dos meses, hasta su destete a los siete meses, y un acabado en cebadero hasta alcanzar los nueve o diez meses de edad. La raza o el tipo genético son responsables, de variaciones importantes en algunos caracteres de la canal que condicionan su calidad. La zona de reproducción, crianza del ganado y de elaboración de las carnes protegidas por la IGP se extiende a todo el territorio de la C.A. gallega. Los tipos de carnes amparadas por la IGP son los siguientes: Ternera Suprema, Ternera Normal, Añojo y Cebón. Actualmente en Galicia además de la IGP reconocida *Ternera Gallega* existe la IGP *Vaca y Buey de Galicia*, de reciente creación y actual protección nacional transitoria (DOG, 2017). El Consejo Regular de las IGPs de Carne de Vacuno de Galicia posee un papel clave para el sector, garantizando el origen, la trazabilidad y la calidad de la carne amparada, para poder ofrecerles a los consumidores las máximas garantías.

1.4. CALIDAD LIPÍDICA DE LA CARNE Y SALUD HUMANA

Las propiedades nutricionales de la carne están estrechamente relacionadas con su contenido graso y su composición de AG, influyendo, además, notablemente sobre su calidad organoléptica, ya que puede alterar el grado de saturación y la estabilidad durante la conservación. De ahí la importancia de conocer su composición en detalle y estudiar los factores de variación que influyen positivamente desde el punto de vista de la salud

humana. Desde hace tiempo se conoce el hecho de que ciertos alimentos pueden ejercer un efecto beneficioso sobre la salud humana. El perfil del consumidor ha evolucionado, mostrando una mayor preocupación por la calidad nutricional de la carne y productos cárnicos con los años, especialmente en relación con la cantidad y composición de su grasa (Jiménez-Colmenero *et al.*, 2001) debido a su asociación con el desarrollo de enfermedades cardiovasculares (*British Department of Health* [BDH], 1994; Hu *et al.*, 2001); siendo la grasa, en cambio, un componente básico de la dieta que aporta energía y AG esenciales para el ser humano, además de proporcionar palatabilidad/sabor, ayudar a la absorción de vitaminas y jugar un importante papel en el sistema inmune.

Las recomendaciones nutricionales en cuanto a una ingesta óptima de lípidos, con la intención de minimizar la ocurrencia de ciertas enfermedades crónicas en humanos, están evaluándose constantemente en función de los nuevos hallazgos que arrojen los estudios de investigación. Las pautas generales, según las recomendaciones de la consulta mixta de expertos de la *Food and Agriculture Organization* (FAO) y la *World Health Organization* (WHO) sobre dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas, desde hace dos décadas (WHO/FAO, 2003), indican la ingesta mínima total de grasas recomendada se situaba en el 15% de calorías totales, pero, sin superar el 30% de la ingesta calórica diaria (Linseisen *et al.*, 2009) por sus posibles efectos adversos sobre la obesidad y enfermedades coronarias (Webb y O'Neill, 2008).

Como se ha comentado anteriormente, las pautas nutricionales están cambiando y cada vez se hace más hincapié en la calidad lipídica de esa grasa, por lo que los objetivos de ingesta de ácidos grasos específicos indican que los AGS no proporcionen más del 10% la energía total diaria (FAO, 2009). Los AGS son los AG más abundantes en las dietas actuales debido al abuso de aceites vegetales en la cocina y al consumo de alimentos procesados (Ailhaud *et al.*, 2006), siendo su consumo un riesgo para la salud de los seres humanos, debido al aumento de los niveles plasmáticos de colesterol total y LDL, importantes factores de riesgo reconocidos para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares (Lefevre *et al.*, 2004). Por tanto, se ha sugerido la sustitución de AGS por AGMI y AGPI, buscando que los AGMI representen entre el 10-15% de la energía total ingerida, pero limitando la cantidad específica de *t*AGMI al 1% de la ingesta diaria de energía (Willett y Mozaffarian, 2008). En cuanto a los AGPI, se recomienda que representen entre el 6-8% de la ingesta diaria calórica y que el aporte de los *n-3*-AGPI suponga el 1-2% de la energía total (Chapkin, 2008; FAO, 2009; Royo, 2017).

Las implicaciones del consumo de grasa para la salud están determinadas por la composición específica en AG, y normalmente se utilizan parámetros indicativos, como las relaciones entre aquellos AG considerados potencialmente beneficiosos para la salud humana, que permitan evaluar el valor nutricional de la grasa de un alimento y el riesgo entre su consumo y el estado metabólico, o su posible papel como funcional (Jiménez-Colmenero *et al.*, 2001; 2007). La recomendación de la relación AGPI/AGS se sitúa en un valor igual o superior a 0,45 para la dieta en su conjunto (BDH, 1994; Smit *et al.*, 2009). Así mismo, se han empleado otros índices para evaluar la propensión de la dieta a influir en la incidencia de las enfermedades cardiovasculares debido a los efectos específicos de los AGS individuales sobre el metabolismo del colesterol. En este sentido, se ha utilizado la proporción de ácidos grasos hipocolesterolémicos/hipercolesterolémicos (h/H: (18:1n-9 + 18:2*n-6* +C20:4*n-6* + 18:3*n-3* + 20:5*n-3* + 22:5*n-3* + 22:6*n-3*)/(14:0 + 16:0)), así como los índices de aterogenicidad (IA: [(12:0 + (4 x14:0) + 16:0)]/(ΣAGMI + Σ*n-6* + Σ*n-3*) y de trombogenicidad (IT: (14:0 + 16:0 + 18:0)/ [(0,5 x ΣAGMI) + (0,5 x Σ*n-6*) + (3 x Σ*n-3*) + (Σ*n-3*/Σ*n-6*)] (Ulbricht y Southgate, 1991). Estas relaciones tienen en cuenta los diversos efectos de diferentes ácidos grasos sobre la salud humana, considerando la distribución individual de los principales AGS (12:0, 14:0, 16:0 y 18:0), ya que no todos afectan de igual manera al perfil plasmático del colesterol (Givens, 2005; Williamson *et al.*, 2005; Lee y Hwang, 2008).

Dentro del grupo de AGPI, los ácidos grasos *n-3* y *n-6* son esenciales para la síntesis de moléculas necesarias para el control de las principales funciones fisiológicas en humanos, sabiéndose de su enfrentada bioactividad (Simopoulos, 2006), por lo que es importante que exista un equilibrio de ambos grupos en la dieta. Actualmente, debido al cambio drástico en el estilo de vida, la dieta típica en países industrializados muestra un contenido menor de *n-3* en comparación con la dieta de hace un siglo (Simopoulos, 2001; 2002). La relación *n-6/n-3* de las dietas ha ido aumentando en el tiempo, situándose, actualmente, a un nivel de 15-25 a 1 en países desarrollados, lejos del balance considerado adecuado entre ambas familias de AG (Simopoulos, 2008). Estos cambios en la dieta y el desequilibrio en la relación *n-6/n-3* se asocian de forma paralela con el incremento de la frecuencia de determinadas enfermedades y patologías (Wijendran y Hayes, 2004; Griffin, 2008; Williams *et al.*, 2011). Durante las últimas dos décadas, por tanto, la comunidad científica ha abogado por el retorno a una relación *n-6/n-3* preindustrial, que idealmente debiera ser 4:1 o inferior, en comparación con la proporción

actual típica de la dieta occidental (15:1) (Simopoulos 1999; 2008; 2011). Con este objetivo, se han llevado a cabo numerosos trabajos científicos que evidencian que una dieta rica en *n-3* reduce la incidencia de algunas de estas enfermedades, mostrándose en el meta-análisis reciente de Wei *et al.* (2018), con 350 000 participantes, una relación inversa entre el consumo de ALA y el riesgo de padecer enfermedades coronarias.

En la línea de establecer las recomendaciones para una dieta más saludable teniendo en cuentas las diferentes funciones biológicas de los AGPI y, específicamente, los beneficios de *n-3*, la *European Food Safety Authority* (EFSA) propuso valores de ingesta adecuada para LA y LNA, así como para los *n-3*AGPI de cadena larga, EPA y DHA (EFSA, 2010), expresada como porcentaje de la ingesta energética total diaria de 4% y 0,5% de la energía total. La recomendación para EPA y DHA es de 250 mg/d para la suma de los dos AG, debiendo ser incrementada esta cantidad en 100-200 mg de DHA para mujeres gestantes y lactantes. Según las recomendaciones de los expertos de las FAO/WHO la ingestión diaria debe ser de 2,5%-9% de la energía total para los *n-6* y del 0,5%-2% para los *n-3* (FAO, 2009).

Debido al papel que juega la distribución de AGPI (*n-6* y *n-3*) sobre la determinación de los beneficios asociados a la recomendación de una ingesta elevada de AGPI, se ha cuestionado ampliamente el uso de su ratio como indicador de la calidad lipídica de un alimento en cuanto su relación con la incidencia de ciertas enfermedades crónicas como la depresión, cáncer, cardiovasculares, etc. (Marventano *et al.*, 2015; Grosso *et al.*, 2016; Husted *et al.*, 2016), tras haberse propuesto como más conveniente, el empleo de las cantidades individuales de AGPI ingeridas, específicamente las de *n-3*AGPI. Sin embargo, en la reciente revisión de Saini y Keum (2018) se concluye y destaca la conveniencia y necesidad de la información conjunta (ratio y cantidades absolutas de *n-6* y *n-3*) para establecer la relación entre la dieta y el riesgo/desarrollo de numerosas enfermedades crónicas.

Además de los ácidos grasos mencionados, en los últimos años, la comunidad científica ha centrado su atención en los ácidos grasos de la dieta secundarios y poco comunes, pero característicos de la carne y la leche procedente de rumiantes, habiéndoseles asociado con varios beneficios para la salud en estudios in vitro y en animales, tales como los ácidos linoleico conjugado (CLA) (Bhattacharya *et al*., 2006) y linolénico conjugado (CLNA) (Bialek *et al*., 2017), así como los AG de cadena ramificada (AGCR) (Vahmani *et al*., 2019; Taormina *et al.*, 2020; Gómez-Cortés y De la

Fuente, 2020). Sin embargo, debido a la actual falta de intervención dietética o estudios de cohortes que muestran beneficios significativos de estos AG en humanos, no hay pautas dietéticas reconocidas para su ingesta.

1.4.1. Ingesta de carne y aporte graso

La carne de rumiantes forma parte de la dieta humana desde hace millones de años (Lee-Thorp *et al.*, 1994), siendo de especial relevancia el consumo de carne roja en una dieta balanceada (Mann, 2000), entendiendo como tal aquella procedente de ternera, cerdo, cordero, cabra o caballo (Keeton y Dikeman, 2017) y, preferiblemente, magra (<5% grasa, Food Advisory Committee, 1990). La carne roja juega un importante papel en la nutrición humana debido a su valor nutritivo como fuente de proteínas de alto valor biológico, incluyendo todos los aminoácidos esenciales y micronutrientes (minerales como el hierro y el zinc y vitaminas del grupo B, por ejemplo) cruciales para un estado de salud óptimo (Williamson *et al.*, 2005). Sin embargo, la carne roja se ha asociado, en general, con un elevado contenido graso, específicamente ácidos grasos saturados, y con niveles de colesterol considerables; estando relacionado el consumo de estos, en cantidades excesivas o moderadas, con un aumento en el riesgo de padecer diversas enfermedades crónicas (Serra-Majem *et al.*, 1995) como las cardiovasculares, cáncer o diabetes, entre otras patologías recogidas en diferentes meta-análisis (Micha *et al.*, 2010; Pan *et al.*, 2011; Larsson y Orsini, 2014). Como consecuencia, durante las décadas pasadas, han emergido numerosas campañas recomendando la reducción del consumo de carne roja con el fin de establecer una dieta saludable y prevenir la incidencia a nivel mundial de este tipo de enfermedades crónicas, estando su consumo todavía muy cuestionado incluso desde el punto de vista científico, sugiriendo en la reciente revisión realizada por Ekmekcioglu *et al.* (2018) y en el trabajo de Bellavia *et al.* (2016), la necesidad de buscar alternativas más saludables.

El consumo de carne de rumiantes es particularmente criticado por contribuir a la ingesta total de grasa y, específicamente, de AGS y ácidos grasos *trans* (*t*AG), como consecuencia de la elevada proporción que presenta de estos AG, resultantes de la extensa biohidrogenación de los AGPI en el rumen (Jiménez-Colmenero *et al.*, 2001). La carne y los productos cárnicos suponen un notable aporte a la ingesta total de grasa, por tanto, la importancia de la composición de ácidos grasos en la salubridad y calidad de la carne, ha contribuido al desarrollo de directrices específicas por parte de la OMS en relación con

las grasas de la dieta, considerando, como se ha comentado, la proporción de grasa total, de *t*AG y de colesterol, los objetivos nutricionales clave para la salud pública (Kraft *et al.*, 2008).

Los ácidos grasos se depositan como fosfolípidos estructurales (membranas celulares y orgánulos) y como lípidos neutros (TG) en: i) la grasa intramuscular (GIM) (veteado entre las fibras dentro de los músculos), ii) la grasa intermuscular (entre diferentes músculos) y iii) la grasa subcutánea (GSC). La deposición y distribución de la grasa en la canal/animal y los perfiles de AG en los tejidos son extremadamente variables e influenciables por la genética, edad, sexo, sistema de alimentación-producción y/o técnica de sacrificio (Raes *et al.*, 2004a; Scollan *et al.*, 2006a; Wood *et al.*, 2008). La grasa subcutánea tiene función de reserva energética, formada principalmente por TG con elevada proporción de AGS, en contraste con la acumulación de lípidos dentro de los músculos, pues la GIM se compone mayoritariamente de fosfolípidos con acumulación preferencial de AGPI de cadena larga, aunque las concentraciones de estos se reducen con la presencia de TG de lípidos neutros y de AGS a medida que el ganado envejece y/o engorda acumulando una mayor GIM.

La grasa intramuscular de la carne de rumiantes contiene de media 40-50% de AGS, 35-45% AGMI y alrededor del 5% AGPI (Jiménez-Colmenero *et al.*, 2001; Scollan *et al.*, 2006a), constituyendo los productos intermedios de la BH, específicamente los *t*18:1, un porcentaje mucho más bajo (2,6-4,5 % del total de AG) (Mapiye *et al.*, 2015).

La GIM de rumiantes muestra normalmente una relación AGPI/AGS ~ 0,15, siendo la de la GSC todavía menor debido al menor nivel de AGPI (Wood *et al.*, 2008), lo que podría no ser de importancia si se elimina o evita su consumo (o interesante si se enriquece en otros compuestos).

Sin embargo, como se ha citado anteriormente, el contenido graso de la carne y su valor nutritivo está influenciado por numerosos factores, mostrando por ejemplo las razas de carne magra o procedente de sistemas de producción basados en forrajes, un contenido relativamente bajo de grasa intramuscular (2-5%) (Scollan *et al.*, 2006a; 2014). Además, atendiendo a su valor nutritivo, habría que tener en cuenta la composición y distribución individual de AG dentro de cada grupo/clase en la carne.

1.4.2. La composición en ácidos grasos de la carne

Los **AGS** son AG de cadena lineal, totalmente hidrogenados, sin ningún doble enlace, siendo el objetivo principal de reducir la ingesta de AGS, el minimizar el incremento en el riesgo de incidencia de enfermedades coronarias debido a la dieta; sin embargo, el 18:0 representa el 30-40% de los AGS en carne de rumiantes, siendo un AG conocido por sus efectos neutros sobre el perfil lipoproteico sanguíneo y el desarrollo de enfermedades coronarias (Williamson *et al.*, 2005) en comparación con los efectos hipercolesterolémicos del 12:0, el 14:0 y el 16:0 (Williams, 2000; Givens, 2005). Recientemente, Astrup *et al.* (2019) indicaron que, además, los efectos de los AGS individuales podrían estar influenciados por el resto de la matriz alimento (componentes alimento).

Los AGS pueden presentar una o varias ramificaciones en su cadena lineal (AGCR), preferentemente cerca del extremo metilo terminal de la cadena de carbono, siendo predominante el grupo metilo lateral y distinguiéndose los ácidos grasos *iso*-AGCR y *anteiso* (*aiso*)-AGCR en función de si el metilo está unido al penúltimo o al antepenúltimo carbono de la cadena, respectivamente, y los poli-metilados, cuando hay más de una ramificación.

La leche, los productos lácteos y la carne son la mayor fuente de **AGCR** en la dieta humana. En los rumiantes, los AGCR de cadena impar con un grupo metilo son sintetizados por los microorganismos ruminales, específicamente bacterias y protozoos (Or-Rashid *et al*., 2007) que transforman los aminoácidos dietéticos de cadena ramificada (leucina, isoleucina y valina) en ácidos carboxílicos ramificados de cadena corta (isovalérico, 2-metil-butírico e isobutírico, respectivamente), produciéndose su elongación posterior mediante la actividad de la enzima ácido graso sintasa de los microorganismos (Kaneda, 1991). Los *iso* de cadena par se originan a partir del ácido isobutírico, mientras que los *iso* y *anteiso* de cadena impar se generan a partir de los ácidos isovalérico y 2- metil-butírico, respectivamente. El perfil de AGCR que se origina tras la digestión ruminal está, por tanto, fuertemente ligado a la actividad de los microorganismos presentes (Vlaeminck *et al*., 2006a; Bas *et al*., 2003). Las bacterias celulolíticas poseen contenidos destacados de AGCR *iso* de cadena impar (Fievez *et al*., 2012) mientras que mayores proporciones de *anteiso* 15:0 indicarían la presencia de bacterias especializadas en la fermentación de pectina y azúcares (Bessa *et al*., 2009), conteniendo una menor proporción de AGCR las bacterias amilolíticas, pero con mayor

presencia de los de cadena impar (Vlaeminck *et al*., 2006a). Investigaciones recientes señalan la posibilidad de síntesis endógena de algunos AG de cadena impar (15:0 y 17:0) y ramificada (*iso* 17:0 y *anteiso* 17:0) (Dewhurst *et al*., 2007; French *et al*., 2012; Vlaeminck *et al*., 2015). Los primeros trabajos llevados a cabo en este campo demostraron que 15:0 y 17:0 podrían ser sintetizados *de novo* en la glándula mamaría de rumiantes utilizando propionil-CoA en lugar de acetil-CoA como molécula cebadora o iniciadora (Massart-Leën *et al*., 1983). Otros investigadores reportaron incrementos en los contenidos de *iso* 17:0 y *anteiso* 17:0 en grasa láctea, respecto a su presencia en el fluido intestinal, indicativo de la síntesis mamaria de los AGCR *iso* y *anteiso* (Vlaeminck *et al*., 2006a; Dewhurst *et al*., 2007).

En comparación con los ácidos grasos más abundantes en carne de vacuno (16:0, 18:0 y 18:1), el contenido de AGCR es mucho menor, con aportaciones inferiores al 2% del total de ácidos grasos (Vahmani *et al*., 2020). A pesar de ser cuantitativamente irrelevantes, los AGCR han despertado gran interés porque investigaciones llevadas a cabo durante los últimos años han mostrado su potencialidad como componentes bioactivos y su relevancia nutricional. Los AGCR han mostrado potenciales efectos inhibitorios sobre células tumorales (Wongtangtintharn *et al*., 2004; Cai *et al*., 2013; Vahmani *et al.,* 2019), siendo estas funciones específicas de su estructura. Además, su contenido en los lípidos de rumiantes puede servir como indicador biológico de la función ruminal (Vlaeminck *et al*., 2006a; Fievez *et al*., 2012). Sin embargo, en una revisión reciente, Taormina *et al.* (2020) revelan la escasez de investigación científica sobre la relación entre los AGCR de la dieta y el riesgo de enfermedad, demandándose más estudios clínicos y epidemiológicos para aclarar las diversas asociaciones de los AGCR, incluidas propiedades anticancerígenas y antiinflamatorias (Gómez-Cortés *et al*., 2020), con su influencia favorable en la salud a nivel celular y sistémico *in vivo*. En todo caso, Taormina *et al*. (2020) concluyen que los AGCR podrían ser un prometedor biomarcador útil y complementario de la ingesta de grasas de rumiantes.

Los **AGMI** son AG que presentan un doble enlace en su estructura, apareciendo éste en configuración *cis* o *trans*, según la orientación de los átomos de hidrógeno en el doble enlace sea idéntica u opuesta. La mayoría de los AG insaturados de la dieta se encuentran en configuración *cis*, estando, generalmente, sus dobles enlaces, en el átomo de carbono en la posición 3, 6 o 9, contando desde el extremo metilo terminal. Las dietas con elevada proporción de *c*AGMI se han relacionado con beneficios para la salud al

reducir la inflamación y los factores de coagulación sanguínea (sin reducir HDL, Williamson *et al*., 2005), en comparación con los AGS que aumentan las LDL; siendo deseado un aumento en el nivel de ácido oleico (OA, *c*9-18:1) por considerarse antiaterogénico e hipocolesterolémico (reduce LDL y aumenta HDL y colesterol total) (Molketin, 2000). En el caso concreto de la carne de rumiantes, los *c*AGMI representan el 35-50% de AG totales, siendo precisamente el OA el más abundante y estando considerado como se ha citado anteriormente, como un AG beneficioso para el corazón (Schwingshackl y Hoffmann, 2014).

La mayoría de **AGPI** en mamíferos se encuentran en los fosfolípidos de membrana y el interés de aumentar su consumo derivó inicialmente de su potencialidad para reducir el riesgo de desarrollar ECV al elevar los niveles plasmáticos de HDL mientras reducen tanto el colesterol total en plasma como los niveles de LDL (Wijendran y Hayes, 2004). Los AGPI son AG con más de un doble enlace y su clasificación en función de la longitud de la cadena distingue entre los de cadena corta (<19 carbonos) y cadena larga (20-24 carbonos) (AGPICL) (Ratnayake y Galli, 2009), diferenciándose además dos familias principales, omega-6 (*n-6*) y omega-3 (*n-3*) AGPI representadas respectivamente por los ácidos linoleico (LA, C18:2*n-6*) y α-linolénico (LNA C18:3*n-3*). Generalmente, los *c*AGPI de origen natural poseen dobles enlaces interrumpidos por un grupo metileno, empleándose la notación *n* para identificar la posición del primer doble enlace, contando desde el extremo metílico de la molécula (ej. 18:2*n*-6 => *c*9,*c*12-18:2; 18:3*n-3*=> *c*9,*c*12,*c*15-18:3).

Los AGPI LA y LNA se consideran esenciales (no pueden sintetizarse *de novo*) para la síntesis de moléculas clave que controlan las principales funciones fisiológicas en los humanos, por lo que deben proporcionarse con la dieta. Son precursores de sus metabolitos de cadena larga (AGPICL), resultado de una serie de desaturaciones y elongaciones escalonadas, bajo un complejo control enzimático (enzimas lipogénicas: Δ5 y Δ6 desaturasas y elongasas) (Smith, 2006).

El LA se metaboliza a ácido araquidónico (ARA, ácido *c*5,*c*8,*c*11,*c*14-eicosatetraenoico, 20: 4*n-6*), mientras que el ALA se metaboliza a los ácidos eicosapentaenoico (EPA, 20:5*n-3*), docosapentaenoico (DPA, 22:5*n-3*) y docosahexaenoico (DHA, 22:6*n-3*) (Simopoulos, 2002). La conversión de LA y LNA en sus derivados AGPICL se considera baja e ineficiente en mamíferos (Pawlosky *et al.*, 2001), estando controlada por muchos factores biológicos; por tanto, los humanos

dependen considerablemente de la aportación directa de AGPICL mediante la dieta (Chapkin, 2008); pues, los AGPICL tisulares, tienen un papel especialmente importante en la producción de eicosanoides (Zhou y Nilsson, 2001), compuestos relacionados con el mantenimiento de la función e integridad de las membranas celulares y la regulación de los niveles plasmáticos de lípidos, además de modular la respuesta inmune e inflamatoria del cuerpo por ser precursores de varias sustancias mediadoras como las hormonas: prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos (Ratnayake y Galli, 2009). Ambas familias de AGPI, a nivel fisiológico, son metabólica y funcionalmente distintas debido a las propiedades biológicas opuestas de los eicosanoides, derivados de los *n-6*AGPICL y *n-3*AGPICL por actividad de las ciclooxigenasas y las lipooxigenasas, pudiendo generalizarse que los *n-6*AGPICL son proinflamatorios y los *n-3*AGPICL antiinflamatorios (Lee y Hwang, 2008; Russo, 2009).

Debido a estas actividades antagónicas, el desequilibrio observado en la proporción de *n-6/n-3* AGPI mediante una dieta rica en *n-6*, como las actuales, promovería un estado fisiológico protrombótico, proagregante y proinflamatorio (Simopoulos, 2006), contribuyendo a la etiología de numerosos estados patológicos que incluyen enfermedades cardiovasculares, cáncer, osteoporosis y enfermedades inflamatorias y autoinmunes (Simopoulos, 2002; Ailhaud *et al.*, 2006). Alternativamente, respecto a la familia *n-3* AGPI, los estudios han indicado que el DHA es esencial para la función neurológica, exhibiendo, además, fuertes efectos cardiovasculares positivos (Connor, 2000), así como el consumo de EPA y DHA puede reducir el riesgo de algunas enfermedades inflamatorias y neurológicas (Griffin, 2008). La función del DPA no se ha investigado tan extensamente como las de EPA o DHA; sin embargo, podría ser un inhibidor más potente que EPA y DHA frente a la agregación plaquetaria (Akiba *et al.*, 2000). Por tanto, el equilibrio entre los AGPI *n-6* y *n-3* en las dietas humanas es esencial para la homeostasis, proporcionando la ingesta de los ácidos grasos esenciales LA y LNA, y, particularmente la de los metabolitos *n-3*AGPICL, numerosas ventajas asociadas con beneficios para la salud (Howe *et al.*, 2006). Sin embargo, en la modulación de las proporciones relativas de *n-6* y *n-3* AGPICL, a nivel tisular, están involucrados numerosos mecanismos, limitándose especialmente la deposición de *n-3*AGPICL debido a la competencia entre *n-3* y *n-6* para su absorción en los enterocitos del intestino y a nivel del tejido periférico por el uso de las enzimas de elongación y desaturación (Lee y Hwang, 2008).

La investigación nutricional se ha centrado en los beneficios para la salud tanto del EPA como del DHA, sintetizados endógenamente en niveles insuficientes para cumplir con los requisitos de *n-3*AGPICL (Lourenço *et al.*, 2008), para los que se han enunciado declaraciones de propiedades saludables y aprobado el uso de las mismas en ciertos alimentos y psuplementos dietéticos en relación con su capacidad para reducir el riesgo de hipertensión y enfermedades coronarias (FDA, 2019). Con el fin de incrementar el consumo de *n-3*AGPICL, naturalmente presentes en fuentes marinas (pescados y algas), la industria alimentaria ha desarrollado y fomentado durante los últimos 20 años complementos alimentarios enriquecidos; sin embargo, existe la posibilidad de lograr un enriquecimiento natural en los alimentos de origen animal (De Henauw *et al.,* 2007) que contribuyan a la reducción de la relación *n-6/n-3*, esta alteración del perfil lipídico de la carne es a través de la modificación de la alimentación del ganado bovino.

El contenido en *n-3*AGPI de la carne es bajo, en comparación con el aceite de pescado, pero puede llegar a ser una parte muy importante de los requerimientos de *n-3*AGPICL en la dieta humana (20%), debido al bajo consumo general de pescado en ciertas poblaciones (Scollan *et al.*, 2001; De Henauw *et al.*, 2007; Grosso *et al*., 2016), especialmente si se tiene en cuenta la contribución del DPA a los *n-3*AGPICL, pues es, normalmente, el más concentrado y el intermedio en la conversión de EPA a DHA, jugando, por tanto, un papel importante en el mantenimiento de la salud, aunque sus efectos sobre la salud hayan sido menos explorados (Solakivi *et al.*, 2005; Howe *et al.*, 2006). El enriquecimiento de *n-3* en la carne de rumiantes supondría una importante mejora en la ingesta para aquellas poblaciones que consumen cantidades excesivas o moderadas de carne (Simopoulos, 1999; Howe *et al.*, 2006; 2007). Durante las últimas dos décadas se ha destacado la importancia de aumentar el nivel de *n-3* en carne buscando las estrategias de alimentación más adecuadas para dicho objetivo, tanto en carnes de rumiantes como no rumiantes, como se indica en numerosas revisiones en la literatura (Scollan *et al.*, 2006a; Pereira y Vicente, 2013; Dugan *et al.*, 2015; Mapiye *et al.*, 2015; Ponnampalam *et al.*, 2018; Vahmani *et al*, 2020).

Especial atención han recibido un grupo de **AG insaturados con uno o más dobles enlaces en configuración *trans***, que se encuentran de manera natural en los productos de rumiantes como intermedios de la BH ruminal de los AGPI de los lípidos de la dieta (forrajes, granos de cereales, semillas oleaginosas…) (Lee y Jenkins, 2011; Buccion *et al.*, 2012), o se originan artificialmente durante el procesado industrial de

aceites vegetales (Craig-Schmidt y Holzer, 2000). Los de origen natural se forman en el rumen, tras la liberación, mediante las lipasas, de los AGPI; siendo, posteriormente, biohidrogenados mediante reacciones de isomerización y saturación llevadas a cabo por las bacterias ruminales para moderar los efectos tóxicos que esos AGPI libres causan sobre el crecimiento microbiano (Jenkins *et al.*, 2008). El resultado es una gran variedad de compuestos denominados intermedios de BH que incluyen ácidos grasos *trans* trienoicos y dienoicos conjugados, principalmente ácido linoleico y linolénico (CLA y CLNA) y dienos atípicos no conjugados (nCLA), y ácidos *trans* monoenoicos, principalmente *trans* octadecenoicos (*t*18:1), que finalmente se convierten en ácido esteárico (18:0) (Dugan *et al.*, 2011; Mapiye *et al.*, 2015). La vía de BH dominante de LA es a través de su isomerización a CLA, principalmente ácido ruménico (*c*9,*t*11-18:2, RA ó $CLA_{c9,t11}$), que se hidrogena adicionalmente a ácidos (*t*18:1), principalmente ácido vaccénico. (*t*11-18:1, TVA) y finalmente a 18:0.

La BH de LNA implica la isomerización a CLNA, principalmente ácido rumelénico (*c*9,*t*11,*c*15-18:3, RLA), seguido de una hidrogenación progresiva a nCLA, principalmente *t*11,*c*15-18:2, a TVA y finalmente a 18:0 como producto final. La BH es un proceso muy eficiente y que, en general, aproximadamente el 80% de LA y el 92% de ALA se biohidrogenan en el rumen (Doreau y Chilliard, 1997), por lo que las cantidades de estos intermedios de BH que llegan al duodeno y, posteriormente, se absorben e incorporan a los lípidos tisulares son residuales (Mapiye *et al*., 2015; Dugan *et al.*, 2018; Toral *et al.*, 2018).

El interés en los *t*AG se ha centrado en los posibles efectos negativos de los ácidos grasos *trans* sobre la salud, incrementando el riesgo de padecer ECV, así como sobre el metabolismo de los ácidos grasos esenciales *n-6* y *n-3*, en particular en relación con el crecimiento infantil (Willett *et al.*, 1993; Friesen y Innis, 2006); asociándose su ingesta (4-6% de la energía de la dieta) con las enfermedades coronarias y el riesgo de aterosclerosis (Williamson *et al.*, 2005; Prates y Bessa, 2009). Sin embargo, hoy en día, la ingesta de *t*AG tiene una tendencia a disminuir, principalmente, debido a los esfuerzos de la industria para reemplazar o reducir el contenido de *t*AG en los alimentos (Craig-Schmidt, 2006). Los principales *t*AG en la dieta son los *t*18:1, que contribuyen a aproximadamente el 80-90% del contenido total de *t*AG en los alimentos, mientras que los ácidos grasos *trans*-poliinsaturados (CLA, CLNA, nCLA) aparecen sólo en pequeñas cantidades (revisado por Larqué *et al.*, 2001).

La contribución de ***t*18:1**procedente de la grasa de rumiantes en la dieta oscila entre el 30% y el 80% del total de *t*AG correspondiente al 0,3-0,8% de la energía ingerida (Craig-Schmidt, 2006; Prates y Bessa, 2009). Aunque las recomendaciones de las organizaciones de salud pública son la reducción del contenido de *t*AG total en los alimentos, se ha informado cada vez más de que los diferentes *t*18:1 tienen efectos biológicos distintos. La distinción en los efectos observados en función de su origen debería realizarse, pues se ha demostrado que aquellos *t*18:1 con el doble enlace en una posición Δ6-Δ16, como los isómeros *t*9-18:1 (ácido elaídico o ácido *trans*9-octadecenoico) y *t*10-18:1 son más efectivos para aumentar la proporción de colesterol plasmático (Williams, 2000; Roy *et al.*2007) que el *t*11-18:1 (TVA), siendo éste el principal *t*AG en la carne de rumiantes y precursor endógeno del $CLA_{c9,t11}$ (Corl *et al.*, 2001), además de estar recientemente asociado con potenciales efectos beneficiosos (Salter, 2013; Scollan *et al.*, 2014), independientemente de los derivados de su desaturación a $CLA_{c9,t11}$, aunque el mecanismo de acción no sea completamente conocido (Gómez-Cortés *et al*., 2018; 2019). El perfil de *t*AG en la carne de rumiantes está dominado por los *t*18:1 (2,6-4,5 % del total de grasa), contribuyendo el TVA y el *t*10-18:1 entre el 60 y el 90% del total de *t*AG (Dugan *et al.*, 2011; Mapiye *et al.*, 2015). La distribución individual de los isómeros *t*18:1 en la carne y la proporción total de estos que pasa del rumen al duodeno, está controlada principalmente por los niveles en la dieta de sus precursores y las condiciones de BH en el rumen (Lee y Jenkins, 2011). Dado que los isómeros *t*18:1 en la carne de vacuno parecen tener efectos diferentes (Gebauer *et al.*., 2011; Vahmani *et al.*, 2015b; Menaa *et al.*, 2013; 2016), la manipulación del perfil *t*18:1 de la carne de vacuno con el fin de reducir las proporciones de isómeros *t*18:1 potencialmente perjudiciales (es decir, *t*10-18:1) y al mismo tiempo aumentar las de aquellos potencialmente beneficiosos (es decir, TVA), es de gran importancia para mejorar la seguridad alimentaria y la nutrición. No obstante, los efectos de los *t*AG derivados de productos de rumiantes en la salud humana aún no se han aclarado por completo y cantidades elevadas de estos ácidos grasos en los productos para rumiantes deben considerarse con precaución.

Por otra parte, el **$CLA_{c9,t11}$** (RA) constituye entre el 75 y el 90% del CLA que se encuentra en los productos de rumiantes, representado el isómero *t*10,*c*12-18:2 ($CLA_{t10,c12}$) entre 1-2% adicional (Lock y Bauman, 2004). El consumo de carne enriquecida en $CLA_{c9,t11}$ exhibió propiedades anticarcinogénicas en ratones hace 3

décadas (Ha *et al*., 1987) y los estudios posteriores se basaron en le uso de CLA sintético (mezcla de ambos isómeros mayoritarios), encontrándose propiedades adicionales (Dilzer y Park, 2012). Las numerosas revisiones recientes sobre los efectos del CLA en la salud y sus mecanismos de acción (Fuke y Nornberg, 2017; Yang *et al.*, 2015), indican que el isómero CLA$_{c9,t11}$ se ha asociado con efectos beneficiosos entre los que se incluyen capacidades para reducir la inflamación, la esteatosis hepática, la resistencia a la insulina, la incidencia de cáncer y la mejora del perfil colesterol plasmático en modelos animales (Ferlay *et al*., 2017; Gebauer *et al.*, 2011; Reynolds y Roche, 2010; Wang *et al*., 2010; Gómez-Cortés y De la Fuente, 2010). Sin embargo, los hallazgos de los estudios epidemiológicos en humanos sobre los efectos de la ingesta de CLA$_{c9,t11}$ y la incidencia del cáncer son inconsistentes y no están confirmados; mostrando en cambio el consumo de derivados lácteos enriquecidos con TVA y CLA$_{c9,t11}$ efectos positivos en la reducción de los TG en sangre (Gebauer *et al.*, 2015) y los marcadores inflamatorios (Penedo *et al.*, 2013; Sofi *et al.*, 2010). Contrariamente, el CLA$_{c9,t11}$ no mostró efectos sobre la grasa corporal, siendo responsable de su reducción el CLA$_{t10,c12}$ (Dilzer y Park, 2012). Numerosos trabajos indican que los productos derivados de animales rumiantes, incluida la leche (Pestana *et al.*, 2009), los productos lácteos (Martins *et al.*, 2007) y la carne (Dannenberger *et al.*, 2005; Schmid *et al.*, 2006) son las fuentes más importantes de CLA$_{c9,t11}$ en la dieta humana (Jahreis y Kraft, 2002). Se ha informado que los niveles de CLA total en varios alimentos varían desde cantidades insignificantes en los aceites de mariscos y vegetales (0,2 mg/g grasa) hasta niveles más altos en la grasa de la leche (30 mg/g grasa), representando la carne y los productos cárnicos alrededor del 25-30% de la ingesta total de CLA en las poblaciones occidentales (Chin *et al.*, 1992; Parodi, 1999). Las concentraciones de CLA en la carne de bovino varían entre 3,4 y 8,2 mg/g grasa, siendo el rango de variación del CLA$_{c9,t11}$ entre 2,3 y 6,2 mg/g grasa; existiendo además, muchos otros isómeros CLA en menor concentración de los cuales existe un conocimiento limitado de su posible bioactividad y mecanismos de acción, así como para los de nCLA y CLNA, también minoritarios (Vahmani *et al*., 2020).

La carne de rumiante ha sido criticada por los profesionales de la salud por su alto contenido de AGS, sin embargo, numerosas investigaciones llevadas a cabo durante las últimas décadas, con el objetivo de profundizar en el conocimiento de los mecanismos que intervienen en la modificación del perfil lipídico de la carne de rumiantes y en los efectos de ciertos AG específicos sobre la salud humana, en la búsqueda de una

composición más saludable, evidencian que la carne de rumiantes, además de poseer una elevada proporción de *c*AGMI, principalmente OA, y de suponer un notable aporte de *n-3*AGPICL, puede distinguirse por su contenido en AGCR y AG intermedios de la BH ruminal, como el TVA, el $CLA_{c9,t11;}$ siendo, por tanto, fuente de AG minoritarios con posibles beneficios (lípidos bioactivos), más allá de su valor nutricional básico, como se recoge en la reciente revisión de Vahmani *et al.* (2020).

Teniendo en cuenta estas demandas de la comunidad científica sobre la importancia de profundizar en el conocimiento de los AG y de sus efectos isómero-específicos, se ha requerido también la necesidad de una determinación inequívoca. La grasa de la carne de rumiantes tiene el perfil de ácidos grasos más complejo y diverso entre las grasas derivadas de carne, presentando gran variedad de lípidos en concentraciones muy variables con importantes y diferentes funciones estructurales, metabólicas y funcionales; pareciéndose poco a la composición de ácidos grasos de la dieta (Scollan *et al.*, 2017; Dugan *et al.*, 2018). Por ello, se ha avanzado paralelamente en el desarrollo de numerosas técnicas analíticas para la identificación y cuantificación, de compuestos específicos en los tejidos animales.

Los avances en la mejora de la metodología analítica de isómeros *t*18:1 e isómeros del CLA han sido notables en los últimos años. El análisis de AG procedentes de muestras biológicas o alimentos implica, generalmente, tres pasos: extracción de lípidos, conversión de los lípidos extraídos a ésteres metílicos de ácidos grasos (AGME) y análisis de los AGME mediante cromatografía de gases (GC) para la determinación del perfil. La preparación y extracción de muestras es clave, ya que pueden provocar la destrucción y/o extracción incompleta de lípidos. Los dos métodos establecidos que se aplican actualmente para la extracción total de lípidos de alimentos o matrices biológicas se basan en el método de Folch (Folch *et al.*, 1957) y el procedimiento de Bligh y Dyer (1959) o modificaciones de estos (Christie, 1993a; 2008). Los derivados más comunes utilizados para el análisis cromatográfico de la composición de ácidos grasos, incluidos los isómeros de CLA, en la carne y los productos lácteos, son los derivados AGME, preparados por reacción con exceso de metanol en presencia de cantidades catalíticas de ácido o base. Los AGME, se prefieren debido a su mayor volatilidad y resolución superior por cromatografía de gases (GC), además de ser químicamente simples (Cruz-Hernandez *et al.*, 2006). En el análisis de ácidos grasos se han aplicado diferentes procedimientos de transesterificación catalizada por ácidos y/o bases (Christie, 1993b),

confirmándose en numerosos trabajos que la transterificación catalizada por ácido es indeseable, en general, para la preparación de AGME poliinsaturados por las posibles isomerizaciones geométricas y formación de isómeros *trans*, y numerosos artefactos (Christie *et al.*, 1993a;b; 2001; 2007; 2008). Por otro lado, los ácidos grasos libres y los N-acil lípidos (es decir, esfingolípidos y glucoesfingolípidos) no son metilados por catalizadores básicos (Kramer *et al.*, 1997). De hecho, no existe un procedimiento de derivatización único que aborde adecuadamente cada una de estas deficiencias. Por ello, se han recomendado metilaciones consecutivas (procedimiento de transterificación combinada) para la derivatización de lípidos cárnicos en particular (Cruz-Hernandez *et al.*, 2006; Nuernberg *et al.*, 2007).

Los avances tecnológicos recientes han permitido la identificación y caracterización de isómeros específicos de ácidos grasos presentes en productos derivados de rumiantes. La cromatografía capilar de gases es, con mucho, el método más extendido y disponible para el análisis de ácidos grasos y la disponibilidad de columnas más largas (100 m o más) permite la resolución óptima de una amplia gama de AGS, AGMI y AGPI. Sin embargo, la separación efectiva de los isómeros geométricos y posicionales de los ácidos 18:1 y 18:2 por GC, incluso cuando se utilizan columnas capilares de 100 m, es incompleta y sobrestima el isómero principal, $CLA_{c9,t11}$, debido a su extensa superposición con otros isómeros *trans,trans*- y *cis/trans*-18:2, coeluyendo normalmente con el *t*7,*c*9- y *t*8,*c*10-18:2) (Yurawecz *et al*., 2001; Murru *et al.*, 2003). La información detallada sobre la composición del isómero CLA se puede mejorar con la cromatografía líquida de alta resolución con iones de plata (Ag^+-HPLC), convirtiéndose en una metodología importante en el fraccionamiento y caracterización de lípidos (Dobson, 2003). El complemento de nuevas técnicas a la GC, como la Ag^+-HPLC, la espectrometría de masas (MS) o la espectroscopía de resonancia magnética nuclear, han permitido una evaluación completa y precisa de todos los ácidos grasos e isómeros de CLA (Kramer *et al.*, 2004; Aldai *et al.*, 2006a; Cruz-Hernandez *et al.*, 2006; Nuernberg *et al.*, 2007).

1.5. ESTRATEGIAS DE ALIMENTACIÓN ANIMAL PARA MEJORAR EL PERFIL LIPÍDICO DE LA CARNE DE RUMIANTES

1.5.1. Metabolismo ruminal de lípidos

En los rumiantes, casi todos los principios inmediatos ingeridos, son atacados por la microflora presente en los preestómagos. Las dietas de ganado bovino normalmente contienen entre 1-4% lípidos, principalmente AGPI, incluyendo LA y LNA. En el rumen, los lípidos ingeridos en la dieta son hidrolizados por los protozoos (30% de la actividad lipolítica total (Lathan *et al.*, 1972) y por las bacterias, liberando así sus componentes esenciales, glicerol y ácidos grasos (Doreau y Chilliard, 1997). El glicerol es fermentado en ácido propiónico, a través del ácido succínico y del ácido láctico. Los AGPI libres son sometidos a reacciones sucesivas de isomerización e hidrogenación, formándose gran variedad de intermedios CLA y *t*18:1, siendo estos últimos los mayoritarios y saturándose finalmente a 18:0 como producto final. (Harfoot y Hazlewood, 1997). El LNA es el AG ingerido en mayores cantidades por los rumiantes que realizan pastoreo, mientras que en los rumiantes que reciben concentrado, el LA es mayoritario. Las principales rutas de BH que siguen ambos AGPI fueron identificadas desde hace años, sin enmbargo, las rutas de formación de diversos intermedios BH en los productos de rumiantes no se conocen con exactitud, existiendo diversos factores que pueden alterar y/o modular las distintas etapas de este proceso; por ejemplo, una disminución del pH ruminal altera la población bacteriana (Van Soest, 1994), afectando a las reacciones de BH e isomerización y, apareciendo, en esta situación, rutas alternativas que generan mayoritariamente *t*10-18:1 en vez de TVA (Bessa *et al.*, 2000).

El metabolismo de carbohidratos en el rumen genera, igualmente, AG de cadena corta (acético, propiónico, butírico) (Harfoot, 1981) que fluyen directamente a la sangre y son hidrolizados como fuente de energía en distintos tejidos.

La digestión de los lípidos, una vez atravesado el rumen, se realiza de igual manera que en los monogástricos: en el estómago por acción de las lipasas gástricas, y en el duodeno, por acción de las hidrolíticas (lipasas, fosfolipasas y enterasas) contenidas en las secreciones biliares y pancreáticas (Berni, 1992).

En algunos tejidos, como el músculo y la glándula mamaria, se producen transformaciones de los lípidos que han sido absorbidos en el intestino. Es característico de la carne y la leche de rumiantes, que su contenido en isómeros del CLA, además de su

origen ruminal a partir del LA, se deba a la contribución de su síntesis endógena en el músculo o en la glándula mamaria a partir del TVA y por acción de la enzima delta-9 desaturasa (Griinari *et al.*, 2000; Kay *et al.*, 2004).

Por tanto, los microorganismos ruminales son los responsables, en gran medida, de la compleja composición AG de la carne y de que no se refleje el perfil de los AGPI de la dieta (Dugan *et al.*, 2011; Vahmani *et al.*, 2015a). La modificación del contenido de grasa en la carne de vacuno y su composición han sido objeto de varias revisiones y, en resumen, la composición puede ser modificada principalmente por la dieta, mientras que el sexo y genética afectan en mayor medida a la cantidad de grasa (Scollan *et al.*, 2001; De Smet *et al.*, 2004; Raes *et al*., 2004; Woods, 2009a; Shingfield *et al.*., 2013). Dentro de los factores relacionados con la dieta, destacan como principales aquellos que tienen la capacidad de alterar el ecosistema ruminal y la digestión de lípidos (Martínez *et al*., 2010), siendo los forrajes y la adición de grasa a la dieta los mayores condicionantes del perfil de AG en productos de rumiantes (leche y carne) (Chilliard y Ferlay, 2004; Scollan *et al.*, 2001). En concreto, influyen notablemente la cantidad de grasa total y de AGPI específicamente (Bessa *et al.*, 2000) el pH ruminal (Van Soest, 1994) y la cantidad de concentrado ingerido, así como su proporción final en la dieta, en relación con el forraje (Van Nevel y Demeyer, 1996).

En este contexto, existe un interés continuo y creciente en la nutrición animal como medida para mejorar la composición de la grasa de la carne de vacuno, desarrollándose numerosas iniciativas para enriquecer su contenido en *n-3*AGPICL o en productos intermedios de la BH ruminal a través de la dieta, como se recoge en varias revisiones actuales (Pereira y Vicente, 2013; Bessa *et al*., 2015; Scollan *et al.*, 2017; Toral *et al.*, 2018; Vahmani *et al.*, 2020). Las estrategias diseñadas para la mejorar del perfil lipídico, con el objetivo de incrementar la ingesta de LNA sobre la de LA, reducir la BH ruminal y proporcionar precursores para la elongación y desaturación a *n-3*AGPICL o a CLA y TVA se han centrado en la selección de los ingredientes de la dieta, que son las fuentes de AGPI, siendo las opciones más efectivas la alimentación a base de forrajes o la suplementación con aceites y semillas oleaginosas, ricas en AGPI, o con aceites de pescado y algas, ricos en EPA y DHA. (Scollan *et al.*, 2001; Vahmani *et al.*, 2015a; 2017b).

1.5.2. Dietas basadas en pastoreo o en forrajes

Los sistemas de alimentación del ganado asociados con el aumento de las proporciones de AGPI en la carne de vacuno, en particular de los *n-3*AGPI, son, frecuentemente, el pastoreo o la alimentación de forrajes preservados (Daley *et al*., 2010; Purchas *et al*.., 2005; Vahmani *et al*., 2015a). La hierba es una fuente importante de alimento para los animales de carne de vacuno, siendo además el LNA su AG mayoritario (~60%, Scollan *et al.*, 2003). El ganado finalizado con una alta proporción de hierba o forrajes en la dieta aumenta la proporción de *n-3*AGPI reduciendo las relaciones *n-6/n-3* y AGS/AGPI, a la vez que aumenta los porcentajes de productos intermedios de la BH, TVA y CLA*c*9,*t*11, específicamente (Freitas *et al.*, 2014; Scollan *et al*, 2014). Las dietas basadas en forraje pueden promover condiciones de rumen propicias para la síntesis de TVA y RA, además de influir en el paso final en la BH de *t*18:1 a 18:0, resultando en un mayor flujo de los productos intermedios de la BH saliendo del rumen. Alimentar a los animales durante los últimos meses en una dieta basada en concentrados para aumentar los niveles de grasa intramuscular, práctica habitual en razas magras, por el contrario, redujo la proporción de LNA, observándose un aumento en las de *t*AGMI, con un cambio de TVA a *t*10-18:1 a medida que aumenta el tiempo de acabado con concentrados (Aldai *et al.*, 2011).

1.5.3. Suplementación con oleaginosas

Más allá de las estrategias para aumentar las cantidades de *n-3*AGPI en la carne de vacuno mediante la alimentación con forrajes, una posibilidad más directa de incrementar los AGPI en la carne, puede ser a través de la suplementación en dietas altas en concentrados con diferentes fuentes lipídicas ricas en AGPI como las oleaginosas vegetales. La composición nutricional de la mayoría de los granos y semillas oleaginosas varía en función de los factores ambientales, la variedad y el método de análisis, en comparación con otras semillas, las de lino (o linaza) poseen un contenido energético promedio de 35%MS, valor intermedio entre la soja (19 %MS) y la semilla de girasol (41 %MS); siendo su contenido proteico (linaza, PB: 23%MS) inferior al de la soja, (42%MS) pero superior al del girasol (18%MS), con un valor similar a la canola (21%MS) y a las semillas de algodón (23%MS) (Lardy *et al.*, 2016).

Sin embargo, las semillas oleaginosas difieren en su contenido graso y ampliamente en la composición de AG de sus lípidos, existiendo siempre uno predominante en el perfil. En la Tabla 1.1 se muestra el contenido de grasa y perfil de ácidos grasos de algunos cereales y semillas empleados como materias primas en nutrición animal, recogidos del trabajo de Paccard *et al*. (2006).

Tabla 1.1. Composición media de ácidos grasos en diferentes cereales y semillas empleados en la alimentación de ganado bovino

	Grasa (%MS)	Oleico C18:1 (*c*9-18:1)	Linoleico C18:2 (*c*9,*c*12-18:2)	α--linolénico C18:3*n-3* (*c*9,*c*12,*c*15-18:3)
		% del total de AG		
Cerelaes y granos				
Trigo	1,5	15,2	56,4	5,9
Triticale	1,4	7,4	41,9	3,6
Cebada	1,8	12,0	55,4	5,6
Maíz	3,7	26,9	56,5	1,0
Semillas oleaginosas				
Colza	42,0	58,0	20,5	9,8
Soja	17,9	21,7	53,1	7,4
Girasol	44,6	20,3	64,9	0,3
Linaza	32,7	18,7	14,5	54,2

Fuente: Paccard *et al*. (2006)

Las semillas de lino contienen ~33%MS de aceite, siendo una de las fuentes más ricas de LNA (50-60%MS), por lo que se incluye con frecuencia en las dietas de ganado bovino en un intento de aumentar los *n-3*AGPI en la carne (Pereira y Vicente, 2013; Kronberg *et al.*, 2006; 2011), siendo, además, una fuente útil de nutrientes para el ganado (Lardy *et al*., 2016).

Complementar las dietas bajas en forraje con altos contenidos de AGPI y/o de almidón, reduce el pH del rumen y cambia la población bacteriana del rumen, pudiendo favorecer el paso ruminal de AGPI, pero produciéndose, normalmente, *t*10-18:1 en vez de TVA y, rresultando, además, en la acumulación de nCLA y otros isómeros CLA a expensas del $CLA_{c9,t11}$ (RA) (Scollan *et al*., 2017; Vahmani *et al*., 2020). A mayores, la forma en que el lípido se ofrece al animal (por ejemplo, aceite vs. semillas enteras) puede tener un efecto importante en el grado de respuesta. La adición de aceite extraído a las dietas es, con frecuencia, menos económica que la alimentación de semillas oleaginosas, las que además podrían ofrecer un cierto nivel de protección frente a la BH.

La alimentación con aceites u oleaginosas en combinación con dietas basadas en forrajes, frente a dietas a base de concentrados, puede producir efectos sinérgicos, favoreciendo el paso ruminal de AGPI y a la vez acumulando intermedios de la BH. En este sentido, Noi *et al.* (2007) documentaron haber observado aumentos notables de TVA y $CLA_{c9,t11}$ en la carne magra y en el tejido adiposo al suplementar a los animales en pastoreo con un concentrado fortificado con aceites vegetales (aceite de girasol o linaza). En general, se ha observado que complementar las dietas basadas en forrajes con *n-6*AGPI, particularmente LA, es la alternativa más eficaz para aumentar las concentraciones de TVA y $CLA_{c9,t11}$ en los tejidos rumiantes (Mapiye *et al.*, 2015; Scollan *et al.*, 2017; Vahmani *et al.*, 2017b), mientras que las fuentes de *n-3* AGPI (semillas de lino, aceite de pescado y algas) elevan las de RLA además del $CLA_{c9,t11}$ y TVA (Bessa *et al.*, 2015).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

OBJETIVOS

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

2. OBJETIVOS

La posibilidad de producir carne con un perfil lipídico más saludable a través de suministrar a los terneros suplementos enriquecidos en semillas de oleaginosas está ampliamente constatado en la bibliografía. Por otra parte, el consumo de hierba fresca puede permitir obtener carne con un perfil de ácidos grasos más saludable de forma más económica y sostenible. Numerosos trabajos científicos sustentan estas posibilidades, sin embargo, debe ser comprobada en terneros de la raza Rubia Gallega.

El **objetivo genérico** de esta Tesis Doctoral es contribuir al mayor conocimiento del efecto del tipo de dieta sobre la producción de carne de la raza Rubia Gallega con un perfil lipídico más saludable, basada en la suplementación con semillas de oleaginosas y en el consumo de pasto. El presente estudio podría impulsar la utilización de los sistemas de alimentación animal, dirigido a futuras estrategias empresariales encaminadas a la diferenciación de la carne en base a su composición. Para alcanzar este objetivo general, el trabajo se ha dividido en cuatro capítulos en los que se abordan los siguientes **objetivos específicos**:

Capítulo I: Evaluar la respuesta animal a la suplementación con aceites en la dieta de terneras de raza Rubia Gallega en términos de producción, variación del perfil lipídico y características de la calidad de la canal y de la carne.

Capítulo II: Estudiar el efecto de la inclusión de semillas oleaginosas en la dieta de acabado de terneras de raza Rubia Gallega sobre el perfil lipídico de su carne y las características de producción animal, calidad de la canal y calidad organoléptica de la carne.

Capítulo III: Estudiar el efecto del nivel de linaza suplementado en la dieta de acabado de terneros macho y hembra de raza Rubia Gallega sobre la composición de ácidos grasos de la carne y las características de producción animal, calidad de la canal y calidad organoléptica de la carne.

Capítulo IV: Comparar el efecto del consumo de pasto en la fase de acabado de terneros de raza Rubia Gallega, suplementados con pienso enriquecido en linaza, sobre el perfil lipídico de su carne, las características de producción animal, calidad de la canal y calidad organoléptica de la carne.

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

METODOLOGÍA GENERAL

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

3. METODOLOGÍA GENERAL

3.1. DISEÑO EXPERIMENTAL Y MANEJO ANIMAL

El estudio de la modificación del perfil lipídico se realizó con animales jóvenes (<1 año) de raza RG, mediante la suplementación con concentrados enriquecidos en AGPI a través de diferentes fuentes oleaginosas, y, en consecución de los objetivos propuestos para la presente Tesis, se plantearon los cuatro ensayos que constituyen los Capítulos I, II, III y IV (Figura 3.1).

	Nº	Sexo	Sistema Manejo	Período Pastoreo (días)	Período Establo (días)	Suplementación durante el acabado	Sacrificio (días)
CAPÍTULO I	21	Hembras	Semiextensivo	210 d	90 d	**(L)** Acetite Lino (4,5%MS) **(G)** Aceite Girasol (4,5%MS) **(SJ)** Aceite Soja (4,5%MS)	300 d
CAPÍTULO II	32	Hembras	Semiextensivo			**(C)** Concentrado Control **(SL)** Semilla Lino (10%MS) **(SG)** Semilla Girasol (10%MS) **(SSJ)** Semilla Soja (19%MS)	
CAPÍTULO III	24 24	Hembras Machos	Semiextensivo			**(L5)** Semilla Lino (5%MS) **(L10)** Semilla Lino (10%MS) **(L15)** Semilla Lino (15%MS)	
CAPÍTULO IV	24	Machos	Extensivo Semiextensivo en pastoreo Semiextensivo en cebadero	300 d 210 d	0 d 90 d	**(P)** Pastoreo sin concentrado **(LP)** Semilla Lino (10%MS) en pastoreo **(LC)** Semilla Lino (10%MS) en cebadero	

Figura 3.1. Esquema del diseño experimental para cada uno de los ensayos realizados en la presente Tesis

La Figura 3.1 muestra un esquema del diseño experimental del estudio completo, pero en cada uno de los Capítulos, se describe detalladamente en la sección correspondiente, el

material animal, sistema de producción y dietas experimentales empleadas. El estudio cumplió rigurosamente con las políticas de la UE con respecto al bienestar de los animales de experimentación (DOUE, 2010). Se han utilizado un total de 125 animales de raza RG tipo ternero (77 hembras y 48 machos) procedentes del rebaño experimental del Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (CIAM, A Coruña, 43º 15´ N, 8º 18´ W).

El sistema de producción empleado en los tres primeros ensayos de la presente Tesis (Cap. I, II y III), fue el manejo en semiextensivo con concentración de partos en otoño (desarrollado en el CIAM desde los años 70), mediante el que los terneros permanecieron en el pasto junto a las madres y amamantando libremente hasta su destete (7 meses de edad), con aprovechamiento de la hierba en pastoreo rotacional. Después de destetar a los animales, se estabularon en el cebadero durante los 3 meses previos a su sacrificio (10 meses de edad), siendo agrupados aleatoriamente en diferentes tratamientos en función de la dieta experimental ofrecida *ad libitum* a base de concentrados, mediante un pienso control o suplementado con diferentes fuentes oleaginosas ricas en AGPI, o diferentes niveles de éstas y con la suplementación de heno. Además, en el ensayo del Capítulo IV se estudia la producción de terneros de raza RG bajo un sistema extensivo (manejo en pastoreo con amamantamiento materno hasta su sacrificio sin ser suplementados con alimentos concentrados) comparado con dos modalidades del sistema semiextensivo mediante la suplementación de un concentrado enriquecido en linaza durante la fase de acabado en la propia parcela de pastoreo (manteniendo lactancia materna) o en el establo. Los ensayos se realizaron durante los años 2007 (Cap. I), 2008 (Cap. II), 2009 (Cap. III) y 2010 (Cap. IV).

3.2. DIETAS EXPERIMENTALES

3.2.1. Material Vegetal

3.2.1.1. Pasto Fresco

Se han utilizado un total de 20/ha/año de praderas polifitas mejoradas con una mezcla de 20 kg/ha de raigrás inglés (*Lolium perenne*) y 6 kg/ha de trébol violeta (*Trifolium pratense*) y blanco (*Trifolium repens*). La siembra se realizó en otoño con una fertilización nitrogenada, fosfórica y potásica de: 44, 84 y 84 kg/ha de N, P_20_5 y K_20, respectivamente. La fertilización para el mantenimiento anual fue de 152, 80 y 80 kg/ha de N, P_20_5 y K_20, respectivamente, en la zona reservada al pastoreo; y de 144, 72 y 108 kg/ha

de N, $P_2 0_5$ y $K_2 0$, respectivamente, en la superficie reservada para la producción de silo y heno.

Mediante manejo en pastoreo rotacional, los terneros entraban en las parcelas, con acceso a zona arbolada y agua fresca, cuando la hierba alcanzaba al menos 15 cm de altura y salían cuando la altura se reducía a 8 cm (Moreno *et al.*, 2007b). Se realizó un pastoreo en avance, permitiendo que los terneros entrasen en la parcela antes que sus madres, con el fin de que realizasen un consumo selectivo de la hierba. En primavera, los animales pastaron, aproximadamente, la mitad de la superficie total de la pradera, reservándose la otra mitad, al principio del mes de mayo, para la producción de silo (alimentación invernal de las vacas) y para la reserva de heno. La carga ganadera utilizada en la primera rotación del pastoreo de primavera fue de cuatro animales por hectárea, decreciendo progresivamente en las sucesivas rotaciones hasta dos animales por hectárea al final del otoño, pues el crecimiento de la hierba es menor y la demanda de los terneros mayor.

La composición promedio en cuanto al valor nutritivo del pasto fresco en oferta para los terneros durante todos los ensayos, figura en la Tabla 3.1, determinado en las muestras de pre-pastoreo como se indica en la sección correspondiente.

Tabla 3.1. Valor nutritivo promedio de la hierba fresca ofertada en pastoreo por los terneros de raza Rubia Gallega en los diferentes ensayos

(%MS)	Pasto fresco	SD	Máx.	Mín.
MS (g/100g materia húmeda)	14,05	0,82	14,75	13,18
MO	89,85	0,00	89,85	89,85
PB	18,23	3,00	21,80	15,75
FB	22,96	2,13	24,45	19,94
FAD	24,92	1,34	26,90	23,96
FND	46,07	0,40	46,50	45,72
EM (MJ/kg MS)	9,70	0,26	9,89	9,40
ENg (MJ/kg MS)	3,72	0,03	3,74	3,68
ENm (MJ/kg MS)	6,20	0,04	6,22	6,15

MS: materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; FB: fibra bruta; FAD: fibra ácido detergente; FND: fibra neutro detergente; EM: energía metabolizable; ENg: energía neta para ganancia; ENm: energía neta para mantenimiento,

3.2.1.2. Heno

El objetivo de la conservación en forma de heno es reducir el contenido en humedad del forraje (<25 %), con el fin de suprimir el crecimiento fúngico y bacteriano. Los principales problemas de este método de conservación derivan del avanzado grado de madurez en el que se corta la planta, con la consiguiente reducción de la digestibilidad y valor nutritivo; de la fermentación de las pacas cuando se almacenan con un elevado grado de humedad y de las pérdidas de nutrientes que tienen lugar durante el proceso de henificado y posterior almacenamiento.

El henificado se llevó a cabo sobre la propia parcela en verano, cuando la hierba estuvo en condiciones de henificarse (20 y 25 t de agua/ha), eliminándose el agua por evapotranspiración. El heno se cortó en julio con una segadora rotativa y usando una empacadora de rodillos.

El valor nutritivo promedio del heno a disposición de los animales se muestra en la Tabla 3.2, obtenido mediante muestreo quincenal de las pacas suministradas a los animales y la metodología indicada en la sección correspondiente.

Tabla 3.2. Valor nutritivo promedio del heno consumido por los terneros de raza Rubia Gallega en los diferentes ensayos

(%MS)	Heno	SD	Máx.	Mín.
MS (g/kg materia húmeda)	89,34	1,35	90,79	87,89
MO	92,72	2,01	94,61	91,77
PB	8,30	1,81	10,43	6,52
FB	33,20	1,62	35,65	31,70
FAD	39,03	1,17	40,67	37,90
FND	63,60	5,20	70,75	58,33
EM (MJ/kg MS)	7,20	0,14	7,34	7,06
ENg (MJ/kg MS)	1,49	0,15	1,55	1,29
ENm (MJ/kg MS)	3,76	0,16	3,83	3,55

MS: materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; FB: fibra bruta; FAD: fibra ácido detergente; FND: fibra neutro detergente; EM: energía metabolizable; ENg: energía neta para ganancia; ENm: energía neta para mantenimiento.

3.2.2. Piensos concentrados

A excepción del pienso suministrado a los animales del grupo control en el ensayo del Capítulo II, todos los concentrados suplementados en la dieta animal fueron enriquecidos con fuentes de AGPI mediante la adición de aceites vegetales (Cap. I) o sus respectivas semillas (Cap. II, III y IV).

La formulación y composición de los piensos concentrados suministrados en las distintas dietas de cada ensayo, se describe en los correspondientes Capítulos, pero se comenta brevemente que, de media (Tabla 3.3), contuvieron bajas proporciones de granos de cereales (~40% MS), un aporte considerable de otros subproductos (~30% MS de pulpa de remolacha, cascarilla de soja, etc), harina de soja (~16% MS), correctores vitamínico y mineral correspondientes (0,3-1%) y las fuentes oleaginosas añadidas a un nivel variable (~12% MS) entre ensayos, según se describe a continuación en el texto:

Tabla 3.3. Composición promedio de ingredientes (%MS) en los concentrados suplementados a los terneros de raza Rubia Gallega en los diferentes ensayos

(% MS)	Media	SD	Máx.	Mín.
Granos de cereales	38,94	8,78	48,50	24,04
Subproductos	29,00	6,98	39,39	17,33
Harina soja	15,58	3,09	18,70	10,35
Semillas oleaginosas	11,72		22,22	0,00
Aceite vegetal	2,90	1,35	4,50	1,20

Capítulo I => un 4,5%MS de diferentes aceites vegetales añadidos a un pienso base con un 1,5% de grasa (EE total 6%).

Capítulo II => diferentes proporciones de semillas oleaginosas (10% linaza, 10% girasol, 19% soja) o una grasa vegetal al 4,5%MS (dieta control) (6% EE total).

Capítulo III => nivel creciente de linaza extrusionada (5, 10 y 15%MS), con ajuste del contenido graso para igualar el aporte calórico mediante grasa vegetal (8% EE total).

Capítulo IV => linaza extrusionada al 10% MS (6% EE total).

A mayores, debido al incremento en el aporte de AGPI en la dieta animal, se suministró a los animales 1 g de vitamina E (1000 UE) diario por cabeza. La vitamina E fue proporcionada por *DSM* Nutricional Products (S.A, Madrid, España) en su forma comercial ROVIMIX® E-50 Adsorbate.

De igual modo que con el pasto fresco y el heno, también se determinó el valor nutricional del concentrado en cada uno de los ensayos, cuya composición promedio se muestra en la Tabla 3.4. Los concentrados mostraron un contenido promedio del 16,88 ± 1,33 %MS en PB y del 6,77 ± 1,25 %MS de EE, aportando de media una EM de 11,56 ± 0,65 MJ/Kg MS.

Tabla 3.4. Valor nutritivo promedio de los concentrados suministrados a los terneros de raza Rubia Gallega en los diferentes ensayos

(%MS)	Concentrado	SD	Máx.	Mín.
MS (g/kg materia fresca)	88,59	0,61	89,40	87,80
PB	16,88	1,33	19,00	15,55
FB	11,17	3,39	17,28	6,95
Cenizas	6,56	0,66	7,80	5,89
EE	6,77	1,25	8,42	5,20
FAD	11,66	1,34	13,00	9,59
FND	23,69	1,81	25,50	20,77
EM (MJ/kg MS)	11,56	0,65	12,16	10,38
ENg (MJ/kg MS)	4,84	0,50	5,47	4,13
ENm (MJ/kg MS)	7,40	0,61	8,18	6,65

MS: materia seca; PB: proteína bruta; FB: fibra bruta; EE: extracto etéreo; FAD: fibra ácido detergente; FND: fibra neutro detergente; EM: energía metabolizable; ENg: energía neta para ganancia; ENm: energía neta para mantenimiento.

3.3. MEDIDAS DE CONTROL ANIMAL Y DE LOS ALIMENTOS OFERTADOS A LOS TERNEROS

Se llevaron a cabo las determinaciones de los parámetros relacionados con el manejo, engorde y alimentación de los terneros.

3.3.1. Control animal

Se registró la fecha y el peso al nacimiento de los animales (PN), que fueron pesados quincenalmente durante todo el ensayo, registrándose además los pesos el día del

destete, a la entrada en cebadero (P7meses), 7 días después (estabilización) y el día del sacrificio (PV). Igualmente, durante la estación de pastoreo se pesaron los animales al inicio y al final de cada rotación; calculándose las ganancias medias diarias en cada uno de estos períodos.

3.3.2. Control de alimentos

Se registraron los índices de consumo diario de las fuentes de alimento ofrecidas a los tenernos en los diferentes ensayos, además de realizarse tomas de muestra quincenales para su análisis en laboratorio.

3.3.2.1. Consumo de hierba fresca

El control de la altura del pasto se realizó mediante 40-50 puntos de muestreo en cada subparcela, tomados al azar, midiéndose la altura con una regla provista de un visor (Barthram, 1986) antes de la entrada del ganado y a su salida. La producción o acumulación neta del pasto se realizó según la terminología de Hodgson (1979); para ello, se toman 8 muestras al azar de 1m^2 por cada hectárea de las zonas a pastorear y ya pastoreadas por los terneros, mediante siega manual con una hoz a una altura de 3-4 cm del suelo. En las muestras de pre- y post-pastoreo frescas trasladadas al laboratorio se determina la materia seca como se indica a continuación (sección 3.4.1). La ingesta diaria de materia seca fue estimada como la diferencia entre las masas de hierba pre- y post-pastoreo. Una submuestra de cada fuente de alimento fue trasladada al laboratorio para ser procesada según se indica más adelante (sección 3.4) y proceder con la determinación de los parámetros de valor nutritivo.

3.3.2.2. Consumo de concentrados y heno

Para determinar el consumo de concentrado y heno de los animales estabulados, durante la realización de la presente Tesis, no se dispuso de un sistema de alimentación controlado para la medida de alimentación diaria individual, por lo que la ingesta se calculó mediante la pesada de la cantidad de alimento ofrecido y rechazado diariamente en cada grupo experimental. Quincenalmente se tomaron muestras de pienso y heno que fueron inmediatamente transportadas al laboratorio para proceder al tratamiento

correspondiente para la determinación del contenido en MS y el cálculo de la ingesta voluntaria de los animales.

3.4. DETERMINACIONES DEL VALOR NUTRITIVO DE LOS ALIMENTOS OFERTADOS A LOS TERNEROS

3.4.1. Determinación materia seca y pretratamiento de las muestras de alimento

Las muestras de forraje y concentrado fueron trasladadas al laboratorio donde se pesaron en fresco y, tras la determinación de su contenido en MS mediante secado en estufa de aire forzado (Unitherm, Russell-Lindsey Engineering, Birmingham, Inglaterra) a 60 ºC durante 24 h, fueron molidas a 1mm en un molino de martillos (Christy y Norris Ltd., Chelmsford, Inglaterra) para analizar los parámetros del valor nutritivo de los alimentos suministrados a los terneros.

3.4.2. Determinación de la composición química y el valor nutricional de los alimentos

Sobre las muestras de alimento desecadas y molidas, teniendo en cuenta la humedad residual, se determinó el contenido en materia orgánica (MO), proteína bruta (PB), extracto etéreo (EE), fibra bruta (FB), fibra ácido detergente (FAD), fibra neutro detergente (FND), lignina ácido detergente (LAD) y cenizas, en el laboratorio Agrario y Fitopatológico de Galicia (LAFIGA) siguiendo la normativa de la organización internacional para la estandarización (ISO) de la metodología oficial de las diferentes fuentes de alimento animal (ISO: 5983:2005 para PB; 6492:1999 para GB, 6865:2000 para FB, 13906:2008 para LAD, 5984:2002 para cenizas y 6869:2000 para Ca, respectivamente). Por su parte, la MO fue determinada mediante ignición en mufla (550º C) y las FND y FAD por gravimetría mediante un digestor Fibertec System Mod. 1020 (Foss Tecator), según la metodología indicada por Van Soest y Robertson (1985) y Goering y Van Soest (1970) para FND y FAD, respectivamente). La energía metabolizable (EM), la energía neta para mantenimiento (ENm) y la energía neta para ganancia (ENg) se calcularon de acuerdo con las fórmulas indicadas por el NRC (2000).

3.4.3. Determinación del perfil lipídico de los alimentos

La composición de AG en las fuentes de forraje y los diferentes concentrados suplementados se determinó de diferente manera en los distintos Capítulos.

3.4.3.1. Pretratamiento de las muestras de alimento

Durante el primer ensayo (Cap. I), se analizó sobre submuestras en fresco, mientras que en los ensayos de los Capítulos II, III y IV se analizó sobre las submuestras secas (60ºC, 24h), molidas (1mm) y envasadas al vacío (99%) (Tecnotrip EV-15-1CD, Terrasa, España), que fueron almacenadas a -20°C hasta el día de su análisis. Se adoptó esta metodología por ajustarse mejor a la rutina del laboratorio según los resultados expuestos por Arvidson *et al.* (2009), relativos a la comparación de métodos de preparación de las muestras de forraje antes de la extracción y determinación de AG.

3.4.3.2. Extracción y derivatización de los lípidos en los alimentos

3.4.3.2.1. Extracción y derivatización de lípidos en las muestras de alimento del Capítulo I

Los lípidos totales de las muestras de alimento fresco del primer ensayo (Cap.I) se extrajeron mediante el método de Folch *et al*. (1957), siendo los AG posteriormente convertidos en sus ésteres metílicos (AGME) mediante transesterificación (Morrison y Smith, 1964), primero con metóxido de sodio y luego con trifluoruro de boro-metanol (14%) a temperatura ambiente.

3.4.3.2.2. Extracción y derivatización de lípidos en las muestras de alimento de los Capítulos II, III y IV

Los lípidos totales de las muestras procedentes de los ensayos de los Capítulos II, III y IV, libres de humedad y molidas, se extrajeron transformando los AG en sus ésteres metílicos (AGME) mediante una sola etapa usando cloroformo y HCl (5%) metanólico anhidro; siguiendo la metodología propuesta por Sukhija y Palmquist (1988) y modificada por Alves *et al*. (2008) introduciendo el uso del éster metílico del C19:0 como patrón interno. Éste se añadió (1ml C19:0 (1 mg/ml)) a 250 mg de muestra junto con 1mL de tolueno y 3mL de HCl (5%) metanólico (preparado en fresco mezclando acetil cloruro

en metanol anhidro), que tras agitación en vórtex (1min) (Selecta™ modelo 7001721, JP Selecta, SA, Barcelona, España), se incubaron las muestras en un baño de agua (Memmert WB/OB 22, Afora; Barcelona, España) a 50ºC durante 15 min. Finalizado ese tiempo, y una vez alcanzada la temperatura ambiente en la solución, se añadieron 5mL de carbonato potásico (6%), 2 mL de hexano, 1g de sulfato sódico anhidro y 2g de carbón activo. Tras centrifugación de las muestras (5min, 2500 rpm, 20ºC) (Allegra X-22R, Beckman Coulter; Madrid, España), se recogió la fase orgánica y se llevó a residuo mediante la evaporación del solvente en corriente de nitrógeno (Six Port Mini-Vap Evaporator/Concentrator, Sigma-Aldrich, Merck Life Science S.L.U., Madrid, España); siendo entonces, reconstituido el extracto en 800 µL de hexano e inyectado en el cromatógrafo de gases.

3.4.3.3. Análisis cromatográfico de los ácidos grasos en los alimentos

Los AGME de las diversas fuentes de alimento consumidas por los teneros del ensayo del Capítulo I, se analizaron utilizando las mismas condiciones cromatográficas que las que se describen más adelante para el LT y la GSC de ese ensayo (3.7.4.1).

Los AGME de los alimentos ofrecidos durante los ensayos restantes (Cap. II, III y IV) fueron separados, identificados y cuantificados utilizando un cromatógrafo de gases TRACE GC ULTRA (ThermoFisher, Fisher Scientific SI, Madrid), equipado con detector de ionización de llama (FID), automuestreador modelo AI/AS 3000 y software Chrom Card Gas Chromatography Dáche System. Se empleó una columna capilar SP2560 (100 m x 0,25 mm x 0,2 µm; Sigma-Aldrich, Merck Life Science S.L.U., Madrid, España) y helio como gas portador a un flujo de 0,6 ml/min. Las temperaturas del inyector y detector se mantuvieron constantes a 250 y 260 ºC, respectivamente. Se inyectó un volumen de 1 µL de muestra y el programa de temperatura empleado para la columna se inició a 140ºC durante 5 min, subiendo hasta 200ºC a una tasa de 4 ºC/min y manteniendo esa temperatura durante 5 min. Finalmente, con un flujo de 3 ºC/min se subió la temperatura a 240ºC y se mantuvo durante 38 min más. La identificación y cuantificación individual de cada ácido graso se realizó mediante la mezcla Supelco 37 Component Mix (C4:0 al C24:1) (Supelco Bellefonte, EUA) y los patrones individuales de ciertos ácidos metilados como el palmítico (16:0), el linoleico (18:2*n-6*) y el linolénico

(18:3*n-3*), adquiridos de Sigma-Aldrich (Merck Life Science S.L.U., Madrid, España), empleando para la calibración interna los ésteres metilados de los ácidos C9:0 (methyl nonaoate), *c*10-C17:1 (methyl *cis*-heptanoate, H29021) y C20:2 (*cis*-11-14-eicosadienoic acid methyl ester, E7877), también adquiridos a Sigma-Aldrich (Merck Life Science S.L.U., Madrid, España).

3.5. SACRIFICIO, CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL Y TOMA DE MUESTRAS

3.5.1. Sacrificio y determinación de las características de calidad de la canal

Cuando alcanzaron la edad de sacrificio, todos los animales procedentes de los ensayos realizados en la presente Tesis fueron trasladados a un matadero comercial situado a 4Km de la finca experimental del CIAM, donde se registró su peso vivo (PV).

Inmediatamente después del sacrificio de los terneros, tras la inspección sanitaria pertinente y declarados aptos para el consumo, se procedió a la clasificación de la canal de acuerdo con la normativa y sistemas europeos (SEUROP) establecidos para tal fin (DOUE, 2006; derogado por DOUE, 2008; y éste a su vez por DOUE, 2017), registrándose el peso de la canal en caliente (PCC) y prosiguiendo con el oreo (2ºC, 24h) y posterior despiece.

El personal cualificado del matadero siguió el sistema de clasificación SEUROP para la conformación (CS) (S superior; E excelente; U muy buena; R buena; O justa; P mediocre, puntuando desde 15 para E+ hasta 1 para P-, pues en la práctica, S no se suele emplear), y para la cobertura de grasa (FC) (1 bajo; 2 ligero; 3 medio; 4 alto; 5 muy alto, puntuando desde el 1 para 1- hasta el 15 para 5+).

Las canales se conservaron en cámara refrigerada a 2 ºC y a las 24h *post-mortem* (*pm*) se diseccionó una muestra del lomo de la media canal izquierda entre la 5ª y la 10ª costilla. Inmediatamente, se llevaron las muestras en condiciones refrigeradas (neveras isotérmicas) al laboratorio del CIAM.

3.5.2. Muestreo del *longissimus thoracis*

Una vez en el laboratorio, de cada pieza de lomo, se cogió una muestra de grasa subcutánea (GSC) para las medidas de color (y de su composición de AG en los Cap. I y II) y se extrajo el músculo *longissimus thoracis* (LT), sobre el que se realizó el fileteado

comenzando desde el extremo de la décima costilla, obteniendo las muestras necesarias para las siguientes determinaciones:

- 1 filete de 1,5 cm de grosor para medir el $pH_{24h,pm}$, los parámetros instrumentales de color y para evaluar las pérdidas de agua por goteo (PG).
- 1 filete de 1,5 cm de grosor dividido en dos submuestras, una para evaluar las pérdidas de agua por presión (PP), y la otra para la determinación del contenido en pigmentos hemínicos.
- 1 filete de 2,5 cm de grosor para determinar las pérdidas de agua por cocción (PC).
- 4 filetes de 2,5 cm de grosor que se envasaron individualmente al vacío (80%) (Tecnotrip EV-15-1CD, Terrasa, España) y se maduraron a 4°C durante 7 días, pasado ese período se congelaron (-20°C) hasta los correspondientes análisis de textura (2 filetes) y análisis sensorial (2 filetes).
- 1 filete de 2,5 cm de grosor que fue triturado (procesador de alimentos Moulinex, Groupe SEB Ibérica, S.A., Barcelona, España) y repartido en dos submuestras, una destinada a la determinación de la composición química (humedad, grasa, proteína y cenizas), y la otra, se conservó congelada (-20°C) hasta el análisis de la composición de AG.

3.6. DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD ORGANOLÉPTICA EN CARNE: ANÁLISIS FISICOQUÍMICO, DE TEXTURA Y SENSORIAL

3.6.1. Determinaciones fisicoquímicas en el *longissimus thoracis*

A continuación, se describe la metodología empleada para las determinaciones de calidad de carne, según lo indicado por un amplio grupo de científicos españoles (Cañeque y Sañudo, 2000) y adoptada en el CIAM previamente (Moreno, 2004; Bispo, 2011).

3.6.1.1. Determinación del pH

La medida del pH se realizó a las 24 h del sacrificio ($pH_{24h,pm}$) sobre el *Longissimus thoracis*, usando un pH-metro portátil (HANNA Instruments) equipado con

electrodo de penetración de 6 mm de diámetro y una sonda de temperatura. Para el calibrado se usaron soluciones tampón de pH 4 y 7. La medición se hizo por duplicado en zonas libres de grasa.

3.6.1.2. Determinación de la composición química

La composición química de la carne se estimó mediante el método no destructivo de la espectroscopía en el infrarrojo cercano (NIRS) empleando un espectrofotómetro monocromador Foss NIRSystem 6500 (Foss NIRSystem, Silver Spring, Washington, EUA) situado en una sala con temperatura controlada (24 ± 1 °C) de acuerdo con la metodología propuesta por Moreno *et al.* (2007a) y usando las calibraciones con más de 200 muestras empleadas previamente para desarrollar y validar las ecuaciones NIRS (Oliete *et al.*, 2000) frente a los métodos de referencia para la predicción del contenido en humedad, proteína, grasa y cenizas.

Se empleó una muestra-filete de 2,5 cm de grosor de la que se eliminan restos de tejido conjuntivo y grasa intermuscular, para seguidamente ser picada y homogeneizada. Cada muestra fue escaneada por reflectancia en la región espectral comprendida entre 1100 y 2500 nm, a intervalos de 2 mm. Se recogieron dos lecturas del espectro por muestra y el análisis quimiométrico de los datos se realizó con el programa Win ISI II v.1.5 (Infrasoft International, Port Matilda, PA, EUA) mediante las ecuaciones de calibración desarrolladas en el CIAM (Oliete *et al.*, 2000).

3.6.1.3. Determinación del color

3.6.1.3.1. Medida instrumental del color

Mediante este método estudiamos el color mediante colorimetría utilizando el sistema del espacio de color CIEL*a*b*. Para su determinación se empleó un colorímetro portátil MINOLTA (CR-300) que permite medir los colores que se reflejan de las superficies con la ayuda de las coordenadas tricromáticas L*, a* y b*; obteniéndose también los atributos de tono (H*) y croma (C*) calculados como:

$$H^* = \text{arctg}\,(b^*/a^*) \times 57{,}29 \qquad C^* = ((a^*)^2+(b^*)^2)^{0,5}$$

La medición de color se realizó a las 24 h *pm* sobre el músculo *Longissimus thoracis* y la grasa subcutánea. Las muestras de carne fueron oxigenadas en contacto directo con el aire durante 1h antes de la medida (Insausti *et al.*, 1999). Todas las medidas se realizaron por triplicado en zonas homogéneas y representativas, libres de grasa intermuscular (en el caso de la carne) y de manchas de sangre.

3.6.1.3.2. Contenido en pigmentos hemínicos

La determinación analítica del contenido en pigmentos del músculo se basa en la metodología propuesta por Hornsey (1956). Para ello, de una muestra homogénea, sin grasa y vasos sanguíneos, se tomaron 5 gramos de carne finamente picada a los que se le añadió 1mL de agua destilada. A continuación, se mezclaron con 20 mL de acetona agitando durante 30 segundos con una varilla de vidrio para evitar aglutinaciones. Posteriormente se adicionaron 0,5 mL de HCl (12M), lo que separa el grupo hemo de la globulina formando clorhidrato de hematina. Se dejó reposar la mezcla en un lugar oscuro durante 24 h y tras su filtrado, se determinó su absorbancia en cubetas de 1cm de paso óptico en un espectrofotómetro UV/VIS (Modelo Lambda EZ 210, Perkin Elmer SL, Madrid, España), a una longitud de onda de 512 nm. Esta determinación se realizó por duplicado. Los resultados de los pigmentos hemínicos (mioglobina y hematina) se expresaron en mg/g de carne (1 DO equivale a 8,816 mg de mioglobina/g de carne).

3.6.1.4. Determinación de la capacidad de retención de agua (CRA)

De acuerdo con los métodos propuestos por la OECD (Honikel, 1997; 1998), la capacidad de retención del agua en la carne se determinó mediante las pérdidas de agua por goteo (PG) de la carne cruda o *drip-loss* y las pérdidas de agua por cocción (PC); además de estos dos métodos, se han calculado también las pérdidas por presión (PP).

3.6.1.4.1. Pérdidas por presión

Para estimar las pérdidas de agua por presión se sigue el método de Wismer-Pedersen (1994), variante de Grau y Hamm (1953) que consiste en calcular el tanto por ciento de agua que es expelida por la carne al someterla a una determinada presión. Este método no tiene un alto poder predictivo, sin embargo, ha sido utilizado

ampliamente debido a su rapidez y sencillez. Se pesan 5g de carne sometida previamente a un picado grueso con el homogenizador y se colocan entre dos papeles de filtro Albet-238 de 11 cm de diámetro. A continuación, se alisa por encima y por debajo con placas de vidrio planas y se somete la muestra a un peso de 2,250 kg durante 5 minutos. Pasado dicho tiempo, se pesa de nuevo la carne y se expresan las pérdidas como porcentaje de jugo expulsado.

3.6.1.4.2. Pérdidas por goteo

A las 48 horas *pm* las muestras de carne se colocan en recipientes planos de plástico de cierre hermético en los que se introduce un soporte de malla que impida que el filete roce con el suelo del recipiente y se pueda poner en contacto con el agua liberada. A continuación, se guardan en refrigeración a una temperatura entre +1 y +4ºC durante 48 horas. Las pérdidas por goteo (%) se determinan como diferencia del peso inicial y final con relación al peso inicial.

3.6.1.4.3. Pérdidas por cocción

Para calcular las pérdidas por cocción, las muestras (filetes de 100-150 g) envasadas en bolsas a vacío se sumergen en un baño con agua circulante y control de temperatura automático (Memmert WB/OB 22, Afora; Barcelona, España) durante el tiempo necesario para conseguir una temperatura en el filete *in cuore* de 70ºC, controlando para ello la temperatura mediante unos termopares tipo K (Comark, PK23M, UK) conectados a un registrador de datos (Comark Dilligence EVG, *N-3*014, UK). Una vez cocidas, las muestras se sacan del baño y se enfrían durante 30 minutos en agua corriente a unos 15ºC (Boccard *et al.*, 1981). Luego se extraen de las bolsas y se secan cuidadosamente, sin comprimirlas, para eliminar el jugo que permanece en la superficie. Las pérdidas por cocción se expresan como el porcentaje de peso perdido respecto al inicial de la muestra.

3.6.2. Análisis instrumental de textura

Como se ha comentado en la Introducción General de la presente Tesis (1.3.2.4), dos de los métodos instrumentales más usados para determinar las características de

textura de la carne, miden, respectivamente, la resistencia al corte y a la compresión, por lo que se ha empleado un texturómetro (Mod. TAXT2 de Stable Micro Systems, UK) mediante el cual las muestras fueron cortadas y comprimidas perpendicularmente a la dirección de las fibras musculares. Las medidas del análisis de textura mediante el test de Warner-Bratzler y el TPA se evaluaron en muestras cocidas y crudas, respectivamente, de acuerdo con la metodología descrita por Franco *et al.* (2009). A mayores, en las muestras para el test de WB se utilizaron termopares tipo K (Comark, PK23M, Reino Unido) conectados a un registrador de datos (Comark Dilligence EVG, *N-3*014, Reino Unido) para garantizar la temperatura interna final de 70 ° C.

3.6.2.1. Test fuerza de corte Warner-Bratzler (WB)

El método mecánico de corte o fuerza de cizallamiento y, normalmente, más usado como indicador objetivo de la dureza de la carne, es el que emplea la hoja de corte Warner-Braztler (WB) (Bratzler, 1949). Después de la cocción de los filetes, siguiendo la metodología empleada para determinar las pérdidas por cocción (3.6.1.4.3), se cortaron las muestras en prismas de 1x1x2,5 cm (alto x ancho x largo) a través de la sección paralela a la dirección de las fibras musculares del LT. El corte se hizo mediante la cuchilla triangular a una velocidad constante de 2,5 mm/s y se obtuvieron 3 parámetros: la fuerza máxima de corte (Moller, 1980), la firmeza al corte (Brady y Hunecke, 1985) y el trabajo total realizado al cortar la muestra. De cada filete-muestra se realizaron de 7 a 10 medidas.

3.6.2.2. Análisis del perfil de textura (TPA)

Las muestras para el análisis de perfil de textura (TPA) se obtuvieron de un filete crudo del LT cortando cubos de 1x1x1cm en paralelo a la dirección de las fibras musculares. Cada cubo se colocó bajo una célula/sonda de compresión de 19,85 cm^2 de área de contacto y la muestra fue comprimida hasta un valor prefijado (80% de su espesor) a una velocidad constante de 1 mm/s. Tras la primera compresión, la sonda retorna al punto inicial de contacto con la muestra y tras un intervalo de espera de 2s realiza la segunda compresión (20%). De nuevo cada muestra fue analizada 7-10 veces. Los atributos medidos fueron los siguientes: fuerza (C80), cohesividad, elasticidad, gomosidad y masticabilidad.

3.6.3. Análisis sensorial

El diseño y las evaluaciones realizadas mediante análisis sensorial se llevaron a cabo según lo descrito por Bispo *et al.* (2010a). El análisis sensorial tuvo lugar en cabinas individuales equipadas con luz roja (ISO 8589:1988) y fue realizado por ocho panelistas seleccionados y entrenados (ISO 8586-1:1993) del personal del CIAM. Se usó un método descriptivo cuantitativo cuyo diseño incluyó 18 platos que contenían tres muestras, una de cada tratamiento en cada plato. Las pruebas se realizaron en seis sesiones con tres platos por sesión.

Las muestras envasadas en bolsas a vacío (80%), maduradas durante 7 días en refrigeración (4ºC) y posteriormente congeladas (-20ªC), fueron descongeladas 24h antes de su análisis sensorial en cámara frigorífica a 4ºC. Los filetes se cocinaron, envueltos en papel de aluminio, en un horno a 200 ºC (Teka, HA 890 vr02 E00, España) hasta alcanzar una temperatura interna de 70ºC, monitorizada con unos termopares tipo K (Con Comark, PK23M, UK), conectados a un registrador de datos (Comark Dilligence EVG, *N-3*014, UK). Se retiró el tejido conectivo externo de cada filete que, una vez cortado en muestras de 2 cm^3 se envolvieron en papel de aluminio y se codificaron. Para evitar efectos del orden de presentación y de la zona de procedencia del filete, en cada sesión, los panelistas evaluaron muestras con ubicación aleatoria en cada uno de los filetes (Macfie *et al*., 1989). Finalmente, mediante una escala de diez puntos, los panelistas evaluaron la intensidad de varios atributos de olor y gusto (lácteo, hígado, cárnico o graso) y la de cuatro atributos de textura: dureza, jugosidad, masticabilidad y elasticidad; para hacer, por último, una valoración subjetiva de apreciación global.

El análisis sensorial se realizó sobre las muestras de carne del ensayo en el que se estudió la suplementación con aceites (Cap. I), sin embargo, no se pudieron realizar posteriormente más evaluaciones sensoriales debido a la falta de catadores entrenados.

3.7. DETERMINACIÓN DE LA CALIDAD LIPÍDICA DE LA CARNE: ANÁLISIS DE LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS

La composición de AG en la carne también se determinó de manera diferente en los distintos ensayos. Además de la extracción, las posteriores etapas de derivatización (metilación) y análisis cromatográfico fueron optimizadas en los Capítulos III y IV para permitir la determinación de ciertos isómeros *t*18:1 y de los otros productos de BH de

AGPI (CLA, CLNA y nCLA); habiendo sido realizada, parte de la investigación relacionada con la metodología analítica, en el *Meat Lipid Laboratory* del *Lacombe Research and Development Centre, Agriculture and Agri-Food Canada* (Alberta, Canadá) durante un período de 6 meses entre el año 2011 y el 2012.

3.7.1. Extracción de lípidos en los tejidos animales

Los métodos desarrollados por Folch *et al*., (1957) y por Bligh y Dyer (1959) han sido los más referenciados y usados en la extracción cuantitativa de los lípidos durante años. Ambos métodos mantienen el mismo principio basado en el uso de mezclas de cloroformo y metanol en distintas proporciones para poder extraer tanto lípidos neutros como polares.

3.7.1.1. Extracción de lípidos en el tejido muscular y la grasa subcutánea de las muestras de los Capítulos I y II

Los lípidos totales del LT y la GSC se extrajeron siguiendo la metodología propuesta por Bligh y Dyer (1959) como describen Moreno *et al.* (2007). Brevemente, la muestra picada (Moulinex, Groupe SEB Ibérica, S.A., Barcelona, España) de tejido húmedo (50g) se homogenizó (Heidolph Diax 900, Heidolph-Instruments GMBH & COKG, Schwabach, Alemania) con una mezcla de cloroformo:metanol (1:2) primero, y con cloroformo (1) en una segunda extracción, recogiendo ambos filtrados. Tras la adición de una sal (KCl, 0,88%) para lograr la separación de fases, y la centrifugación (Allegra X-22R, Beckman Coulter; Madrid, España) posterior de la muestra, se recuperó la fase inferior tras el reposo adecuado hasta su separación visual, y se determinó gravimétricamente el extracto graso tras la evaporación del solvente usando un rotavapor Büchi R-114 equipado con un baño de agua (40 °C) (BUCHI Ibérica S.L.U., Barcelona, España). El residuo graso se conservó en viales cerrados bajo una corriente de nitrógeno (Six Port Mini-Vap Evaporator/Concentrator, Sigma-Aldrich, Merck Life Science S.L.U., Madrid, España) hasta el día de su derivatización para posterior análisis cromatográfico (<1mes).

3.7.1.2. Extracción de lípidos en el tejido muscular de las muestras de los Capítulos III y IV

Debido a las limitaciones documentadas al aplicar el método Bligh and Dyer (1959) a tejidos animales de un contenido graso >2% (Iverson *et al.*, 2001), la grasa intramuscular (GIM) del LT de las muestras de los Capítulos III y IV se extrajo siguiendo el método original de Folch *et al*. (1975), basado en una mezcla 2:1 de cloroformo:metanol. Con la excepción de que, i) en cada extracción, la muestra fue homogenizada primero con el metanol (1) y después con el cloroformo (2), y ii) el método se apropió a las necesidades del análisis rutinario del laboratorio adaptándolo a una escala reducida (minimizando cantidades de muestra, disolvente y tiempo empleado).

Brevemente, 1g de submuestra finamente procesada en un robot de alimentos (Robot Coupe Model Blixer BX3, Robot Coupe, EUA), representativa de 50g de carne picada (Moulinex, Groupe SEB Ibérica, S.A., Barcelona, España), fue homogenizada (Heidolph Diax 900, Heidolph-Instruments GMBH & COKG, Schwabach, Alemania) primero en metanol (6,65 mL) y una segunda vez tras la adición de cloroformo (2 x 6,65 mL) para tener una proporción 2:1 cloroformo:metanol en una relación 20:1 disolvente:muestra. El homogenizador, embudo y residuo filtrado se enjuagó con 2:1 cloroformo:metanol. La mezcla se filtra a vacío y se le añadió una solución de KCl (10 mL de 1:1 metanol:solución acuosa KCl al 0,88%) para tener las proporciones de 8:4:3 cloroformo:metanol:agua durante la fase de separación, mezclando bien mediante agitación manual y vórtex (Selecta™ modelo 7001721, JP Selecta, SA, Barcelona, España) para favorecer la separación del sistema bifásico. Tras la centrifugación (Allegra X-22R, Beckman Coulter; Madrid, España) de las muestras (1000xg, 10 min), la fase superior se eliminó mediante aspiración, lavando con una mezcla metanol:agua 1:1 (2 x 5 mL) sin alterar la fase orgánica (inferior) y descartando nuevamente los lavados por aspiración. La fase orgánica fue filtrada, evaporada a vacío en un multievaporador (SyncorePlus® Polyvap, BUCHI Ibérica S.L.U., Barcelona, España) y, posteriormente, en corriente de nitrógeno (Six Port Mini-Vap, Sigma-Aldrich, Merck Life Science S.L.U., Madrid, España) para determinar el contenido lipídico. El residuo se disolvió en 3mL de cloroformo para tener una concentración de lípidos en el extracto de ~10 mg/ml y se conservó a -20ºC hasta su posterior derivatización.

3.7.2. Derivatización de ácidos grasos procedentes de tejidos animales

Los derivados más empleados para la determinación de ácidos grasos son sus ésteres metílicos, cuyos métodos de obtención ofrecen resultados comparables, pero no completamente similares. Este es un aspecto para considerar en función de la composición de la muestra a analizar y la clase de AG que se pretende determinar. En general, las metilaciones en condiciones ácidas obtienen buenos rendimientos para todos los AG, incluido los AG libres, pero las fuertes condiciones requeridas (acidez y temperatura), pueden provocar degradaciones e isomerizaciones que dan lugar a la pérdida de AG más sensibles como los AGPI alterando su composición original en la matriz. En el caso de muestras de carne en las que se pretende evaluar el efecto de la dieta sobre su perfil lipídico y, concretamente sobre la cantidad de *n-3*, TVA (*t*11-18:1), $CLA_{c9,t11}$, es necesario recurrir a la combinación de diferentes métodos para obtener un perfil de isómeros individuales detallado e inalterado, pues las actividades/funciones/beneficios biológicas asociadas a ellos, en la mayoría de los casos, son específicas de un isómero, relacionadas con una posición determinada de sus dobles enlaces. Por ello, para las muestras de los ensayos de los Capítulos III y IV se modificó la metodología de metilación respecto a la de los Capítulos I y II, como se indica a continuación.

3.7.2.1. Metilación de ácidos grasos en el tejido muscular y grasa subcutánea de las muestras de los Capítulos I y II

Se añadió un patrón interno (éster metílico C19:0 al 10%) a una muestra de 10 mg de lípidos extraídos, y se obtuvieron los AGME mediante transesterificación usando primero 1mL de NaOH metanólico (1% en metanol) seguido de 2mL de ácido clorhídrico (5%) en metanol (Carreau y Dubacq, 1978), calentando cada etapa (50ºC) mediante un baño de agua (Memmert WB/OB 22, Afora; Barcelona, España) durante 15 min. A los AGME obtenidos se les añadió 1mL de agua y se extrajeron añadiendo 3x2 mL de hexano, combinando las fases orgánicas y evaporando a residuo seco bajo corriente de N_2 (Six Port Mini-Vap, Sigma-Aldrich, Merck Life Science S.L.U., Madrid, España). El residuo graso se disolvió en 1ml de hexano y se tomó una alícuota que se conservó en viales para su posterior análisis (< 1 mes) por cromatografía de gases (CG).

3.7.2.2. Metilación de los ácidos grasos en el tejido muscular de las muestras de los Capítulos III y IV

Los AGME se obtuvieron mediante reacciones separadas catalizadas por un ácido (HCl metanólico) y por una base (metóxido sódico), de acuerdo con la metodología indicada por Kramer *et al*., 2008) para la determinación de todos los isómeros *cis* y *trans* de los AG 16:1, 18:1, 18:2 y 18:3, mediante la combinación de resultados de dos separaciones por CG, excepto para los isómeros del CLA; determinación que requirió la metilación básica separada para evitar/corregir la isomerización del ácido linoleico conjugado (CLA) y proceder a la determinación de su perfil de isómeros mediante una combinación de separaciones en HPLC y en GC (Cruz-Hernández *et al*., 2004; De la Fuente *et al*., 2006).

3.7.2.2.1. Metilación ácida de los ácidos grasos en el tejido muscular de las muestras de los Capítulos III y IV

Se llevó a cabo la metilación y transmetilación de los AG mediante el método descrito por Kramer *et al.* (1997) con ligeras modificaciones, pues se incluyó un patrón interno (10% del total de lípidos) y el extracto final obtenido se secó sobre sulfato sódico anhidro. Se tomó una alícuota (1mL) de extracto lipídico para tener, una vez evaporado el disolvente bajo corriente de N_2 (Organomation N-EVAP, Model 111, Organomation Associates, Inc., EUA), unos ~10 mg de grasa que se disolvieron en 1mL de tolueno conteniendo el patrón interno (éster metílico *c*10-C17:1 1mg/mL). Se derivatizaron los AG a AGME con 1,5 mL de metanol anhidro y 1,5 mL de ácido clorhídrico metanólico (MeOHCl, 3N, Supelco, Bellefonte, EUA) en un bloque calefactor (VWR™, modelo 949031, VWR International, Alberta, Canada) a 80ºC durante 1h, con agitación a los 5 y 30 min en vórtex (MaxiMix II Tube Mixer, M37615, Fisher Scientific Company, Canada). Cuando se enfriaron a T^a_{amb}, se añadieron 1 mL de agua deionizada y 3 mL de hexano, se mezclaron vigorosamente y fueron centrifugadas (1000 xg, 5min) (Omnifuge RT 3842, Heraeus Electro-Nite, Canada) para separar las fases claramente. La fase orgánica se traspasó a un vial que contenía sulfato sódico anhidro y se conservaron los extractos de AGME (~ 2,5 mg/mL) a -20ºC hasta su posterior análisis. Los AGME de la metilación ácida fueron purificados y disueltos en hexano previamente a su análisis por

GC (siguiente sección), siendo diluidos o concentrados, en función de la concentración apropiada para cada análisis.

3.7.2.2.2. Metilación básica de los ácidos grasos en el tejido muscular de las muestras de los Capítulos III y IV

Para la metilación básica se ha empleado el método de transmetilación descrito por Yurawecz *et al.* (1999), modificado por el uso de 10 mg de lípidos en vez de 30 mg, y porque se empleó ácido acético glacial para neutralizar el metóxido sódico al final de la reacción. Del extracto lipídico, se tomó una alícuota de volumen necesario (~1 mL) para tener 10 mg de lípidos una vez evaporado el disolvente bajo corriente de nitrógeno (Organomation N-EVAP, Model 111, Organomation Associates, Inc., EUA). Se añade 1 mL de tolueno y 2mL de metóxido sódico (0,5N) en metanol anhidro, y, tras homogenizar (1500 rpm, 30s) en vórtex (MaxiMix II Tube Mixer, M37615, Fisher Scientific Company, Canada), se calientan en un bloque calefactor (VWR™, modelo 949031, VWR International, Alberta, Canada) a 50ºC durante 15 min, agitando cada 5min. A los AGME obtenidos se les añade 1 mL de agua y se extraen con 3mL de hexano, recogiendo la fase superior obtenida tras la centrifugación (1000 xg, 5min) (Omnifuge RT 3842, Heraeus Electro-Nite, Canada) en un vial (4mL) que contiene sulfato sódico (~100 mg) para su conservación (-20ºC). De este extracto final de AGME (~ 2,5 mg/mL), se cogió una alícuota (2 mL) que se evaporó en corriente de nitrógeno (Organomation N-EVAP, Model 111, Organomation Associates, Inc., EUA) y se concentró en hexano (200 µL) para inyectar directamente en el HPLC y analizar los isómeros del CLA. A mayores, se toma otra alícuota (1 mL) para la inyección directa en el GC (con el programa de temperaturas de la isoterma a 150 º C, como se indica en la sección correspondiente de análisis cromatográficos).

3.7.3. Purificación de los ácidos grasos

En los ensayos de los Capítulos III y IV, los AGME (~ 1 mg) fueron purificados previamente a su análisis por cromatografía de gases (GC) mediante cromatografía en capa fina (TLC). Para ello, se emplearon placas de gel de sílice G (20cm x 20 cm, 250 µm, Analtech, Inc., Newark DE 19713, EUA) y una mezcla de hexano:éter dietílico:ácido acético (90:10:1) como solvente de elución. Se tomó una alícuota (400 µL) del extracto

de AGME y se disolvió en unas gotas de cloroformo para depositarla en la placa, sobre la que también se adicionó un patrón (TLC-18-5-A de NU-CHECK-PREP, Inc, Elysian MN, EUA). Una vez secas, se colocó la placa en el tanque de elución con la mezcla de solventes indicada hasta que el frente de elución llegó a 1 cm del borde. Después del secado de la placa, su rociado con 2,7-diclofluoresceína y su posterior visualización bajo luz UV (ULTRA-LUM Mod. EB40 & UV70; ULTRALUM, In. CA, EUA), las regiones identificadas como AGME mediante el patrón adicionado, se rascaron sobre embudos y fueron eluídas con cloroformo (2 x2 mL + 1mL) a lo largo de pipetas Pasteur de vidrio empaquetadas con lana de vidrio conteniendo ~100 mg de sílica. Los extractos obtenidos de AGME se evaporaron bajo una corriente de nitrógeno (Organomation N-EVAP, Model 111, Organomation Associates, Inc., EUA) y el residuo obtenido se disolvió en 1mL de hexano para su análisis por GC (~1 mg AGME/mL).

3.7.4. Análisis cromatográfico de los ácidos grasos en los tejidos animales

3.7.4.1. Análisis cromatográfico de ácidos grasos en el tejido muscular y la grasa subcutánea de las muestras de los Capítulos I y II

La separación e identificación de cada uno de los AGME se llevó a cabo mediante cromatografía de gases (GC) utilizando un cromatógrafo Varian 3900 (Varian, Instruments, Walnut Creek, CA, EUA) equipado con un detector de ionización de llama (FID), una columna capilar de sílice fundida SP-2560 (100 m × 0,25 mm diámetro interno, 0,2 μm espesor de película; Supelco, Bellefonte, EUA) y un inyector automático Varian 8410. El inyector y el FID se mantuvieron a temperaturas constantes de 250°C y 260°C, respectivamente. Al comienzo de cada análisis, la temperatura del horno de la columna se mantuvo a 140°C durante 5 min y luego se aumentó hasta 240°C a razón de 3°C/min, manteniendo finalmente la temperatura a 240°C durante 15 min. El gas portador utilizado fue el He a un flujo constante de 1,3 ml/min. Las muestras contenían ~10 mg/ml de AGME y se inyectaron 0,5 μL usando un split de 1:100. Con este programa de temperaturas, la mayoría de los isómeros *trans*-18:1 (*t*-18:1) y del CLA, no obtuvieron buena resolución, por lo que se contabilizaron como grupos de picos (Σ*t*6- a *t*10-18:1, Σ*t*13/*t*14-18:1 y ΣCLA (*c*9,*t*11- + *t*7,*c*9-18:2). No se buscó una mayor separación de Σ*t*6- a *t*10-18:1 ya que Aldai *et al*. (2008) encontraron que el contenido de *t*6- a *t*9-18:1 está altamente correlacionado con el de *t*10-18:1; y la determinación individual de los

isómeros *t*13- y *t*14-18:1 habría requerido la separación previa en clases de AGME (mono, di, tri, etc.) mediante cromatografía en capa fina (TLC) por reacción con ion plata (Ag-TLC) o mediante extracción en fase sólida (Ag-Ion SPE), seguida de un análisis de GC isotérmico para cada fase utilizando una temperatura relativamente baja (Precht *et al*., 2001). La contribución estimada del *t*7,*c*9-18:2 en la concentración total de CLA en lípidos de rumiantes es realmente baja (9-17%), y la determinación de los isómeros individuales del CLA también hubiese requerido adaptar la metodología de derivatización y posterior análisis cromatográfico, algo que sí se hizo para los ensayos de los Capítulos III y IV.

3.7.4.2. Análisis cromatográfico de ácidos grasos en el tejido muscular de las muestras de los Capítulos III y IV

3.7.4.2.1. Análisis cromatográfico de ácidos grasos e isómeros *trans*-18:1 en el tejido muscular de las muestras de los Capítulos III y IV

Los AGME de la metilación catalizada por ácido fueron analizados usando un cromatógrafo Varian 450-GC equipado con un inyector capilar (1079), un automuestreador (CP-8400) y un detector de ionización de llama (FID). Los AGME se separaron en una columna CP-Sil88 (100 m x 0,25µm de diámetro interno, 0,2 µm de espesor de película; Varian Inc., Lake Forest, CA, EUA). El inyector y el detector se mantuvieron a una temperatura igual y constante de 250ºC. Se empleó el hidrógeno como gas portador a una presión constante de 25 psi, resultando en un flujo de gas de 1 mL/min. El programa del horno de la columna fue el indicado en la metodología descrita por Kramer *et al*. (2002) como método base para el análisis detallado de isómeros *cis/trans*, pudiendo complementarse con otros análisis, como se detalla a continuación. Al comienzo de cada análisis, la temperatura de la columna se mantuvo a 45ºC durante 4 minutos, a continuación, se incrementó a razón de 13ºC/min hasta alcanzar 175ºC, manteniendo esta temperatura durante 27 min, aumentando nuevamente a razón de 4ºC/min hasta 215ºC, a la que se mantuvo durante 35 min; con un total de 86 minutos de tiempo de análisis. Se inyectó 1µL de muestra o mezcla patrón (~1mg AGME/mL) con un split de 20:1. Con este programa de temperaturas, la mayoría de los isómeros *trans*-18:1 (*t*-18:1) y del CLA no obtuvieron buena resolución. Para maximizar la separación de

los isómeros *t*-18:1 se realizó un segundo análisis con un programa de temperaturas complementario, con una isoterma a una temperatura más baja (150ºC) y por más tiempo (47 min), como sugieren Kramer *et al.* (2008), prolongándose el tiempo de análisis a 110,33 min. Para este segundo análisis, las muestras se concentraron (~2,5 mg AGME/mL) previamente para evitar la pérdida de altura provocada por esta separación más lenta (picos ensanchados).

3.7.4.2.2. Análisis cromatográfico de los isómeros del ácido linoleico conjugado (CLA) en el tejido muscular de las muestras de los Capítulos III y IV

El análisis del perfil isomérico del CLA se llevó a cabo en las muestras de metilación básica, mediante una separación cromatográfica en el GC con el programa que incluye la isoterma a 150ºC (GC-150, descrito en la sección anterior) y un análisis complementario mediante Ag^{+}-HPLC, siguiendo la metodología de Cruz-Hernandez *et al.* (2004). Se empleó un HPLC Varian ProStar 230 equipado con un automuestreador (ProStar 410) y la separación de los AGME se realizó mediante el acoplamiento en serie de tres columnas Chromspher 5 Lipids (250 mm x 4,6mm x ¼") empleando una fase móvil hexano:acetonitrilo (99,9:0,1, v/v) a un flujo de 1 mL/min e inyectando 10 µL de muestra (~2,5 mg AGME/mL). Finalmente, el detector de fotodiodos (PDA, ProStar 335) se fijó a una longitud de onda de 233 nm, específica de los dobles enlaces conjugados, para la detección y cuantificación de los isómeros. Con esta metodología, se consiguieron separaciones adecuadas para ambos isómeros posicionales y geométricos, eluyendo primero los isómeros *trans,trans*-, seguidos de los *cis,trans*- y finalmente de los *cis,cis*-; resolviéndose además, claramente, muchos isómeros posicionales dentro de cada grupo. En cambio, el isómero *c*9,*t*11-18:2 ($CLA_{c9,t11}$) coeluye en este caso con el *t*9,*c*11-18:2, de ahí la necesidad del análisis complementario por GC-150 para la corrección de cálculos.

3.7.5. Identificación y cuantificación de los ácidos grasos

Los picos de los AGME se identificaron utilizando, en las distintas separaciones realizadas (GC-175, GC-150 y HPLC), los patrones comerciales que se indican a continuación:

- La mezcla Supelco 37 Component FAME Mix y los ésteres metílicos del *trans*-11-18:1 (V1381) adquiridos de Supelco Inc. (Bellefonte, PA, EUA) y del 22:5*n-3* (methyl all-*cis*-5,8,11,14,17-eicosapentaenoate,17266) adquirido de Sigma-Aldrich (Merck Life Science S.L.U., Madrid, España).
- Los isómeros metilados del CLA: *c*9,*t*11-18:2 (methyl 9(Z), 11(E)-octadecadienoate; 1255) y *t*10,*c*12-18:2 (methyl 10(E), 12(Z)-octadecadienoate; 1254), adquiridos de Matreya, LLC (State College, PA, EUA).
- A mayores, se emplearon los patrones GLC-603 y GLC-463 de Nu-Check Prep, Inc. (Elysian, MN, EUA) para identificar los AGME no contenidos en la mezcla FAME Mix.
- Los AGCR se identificaron utilizando el patrón de referencia BC-Mix1 adquirido de Applied Science (State College, PA, EUA).
- Para la identificación de los isómeros del CLA se empleó la mezcla comercial de patrones UC-59-M (Nu-Chek Prep, Inc., Elysian, MN, EUA) que contenía los isómeros *c*9,*t*11-, *t*8,*c*10-, *c*11,*t*13-, *t*10,*c*12-, *c*8,*c*10-, *c*9,*c*11-, *c*10,*c*12-, *c*11,*c*13-, *t*11,*t*13-, *t*10,*t*12-, *t*9,*t*11- y *t*8,*t*10-18:2.
- Los isómeros *t*-18:1 y del CLA no incluidos en los patrones comerciales, fueron identificados según su orden de elución y su identificación previamente publicada mediante CG/MS (Cruz-Hernandez *et al.*, 2004, 2006; Kramer *et al.*, 2008).
- Para confirmar la identificación del pico, en muestras representativas, se han obtenido las fracciones de los AGME: i) AGS, ii) *trans*-AGMI e isómeros *t/t* de CLA, iii) *cis*-AGMI e isómeros *c/t* de CLA, iv) dienos, v) trienos y vi) tetraenos, mediante extracción y separación en fase sólida (Ag^{+}-SPE) (Kramer *et al.*, 2008).
- Los productos adicionales de biohidrogenación del LNA, específicamente *t*11,*t*15-18:2 y *c*9,*t*11,*t*15-18:3, fueron identificados de acuerdo con su caracterización previamente publicada (Gómez-Cortés *et al*., 2009) y su retención relativa respecto a ácidos grasos conocidos.

Para la cuantificación de los AGME, se inyectó por quintuplicado, cada día de análisis, la mezcla patrón (GLC-603) (1mg/mL) con el patrón interno *c*10-C17:1 (methyl *cis*-10-heptadecenoate, H29021, Sigma-Aldrich, Merck Life Science S.L.U., Madrid,

España) añadido en la misma concentración que en las muestras para separar los compuestos mediante GC-175. Se calculan los factores respuesta (FR) para cada AG individual relativos a ese patrón interno, y se obtiene la cantidad de cada uno de ellos a partir de la cantidad añadida y conocida de patrón interno. Para los compuestos no contenidos en la mezcla GLC-603 (pero identificados mediante las separaciones complementarias), se usaron los FR de los compuestos con igual número de enlaces, y misma isomería sí presentes en la mezcla patrón, de ser el caso (ej. Para 16:0iso el del 16:0, para los *trans*-18:1 el de *t*9-18:1, etc.).

Es necesario controlar la integración correcta del área de cada pico, por eso, cuando no se obtuvo buena resolución en la línea base mediante la separación en GC-175, hubo que calcular el área de pico/s problema mediante los resultados combinados de las tres separaciones (GC175xGC150xHPLC), para referirlas a los datos del análisis GC-175. Se obtiene, en cada una de las separaciones complementarias (GC150 y HPLC), el factor de cada pico/s problema relativo al compuesto (o suma de compuestos) más apropiado y se corrigen las áreas en el GC-175 respecto al mismo pico (o suma de picos). Los resultados de AG se expresaron como porcentaje del total de AG identificados y, en algún caso específico, se han calculado las cantidades acumuladas en el LT (mg AG/100g músculo).

3.8. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el programa estadístico SAS (versión 9.2; SAS Institute Inc., 2009) mediante el procedimiento MIXED de SAS. Al no haber dispuesto de un sistema de alimentación controlada para la realización del ensayo, los animales fueron alimentados en grupo, por lo que la ingesta de alimento no se analizó estadísticamente. Para el resto de los parámetros evaluados (características de producción animal, atributos de la canal, calidad de la carne y composición de ácidos grasos) medidos en animales individuales, se consideró el animal como la unidad experimental. Se asumió un efecto lote insignificante debido a la idéntica estructura de los cebaderos y prácticas de manejo, amplio espacio para ser alimentados y consumo *ad libitum* en lugar de limitado (St-Pierre, 2007).

El modelo estadístico general incluyó la dieta como efecto principal:

$$Y_{ij} = \mu + D_i + \varepsilon_{ij}$$

Y_{ij} = la observación de la dieta *i*, y el animal *j* para cualquiera de las variables dependientes analizada

μ = media mínima cuadrática

D_i = efecto fijo debido al tipo de dieta (aceite linaza, girasol o soja, Cap. I; control, semilla linaza, semilla girasol o semilla de soja, Cap. II) o sistema de manejo (extensivo o semiextensivos mediante suplementación con linaza en campo o en cebadero, Cap. IV).

ε_{ij} = desviación residual aleatoria asociada a la observación *ij*.

Por otra parte, en el ensayo del Capítulo III, además del tipo de dieta, se incluyó el efecto sexo y su interacción en el modelo estadístico:

$$Y_{ijk} = \mu + D_i + S_j + (DS)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Y_{ijk} = la observación de la dieta *i*, sexo *j* y animal *k* para cualquiera de las variables dependientes analizadas.

μ = media mínima cuadrática

D_i = efecto fijo debido al tipo de dieta (suplementación con linaza al 5, 10 o 15% MS).

S_j = efecto fijo debido al sexo (macho o hembra)

$(DS)_{ij}$ = interacción dieta X sexo

ε_{ijk} = desviación residual aleatoria asociada a la observación ijk

Para calcular los grados de libertad se usó el método de Kenward-Rodgers y las medias para las dietas experimentales y los valores *p* se generaron usando las opciones LSMEANS y PDIFF del SAS. Las diferencias se consideraron significativas para $P<0,05$.

CAPÍTULO I

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Los resultados obtenidos del Capítulo I han sido publicados en el siguiente artículo, cuya información ampliada se incluye en el ANEXO de la presente Tesis:

González, L.; Moreno, T.; Bispo, E.; Dugan, M.E.R.; Franco, D. (2014). Effect of supplementing different oils: Linseed, sunflower and soybean, on animal performance, carcass characteristics, meat quality and fatty acid profile of veal from "Rubia Gallega" calves. *Meat Science* 96(2), Part A, 829-836. doi:10.1016/j.meatsci.2013.09.027

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

4. CAPÍTULO I

RESPUESTA ANIMAL A LA SUPLEMENTACIÓN CON ACEITES EN LA DIETA DE TERNERAS DE LA RAZA RUBIA GALLEGA EN TÉRMINOS DE PRODUCCIÓN, VARIACIÓN DEL PERFIL LIPÍDICO Y CARACTERÍSTICAS DE LA CALIDAD DE LA CANAL

4.1. INTRODUCCIÓN

La Rubia Gallega (RG) es una de las razas locales más importantes de ganado vacuno en España (ACRUGA, 2020; MAPA, 2020b) y se puede encontrar en el mercado comercial bajo la Indicación Geográfica Protegida (IGP) de *Ternera Gallega* (DOUE, 1996). Los animales dentro de esta IGP son principalmente terneros (99%, ≤10 meses) y representa el 55% de la carne con IGP certificada y comercializada en España, con el 46% en Galicia, el 51% en otras áreas de España y el 3% exportado (Ternera Gallega, 2019). El sistema de producción tradicional para el ganado de RG es en semiextensivo mediante un período de pastoreo con lactancia materna seguido de una dieta de acabado en cebadero a base de concentrado durante 2-3 meses (Bispo, 2010; Moreno, 2004). En el sistema tradicional de acabado para RG, las dietas contienen altas proporciones de concentrado, de manera similar a los sistemas de producción utilizados en el noroeste de España (Aldai *et al.*, 2010; Humada *et al.*, 2012), aunque las formulaciones de la dieta tradicional de RG suelen contener subproductos (por ejemplo, pulpa de remolacha azucarera) en sustitución de la cebada.

En el noroeste de España, se han encontrado altas proporciones de ácidos grasos (AG) *trans* (*t*) en los lípidos de carne de bueyes de la raza Asturiana de los Valles alimentados con una dieta alta en concentrado a base de cebada e incluyendo un 3% de aceite de soja y paja como fuente de forraje (Aldai *et al.*, 2010), lo que resultó en un porcentaje muy alto de *t*10-18:1 en los AG del tejido muscular (6,71% en *longissimus thoracis,* LT). Esto puede ser problemático ya que el consumo de *t*10-18:1 está relacionado con cambios poco saludables en los perfiles de lipoproteínas plasmáticas en modelos animales (Roy *et al.*,

2007), mostrándose en estudios epidemiológicos que el consumo de *t*AG en general puede ser perjudicial para la salud humana (Mozaffarian *et al.*, 2009; Brouwer *et al.*, 2013).

La carne de ternera es una parte integral de la dieta española, y aunque el volumen de consumo de carne fresca se ha reducido en los últimos años, en el 2018 supuso el 15% del total de kilos consumidos, representando el 5% del consumo anual de carne fresca *per cápita* (MAPA, 2019), situándose por debajo del 13% de consumo per cápita del 2009 (Cerdeño, 2010). Desde hace décadas se recomienda limitar el consumo de carne debido a su alto contenido de AG saturados (AGS; Serra-Majem *et al.*, 1995) y, por lo tanto, recomendaciones adicionales en la misma línea basadas en su perfil de *t*AG serían indeseables para la industria. Sin embargo, la carne de bovino puede ser una fuente de AG poliinsaturados (AGPI) de cadena larga (CL) en poblaciones con un consumo limitado de pescado (Howe *et al.*, 2006). Las grasas procedentes de los rumiantes también pueden enriquecerse con productos intermedios de la biohidrogenación de los AGPI de la dieta, distintos del *t*10-18:1, que se originan en el rumen. Estos incluyen el isómero de ácido linoleico conjugado (CLA) más abundante, el ácido ruménico (*cis* (*c*) 9, *t*11-18:2; $CLA_{c9,t11}$) (Fritsche *et al.*, 2000), y su precursor, el ácido *trans* vaccénico (TVA, *t*11-18:1), el isómero *t*18:1 predominante en rumiantes alimentados con forraje (Harfoot y Hazlewood, 1997). La mayor parte del $CLA_{c9,t11}$ en la carne de bovino en realidad proviene de la desaturación Δ-9 del TVA absorbido (Corl *et al.*, 2001). A pesar de contener dobles enlaces *trans*, el ácido ruménico se considera potencialmente beneficioso para la salud (Dilzer y Park, 2012), y el TVA por sí sólo también podría tener efectos adicionales (Wang *et al.*, 2012; 2016). Los potenciales beneficios para la salud asociados al TVA, $CLA_{c9,t11}$ y *n-3*AGPICL han llevado a esfuerzos coordinados para aumentar sus niveles en carne de bovino mediante la alimentación con aceites/semillas oleaginosas ricas en AGPI, entre las que se incluye la soja (Ludden *et al.*, 2009), el girasol (Noci *et al.*, 2007) o la linaza (He *et al.*, 2011).

El presente estudio fue un experimento como punto de partida para caracterizar la composición de AG de la ternera RG cuando se suplementa una dieta típica de acabado con fuentes de aceite fácilmente disponibles y que poseen diferentes niveles de ácidos linoleico (LA) o α-linolénico (LNA). Específicamente, se incluyó el aceite de linaza (L) porque es rico en LNA y un precursor de TVA, $CLA_{c9,t11}$ y *n-3*AGPICL; mientras que los aceites de girasol (G) o de soja (SJ) se incluyeron debido a su alto contenido en LA, un

precursor de ambos TVA y *t*10-18:1; aunque el aceite de soja posee un contenido más equilibrado de LA y LNA.

El objetivo del presente experimento fue determinar el efecto de estos aceites sobre las acumulaciones de AGPI *n-3*, $CLA_{c9,t11}$, TVA y *t*-18:1 en el LT y en la grasa subcutánea (GSC), evaluando si este efecto mejora la calidad de la canal y la calidad organoléptica y nutricional de la carne. Aunque existen varios trabajos que confirman que las dietas enriquecidas con AGPI pueden mejorar los perfiles de AG de carne de bovino, la información acerca del efecto en animales jóvenes (<10 meses) es incompleta y limitada para las condiciones de manejo/producción en las granjas de Galicia. Dado el alto consumo de carne de vacuno joven en España y en otros países del sudoeste de Europa, a fin de contribuir a un mejor conocimiento, se realizó el experimento cuyos resultados se incluyen en el presente trabajo.

4.2. MATERIAL Y MÉTODOS

4.2.1. Diseño experimental y manejo animal

El estudio cumplió rigurosamente con las políticas de la UE con respecto al bienestar de los animales de experimentación (DOUE, 2010). Se utilizaron 21 terneras RG del rebaño experimental del Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (CIAM, A Coruña, 43º 15´ N, 8º 18´ W).

Los animales nacieron en otoño y fueron criados con sus madres en el pasto hasta los siete meses de edad (Figura 4.1). Después del destete, los terneros, bloqueados por peso (PN) y fecha de nacimiento, fueron asignados aleatoriamente a tres grupos de siete animales/lote y alojados en el cebadero con bebederos y comederos a su disposición. Durante la realización de los ensayos de la presente Tesis, no se ha podido estabular y alimentar a los animales de manera individual, pero el agrupamiento de los animales por dieta y el uso de los animales individuales como unidad experimental se consideró apropiado, ya que los efectos de la dieta eran esperados y se buscaba observar sólo el grado de diferencia (Robinson *et al.*, 2006).

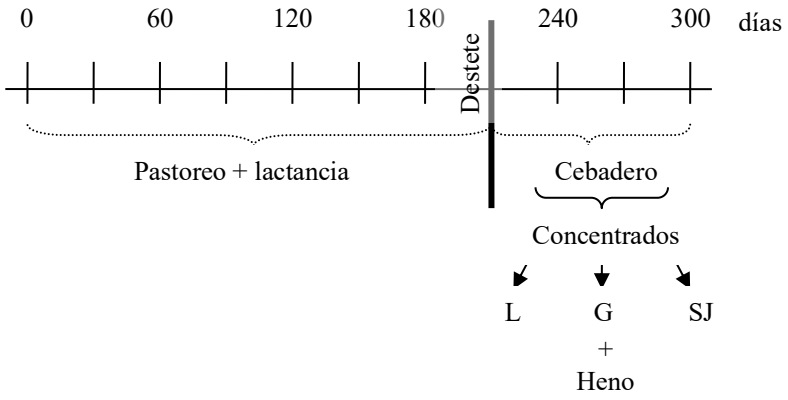


Figura 4.1. Diagrama del diseño y duración del experimento con terneras de raza Rubia Gallega alimentadas con concentrados enriquecidos con aceite de linaza (L), girasol (G) o soja (SJ).

Las dietas se ofrecieron diariamente *ad libitum* durante 90 días antes del sacrificio (300 días) y consistieron en heno de hierba y concentrado suplementado con L, G o SJ, según tratamiento. Las ingestas de concentrado y heno (IC e IH) se calcularon como la diferencia entre las cantidades ofrecidas y rechazadas diariamente por cada grupo de animales. El peso vivo de los terneros se registró al nacimiento, al inicio del experimento (P7meses) y cada dos semanas, empleándose para calcular la ganancia media diaria durante los períodos de pastoreo (GMD_P) y cebadero (GMD_C).

4.2.2. Aceites y concentrados

El concentrado base (ingredientes en la nota a pie de tabla [a], Tabla 4.1) utilizado en este experimento se adquirió en Piensos Fauna, S.L (España), y a éste se añadió diariamente un 4,5% (materia seca, MS) de los respectivos aceites: linaza, girasol y soja mediante pulverización manual y homogenización en carro mezclador, para proporcionar un contenido total de grasa del 6% en cada concentrado individual. Los aceites de girasol y de soja fueron proporcionados por Bunge Ibérica, S.A (España), mientras que el de linaza fue adquirido a Sictia (S.A., Francia). Los aceites fueron conservados en un rango de temperatura de 10-20º C y en oscuridad, para evitar precipitaciones de gomas o fosfátidos a bajas temperaturas y oxidación de los aceites a altas temperaturas.

4.2.3. Análisis de alimentos

Las muestras de alimento (0,5 kg), recolectadas cada dos semanas, fueron analizadas por el Laboratorio Agrario y Fitopatológico de Galicia (LAFIGA) para la determinación del contenido en MS, proteína buta, fibra bruta, materia orgánica, cenizas, extracto etéreo, fibra ácido detergente y fibra neutro detergente, de acuerdo con la normativa ISO correspondiente, como se indica en la Metodología General de esta Tesis (3.4.1 y 3.4.2). La energía metabolizable (EM), la energía neta para mantenimiento (ENm) y la energía neta para ganancia (ENg) se calcularon de acuerdo con las fórmulas indicadas por el NRC (2000).

El perfil de AG de los alimentos se analizó en muestras frescas molidas y envasadas al vacío (99%) (Tecnotrip EV-15-1CD, Terrasa, España) que fueron almacenadas a -20°C hasta el día de su análisis (< 1 mes). Los lípidos totales de las muestras de alimento se extrajeron mediante el método de Folch *et al.* (1957), siendo los AG posteriormente convertidos en sus ésteres metílicos (AGME) mediante transesterificación (Morrison y Smith, 1964), como se indica en la sección 3.4.3.2.1 de Metodología General. Finalmente, los AGME del alimento se analizaron utilizando las mismas condiciones cromatográficas que se describen más adelante para el LT y la GSC (4.2.6.2).

4.2.4. Sacrificio y toma de muestras

Los animales fueron pesados (PV) antes de ser sacrificados en un matadero comercial a 4 km de distancia del CIAM. Después del sacrificio, se registró el peso de la canal en caliente (PCC) y se clasificó según su conformación y cobertura de grasa de acuerdo con los estándares europeos para bovino (DOUE, 2006) como se indica en la Metodología General (3.5.1). Las canales se enfriaron a 2°C durante la noche y a las 24 h *post-mortem* (*pm*) se diseccionó el LT de la pieza de lomo entre la quinta y la décima costilla de la media canal izquierda. Las muestras de LT fueron llevadas inmediatamente al laboratorio en condiciones refrigeradas. Se retiraron del LT las muestras de GSC y se congelaron (-30°C) hasta la posterior extracción de AG. Comenzando desde el extremo de la quinta costilla, del LT se procedió con su fileteado y muestreo (Met. Gral., 3.5.2).

4.2.5. Análisis fisicoquímico y sensorial del *Longissimus thoracis*

4.2.5.1. pH, color, mioglobina y composición química

El $pH_{24h,pm}$ y los parámetros de color (luminosidad, índice de rojo, índice de amarillo, croma y tonalidad) se midieron según la metodología descrita por Franco *et al.* (2009), detallada, respectivamente, en las secciones 3.6.1.1 y 3.6.1.3 de Metodología General. Para determinar la composición química (humedad, cenizas, grasa y proteína) se usó un espectrofotómetro de infrarrojo cercano (Foss Tecator NIRS Neotec 6500, Dinamarca) siguiendo la metodología propuesta por Moreno *et al.* (2007a) (Met. Gral., 3.6.1.2).

4.2.5.2. Capacidad de retención de agua

La capacidad de retención de agua (CRA) se midió mediante las PC, PP y PG como se indica en la Metodología General (3.6.1.4). Las PC y PP fueron determinadas según lo descrito por Franco *et al.* (2009). Las PG se midieron siguiendo el procedimiento descrito por Honikel (1998) mediante el cual el filete se pesó y colocó sobre una red dentro de un recipiente a 4°C durante 48 h, y posteriormente se volvió a pesar para calcular las PG expresadas como un porcentaje respecto al peso inicial.

4.2.5.3. Análisis de Textura Warner-Bratzler y Perfil de textura (TPA)

Las medidas del análisis de textura mediante el test de Warner-Bratzler (WB) y el TPA se evaluaron en muestras cocidas y crudas, respectivamente, de acuerdo con la metodología descrita por Franco *et al.* (2009) y detallada en la sección 3.6.2 de Metodología General. La velocidad empleada fue de 3,33 y 1 mm/s para el test de WB y TPA, respectivamente. En el test de WB se midieron tres parámetros: fuerza de corte máxima, firmeza al corte y trabajo total requerido para cortar la muestra; mientras que, en el TPA, se obtuvieron los siguientes atributos: dureza, elasticidad, cohesión, gomosidad y masticabilidad.

4.2.5.4. Análisis Sensorial

El diseño y las evaluaciones realizadas en el ensayo sensorial se llevaron a cabo según lo descrito por Bispo *et al.* (2010a), como se indica en la sección 3.6.3 de

Metodología General. Los panelistas seleccionados y entrenados evaluaron el sabor de la carne determinando, en una escala de diez puntos, la intensidad de varios atributos de olor y gusto (lácteo, hígado, cárnico, graso) y la de cuatro atributos de textura: dureza, jugosidad, masticabilidad y elasticidad. Las muestras fueron evaluadas durante dos días y cada día se dividió en tres sesiones con un filete de cada dieta experimental evaluado por sesión. En cada sesión, los panelistas evaluaron muestras de ubicación aleatoria de cada uno de los filetes.

4.2.6. Análisis de ácidos grasos: *longissimus thoracis* y grasa subcutánea

4.2.6.1. Extracción lipídica y derivatización

La grasa intramuscular (GIM) del LT se extrajo de acuerdo con la metodología propuesta por Bligh y Dyer (1959) determinando gravimétricamente su contenido tras la evaporación del solvente usando un rotavapor equipado con un baño de agua a 40 °C (Met. Gral., 3.7.1.1). Previamente a la preparación de los AGME, usando metóxido de sodio seguido de ácido clorhídrico en metanol (Carreau y Dubacq, 1978), se añadió un patrón interno (éster metílico C19: 0 al 10%) a la GSC y a los lípidos extraídos del LT (Met. Gral., 3.7.2.1).

4.2.6.2. Condiciones cromatográficas

Los AGME se analizaron por cromatografía de gases (GC) utilizando un GC Varian 3900 (Varian, Instruments, Walnut Creek, CA, EUA) equipado con un detector de ionización de llama (FID), una columna capilar de sílice fundida SP-2560 (100 m × 0,25 mm diámetro interno, 0,2 μm espesor de película; Supelco, Bellefonte, EUA) y un inyector automático Varian 8410. El inyector y el FID se mantuvieron a temperaturas constantes de 250°C y 260°C, respectivamente. Al comienzo de cada análisis, la temperatura del horno de la columna se mantuvo a 140°C durante 5 min y luego se aumentó hasta 240°C a razón de 3°C/min, manteniendo finalmente la temperatura a 240°C durante 15 min. El gas portador utilizado fue el He a un flujo constante de 1,3 ml/min. Las muestras contenían ~10 mg/ml de AGME y se inyectaron 0,5 μL usando un split de 1:100. Con este programa de temperatura, algunos isómeros *t*18:1 no se resolvieron bien por lo que se contabilizaron como grupos de picos (Σ*t*6- a *t*10-18:1 y Σ*t*13/*t*14-18:1). En concordancia con Aldai *et al.* (2008), quienes indican una correlación

entre el contenido de los isómeros *t*6- a *t*9-18:1 y el de *t*10-18:1, no se ha optimizado la separación de Σ*t*6- a *t*10-18:1 para este ensayo; y por otro lado, la determinación individual de los isómeros *t*13- y *t*14-18:1 habría requerido la separación previa mediante cromatografía en capa fina por reacción con ion plata o mediante extracción en fase sólida, seguida de un análisis de GC isotérmico utilizando una temperatura relativamente baja (Precht *et al.*, 2001). Los picos de los AGME se identificaron utilizando los patrones comerciales Supelco 37 Component FAME Mix y el de TVA adquiridos ambos de Supelco Inc. (Bellefonte, PA, EUA). A mayores, se emplearon los patrones GLC-603 y GLC-463 de Nu-Check Prep, Inc. (Elysian, MN) para identificar los AGME no contenidos en la mezcla FAME Mix. Los AGME de cadena ramificada (CR) se identificaron utilizando el patrón de referencia BC-Mix1 adquirido de Applied Science (State College, PA, EUA). Los AGME adicionales no presentes en los patrones comerciales empleados se identificaron en base a su orden de elución (Cruz-Hernandez *et al.*, 2004). La cuantificación de los AGME se realizó mediante rectas de calibrado empleando el área de pico y utilizando el método de patrón interno. Los resultados de AGME se expresaron como porcentaje del total de AGME identificados.

4.2.7. Análisis estadístico

Los datos se analizaron mediante el procedimiento MIXED de SAS (versión 9.2, SAS 2009) y el modelo estadístico incluyó la dieta como efecto principal. Como los animales fueron alimentados en grupo, la ingesta de alimento no se analizó estadísticamente. Para el resto de los parámetros evaluados (características de producción animal y de canal, calidad de carne y AG) medidos en animales individuales, se consideró el animal como la unidad experimental. El método de Kenward-Rodgers se usó para calcular los grados de libertad del denominador, y las medias se separaron usando la opción PDIFF de SAS. Las diferencias se consideraron significativas para $P<0,05$.

4.3. RESULTADOS

4.3.1. Composición de los alimentos

La composición de nutrientes de las fuentes de concentrado y forraje se resumen en la Tabla 4.1. Los concentrados fueron formulados para ser isoproteicos e isoenergéticos, resultando en un contenido similar de extracto etéreo, EM y valores de EN. Los animales consumieron forraje y concentrado en una proporción de 25:75 (base de MS) de media y, como tal, se considerarían dietas altas en concentrado. Sin embargo, la formulación del concentrado base (es decir, sin aceite añadido) sólo contenía un 48,5% de granos pequeños de cereales y una cantidad considerable de pulpa de remolacha azucarera (23,8%, nota a pie de tabla [a], Tabla 4.1).

Tabla 4.1. Composición nutricional promedio (g/kg MS) del concentrado y fuentes de forraje ofrecidas a terneras de raza Rubia Gallega

	Concentrado				
	L[a]	G[a]	SJ[a]	Heno	Pasto fresco
MS (g/kg materia fresca)	880,0	891,3	882,0	878,9	131,8
PB	160,2	153,2	198,8	73,2	196,1
FB	86,0	93,0	97,0	333,5	199,4
Cenizas	62,0	67,4	63,8	-	-
EE	54,0	64,4	65,3	-	-
FAD	105,3	113,4	118,3	390,0	239,6
FND	230,0	233,3	225,0	640,1	463,1
EM (MJ/kg MS)	12,16	12,03	11,94	7,34	9,89
ENg (MJ/kg MS)	5,47	5,37	5,31	1,55	3,74
ENm (MJ/kg MS)	8,18	8,06	7,99	3,83	6,22

L: aceite de linaza; G: aceite de girasol; SJ: aceite de soja
MS: materia seca; PB: proteína bruta; FB: fibra bruta; EE: extracto etéreo; FAD: fibra ácido detergente; FND: fibra neutro detergente; EM: energía metabolizable; ENg: energía neta para ganancia; ENm: energía neta para mantenimiento.
[a] Formulado añadiendo 4,5% del aceite respectivo (linaza, girasol o soja) al concentrado base (95,5%) con los siguientes ingredientes (%): 40 cebada, 23.8 pulpa de remolacha, 17,9 harina de extracción de soja tostada (44% proteína cruda), 8,5% trigo, 2,6 melaza de caña, 2,4 harina de alfalfa, 1,09 fosfato bicálcico, 1,1 carbonato cálcico, 0,8% bicarbonato de sodio y 0,5 cloruro de sodio. Esta ración fue suplementada con 1,1% de un mix vitamínico conteniendo (en base alimentada): vitamina A (8000 UI/Kg), vitamina D3 (2500 UI/Kg), vitamina E (20 ppm). Además, se añadieron 2g de vitamina E (1000 UI/día/animal) a las dietas.

Durante la fase de pastoreo, los lípidos del pasto fresco proporcionaron mayores proporciones de LNA y AGPI y menores proporciones de LA y AGMI en comparación con otros alimentos (Tabla 4.2). Durante el período de acabado, los concentrados de L y SJ aportaron la mayor proporción de ΣAGPI y de ΣAGS, respectivamente. En todos los

concentrados, el AGS principal fue el C16:0; en cuanto a los AGPI, los concentrados de G y L mostraron como mayoritarios el LA y el LNA respectivamente, mientras que el concentrado de SJ mostró niveles intermedios de LA y LNA en comparación con los otros concentrados.

Tabla 4.2. Composición promedio de ácidos grasos (% del total de ácidos grasos) de los alimentos ofrecidos a terneras de raza Rubia Gallega

	Concentrado				
	L	G	SJ	Heno	Pasto fresco
AG totales (g/100g alimento)	4,35	4,81	4,46		
16:0	5,97	6,61	11,64	36,17	15,41
18:0	3,76	3,48	2,89	5,00	1,23
*c*9-18:1	18,64	25,56	24,36	15,20	3,15
18:2*n-6* (LA)	15,75	62,76	53,83	21,87	13,51
18:3*n-3* (LNA)	55,46	0,18	6,02	14,69	58,67
∑AGS	9,87	11,04	15,1	46,33	18,90
∑AGMI	18,74	25,66	24,45	16,53	5,13
∑AGPI	71,39	63,3	60,45	36,86	74,20

L: aceite de linaza; G: aceite de girasol; SJ: aceite de soja.
LA: ácido linoleico; LNA: ácido α-linolénico; ∑AGS (ácidos grasos saturados)= 14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:0, 20:0, 22:0 y 24:0 ; ∑AGMI (Ácidos Grasos Monoinsaturados)= *c*9-16:1, *c*9-17:1, *c*9-18:1 y *c*11-20:1; ∑AGPI (Ácidos Grasos Poliinsaturados)= 18:2*n-6*, 18:3*n-3*, 20:2n-2 y 20:3*n-3*.

4.3.2. Características de producción animal y calidad de la canal

Como se puede observar en la Tabla 4.3, el tipo de aceite añadido a la dieta animal no afectó al rendimiento animal ni a ninguna de las características medidas sobre la canal (P>0,05).

4.3.3. Características fisicoquímicas y atributos sensoriales del *longissimus thoracis*

El tipo de aceite incluido en el concentrado base no influyó (P>0,05) en la composición química, en el $pH_{24h,pm}$, en los parámetros de color ni en la CRA medida por PP, PG o PC (Tabla 4.4).

Tabla 4.3. Efecto del tipo de aceite suplementado en el concentrado sobre las características de producción animal y calidad de la canal de terneras de raza Rubia Gallega

	Concentrado			
	L	G	SJ	SEM
Rendimiento Animal				
PN (kg)	40,50	39,71	41,57	2,458
P7meses	237,29	224,14	229,93	7,435
IC (kg MS/animal/d)	5,94	5,76	5,70	-
IH (kg MS/animal/d)	1,65	1,73	1,68	-
GMD_P (kg/d)	1,16	1,10	1,16	0,062
GMD_C (kg/d)	1,29	1,18	1,23	0,054
Edad Sacrificio (d)	305,71	307,71	302,14	2,336
PV (kg)	356,57	329,00	347,43	13,495
Características de canal				
PCC (kg)	182,36	159,33	170,99	8,159
PCF (kg)	178,71	156,14	167,57	7,996
Rendimiento Canal[1]	50,04	47,36	48,23	0,943
SEUROP-CS	7,71	6,86	8,57	0,535
SEUROP-FC	7,86	7,57	7,14	0,301

L: aceite de linaza; G: aceite de girasol; SJ: aceite de soja. SEM= error estándar de la media; Las diferencias entre dietas de los presentes datos no fueron estadísticamente significativas (ns): P>0,05
PN: peso al nacimiento, P7meses: peso al inicio del período de cebo; IC: Ingesta de concentrado; IH: Ingesta de heno; GMD_P: ganancia media diaria para el periodo de pastoreo; GMD_C: ganancia media diaria para el periodo de cebo; PV: peso vivo al sacrificio; PCC: peso canal en caliente; PCF: peso canal en frío (PCF=PCCx0,98).
[1]Rendimiento canal, calculado como RC = PCF/(PV x100)
SEUROP-CS (escala conformación de canal)= 15 para E^+ hasta 1 para P^-; 6=O^+; 8=R
SEUROP-FC (escala cobertura de grasa de la canal)= 1-15; 7= 3^-; 8=3.

Tabla 4.4. Efecto del tipo de aceite suplementado en el concentrado sobre las características fisicoquímicas del *longissimus thoracis* de terneras de raza Rubia Gallega

	Concentrado			
	L	G	SJ	SEM
Composición química (%)				
Humedad	75,62	75,82	75,80	0,290
Cenizas	1,14	1,27	1,14	0,089
Grasa	3,01	3,17	2,87	0,354
Proteína	21,06	20,97	21,35	0,156
$pH_{24h,\ pm}$	5,51	5,55	5,49	0,051
Parámetros de color				
L* (luminosidad)	39,38	38,28	38,09	0,816
a* (índice de rojo)	17,70	16,82	17,12	0,415
b* (índice de amarillo)	8,39	7,26	7,30	0,36
Croma $\sqrt{(a^{*2} + b^{*2})}$	19,59	18,33	18,62	0,488
Tono $(\tan^{-1}(b^*/a^*))$	29,56	26,47	26,13	1,141
Capacidad de retención de agua (%)				
Pérdidas por presión (PP)	24,96	25,26	23,60	1,246
Pérdidas por goteo (PG)	3,66	3,98	3,91	0,222
Pérdidas por cocción (PC)	21,73	23,00	21,59	0,950

L: aceite de linaza; G: aceite de girasol; SJ: aceite de soja. SEM= error estándar de la media; Las diferencias entre dietas de los presentes datos no fueron estadísticamente significativas (ns): P>0,05

Tampoco se encontraron efectos de la dieta en ninguno de los parámetros de textura medidos mediante el test WB o el TPA, ni en los diferentes atributos de olor o gusto determinados por los panelistas por medio del análisis sensorial (P>0,05, Tabla 4.5). Sin embargo, cuando los panelistas evaluaron los atributos de textura, otorgaron puntuaciones ligeramente más bajas de masticabilidad, jugosidad y aceptabilidad general a la carne de ternera producida bajo la dieta G (P<0,05, Tabla 4.5), mientras que no se encontraron diferencias en la elasticidad ni en la dureza subjetiva.

Tabla 4.5. Efecto del tipo de aceite suplementado en el concentrado sobre los parámetros de textura y atributos sensoriales del *longissimus thoracis* de terneras de raza Rubia Gallega

		Concentrado			
		L	G	SJ	SEM
Test fuerza de corte WB					
Fuerza de corte (kg/cm^2)		4,79	4,04	3,87	0,321
Firmeza al corte (kg/cm^2)		1,95	1,65	1,63	0,162
Trabajo (kg*s)		10,54	9,26	8,18	0,761
Test TPA					
Dureza (kg/cm^2)		17,87	19,03	19,43	0,860
Elasticidad		0,46	0,48	0,46	0,007
Cohesividad		0,53	0,52	0,53	0,009
Gomosidad (kg/cm^2)		9,90	10,00	10,33	0,549
Masticabilidad (kg)		4,59	4,77	4,74	0,267
Atributos sensoriales de sabor					
Olor	Lácteo	3,58	3,55	3,89	0,301
	Hígado	3,71	3,67	3,55	0,382
	Cárnico	4,60	4,35	4,29	0,380
	Graso	2,76	2,65	2,87	0,376
Gusto	Lácteo	3,18	3,01	3,61	0,300
	Hígado	3,56	3,26	3,74	0,325
	Cárnico	4,51	4,18	4,57	0,306
	Graso	3,20	3,38	3,24	0,399
	Salado	2,37	2,52	2,41	0,266
Atributos sensoriales de textura					
Elasticidad		4,81	4,94	4,87	0,288
Dureza		4,00	4,64	3,89	0,283
Masticabilidad		5,73^a	4,99^b	6,42^a	0,258
Jugosidad		5,36^a	4,42^b	5,24^a	0,274
Aceptabilidad general		5,52^a	4,69^b	5,45^a	0,256

L: aceite de linaza; G: aceite de girasol; SJ: aceite de soja. SEM= error estándar de la media.
$^{a.b.c}$ Las medias dentro de la misma línea con diferentes superíndices difieren significativamente (P≤0,05)
WB: Warner-Bratzler; TPA: análisis del perfil de textura.

4.3.4. Perfil de ácidos grasos: *longissimus thoracis* y grasa subcutánea

4.3.4.1. Ácidos Grasos Poliinsaturados (AGPI)

En la Tabla 4.6 se muestra el contenido medio de GIM del LT y los valores medios de la composición de AGPI en el LT y la GSC obtenidos para cada dieta. Como puede observarse, el contenido de GIM y la proporción de ΣAGPI en el LT no se han visto afectados por la fuente de aceite incluida en el concentrado (P>0,05).

Tabla 4.6. Efecto del tipo de aceite suplementado en el concentrado sobre la composición de ácidos grasos poliinsaturados (% del total de ácidos grasos) del *longissimus thoracis* y la grasa subcutánea de terneras de raza Rubia Gallega

	Longissimus thoracis				Grasa subcutánea			
	Concentrado				Concentrado			
	L	G	SJ	SEM	L	G	SJ	SEM
GIM (g/100g carne)	2,63	2,91	2,59	2,333	-	-	-	
Ácidos grasos poliinsaturados (AGPI)								
18:2*n-6* (LA)	4,70	5,03	4,94	0,460	1,38^{b}	2,04^{a}	1,92^{a}	0,074
∑*n-6*AGPI	6,04	6,14	6,18	0,538	1,40^{b}	2,08^{a}	1,97^{a}	0,075
18:3*n-3* (LNA)	1,59^{a}	0,55^{b}	0,75^{b}	0,143	0,79^{a}	0,28^{b}	0,30^{b}	0,039
20:5*n-3* (EPA)	0,44^{a}	0,22^{b}	0,29^{b}	0,041	-	-	-	
22:5*n-3* (DPA)	0,39^{a}	0,20^{b}	0,28^{ab}	0,041	-	-	-	
22:6*n-3* (DHA)	0,04	0,08	0,04	0,033	-	-	-	
∑*n-3*AGPI	2,48^{a}	1,06^{b}	1,37^{b}	0,211	0,83^{a}	0,30^{b}	0,32^{b}	0,039
n-6/*n-3*	2,66^{c}	5,95^{a}	4,61^{b}	0,367	1,72^{b}	7,21^{a}	6,14^{a}	0,420
CLA total	0,47	0,52	0,54	0,045	0,70	0,82	0,83	0,083
∑AGPI	9,02	7,75	8,12	0,674	2,93	3,20	3,13	0,106

L: aceite de linaza; G: aceite de girasol; SJ: aceite de soja. SEM= error estándar de la media;
$^{a.b.c}$ Las medias dentro de la misma línea con diferentes superíndices difieren significativamente (P≤0,05); ∑*n-6*= 18:2*n-6*, 18:3*n-6*, 20:3*n-6*, 20:4*n-6* y 22:4*n-6*; ∑*n-3*= 18:3*n-3*, 20:3*n-3*, 20:5*n-3*, 22:5*n-3* y 22:6*n-3*; *n-6*/*n-3*=∑*n-6*/∑*n-3*; CLA total= pico combinado de *c*9,*t*11-18:2 and *t*7,*c*9-18:2; ∑ AGPI= ∑*n-6*, ∑*n-3* y CLA total.

La alimentación con cualquiera de las dietas experimentales resultó en una mayor proporción de Σ*n-6*AGPI que de Σ*n-3*AGPI en el LT, siendo el LA el AGPI predominante en todos los casos. El porcentaje de Σ*n-6*AGPI y el de los *n-6*AGPI individuales no fue diferente entre dietas (P>0,05) para los lípidos del LT. En cambio, la alimentación con el concentrado L aumentó significativamente el porcentaje de Σ*n-3*AGPI (P<0,001), el de LNA (P<0,001) y el de 20:5*n-3* (ácido eicosapentaenoico, EPA) (P=0,005) en comparación con las dietas G o SJ; mientras el de 22:5*n-3* (ácido

docosapentaenoico, DPA) sólo resultó significativamente mayor (P<0,05) para la dieta L en comparación con la G. El porcentaje de 22:6*n-3* (ácido docosahexaenoico, DHA) no se vio influenciado por la dieta (P=0,070).

En general, la alimentación con el concentrado L duplicó los valores de EPA y DPA en el LT en comparación con la alimentación con G. En base cuantitativa, calculando para una porción de carne de 170g, la alimentación con L supondría un aumento de Σ*n-3*AGPI respecto a las otras dietas de 56 mg a 111 mg, y de *n-3*AGPICL de 21 mg a 39 mg. Esto proporcionaría el 16% de la ingesta recomendada de *n-3*AGPICL (250 mg EPA + DHA por día) recomendada por la EFSA (2010).

De manera similar al LT, no hubo diferencias entre las dietas en el porcentaje de ΣAGPI en la GSC (P>0,05). Sin embargo, a diferencia del LT, la GSC mostró una proporción significativamente menor de Σ*n-6*AGPI (P<0,001) y de LA (P<0,001), principal *n-6*AGPI, para la dieta L en comparación con las dietas G y SJ. Nuevamente, el porcentaje de Σ*n-3*AGPI fue mayor cuando se alimentó con dieta L (P<0,001), relacionado directamente con la mayor proporción de LNA (P<0,001).

4.3.4.2. Relación *n-6*/*n-3*

La relación *n-6*/*n-3* AGPI se redujo significativamente tanto en el LT como en la GSC con la dieta L (P<0,001, Tabla 4.6). Es interesante destacar que la mejora en la relación *n-6*/*n-3* AGPI observada en el LT para la dieta L se debió exclusivamente al aumento en Σ*n-3*AGPI, ya que el porcentaje de Σ*n-6*AGPI no se vio afectado. En cambio, en la GSC la reducción en la relación *n-6*/*n-3* AGPI observada para la dieta L resultó de la combinación de ambos efectos, una menor proporción de Σ*n-6*AGPI y mayor de Σ*n-3*AGPI.

4.3.4.3. Ácido Linoleico Conjugado (CLA)

El tipo de aceite incluido en el concentrado no tuvo efecto sobre el porcentaje total de CLA (pico combinado de $CLA_{c9,t11}$ y *t*7, *c*9-18:2) en ninguno de los tejidos estudiados (P>0,05, Tabla 4.6). Una porción de 170 g de carne de ternera RG alimentada con cualquiera de las dietas evaluadas, G, SJ o L, proporcionaría una media de 25,3 mg de CLA total.

4.3.4.4. Ácidos Grasos *trans* Monoinsaturados (*t*AGMI)

Los valores medios para cada dieta del perfil de *t*AGMI obtenido en el LT y la GSC se muestran en la Tabla 4.7. Como se puede observar, el tipo de aceite añadido al concentrado no mostró diferencias significativas en los porcentajes de Σ*t*AGMI (P=0,085) o *t*18:1 (P=0,086) en el LT. En cambio, en cuanto a la distribución de isómeros, el porcentaje de Σ*t*6- a *t*10-18:1 fue significativamente mayor (P=0,021) cuando se alimentó con la dieta G en comparación con las otras, mientras que el TVA no se vio afectado (P=0,076). Como resultado, la alimentación con G dio lugar a la relación más alta de Σ*t*6 a *t*10-18:1/*t*11-18:1 (P<0,05) en el LT, no siendo su valor significativamente diferente entre las dietas SJ y L. La alimentación con L promovió una mayor proporción de Σ*t*13/*t*14-18:1 (P=0,001) en comparación con las dietas G y SJ.

Nuevamente, al igual que para el LT, los porcentajes de Σ*t*AGMI y Σ*t*18:1 en la GSC no fueron afectados por el tipo de aceite añadido al concentrado (P>0,05), observándose una distribución similar de los isómeros individuales *t*18:1. En este tejido, el porcentaje de TVA sí fue significativamente mayor para la dieta SJ (P=0,012), mientras su proporción fue comparable entre las dietas G y L. Al igual que en el caso del LT, el porcentaje de Σ*t*13/*t*14-18:1 en la GSC resultó significativamente mayor (P<0,001) para la dieta L en comparación con las otras.

4.3.4.5. Ácidos Grasos *cis* Monoinsaturados (*c*AGMI)

El perfil de los *c*AGMI obtenido en el LT y la GSC se muestra en la Tabla 4.7 para cada dieta experimental. En ninguno de los dos tejidos se observaron diferencias significativas entre dietas para el porcentaje de Σ*c*AGMI ni para el isómero *cis* más abundante, el oleico (*c*9-18:1) (P>0,05). Sin embargo, se observaron porcentajes significativamente mayores para los isómeros minoritarios *c*14-18:1 y *c*15-18:1 en el LT y la GSC cuando se alimentó con la dieta L (P<0,01).

Tabla 4.7. Efecto del tipo de aceite suplementado en el concentrado sobre la composición de ácidos grasos monoinsaturados, saturados y de cadena ramificada (% del total de ácidos grasos) del *longissimus thoracis* y la grasa subcutánea de terneras de raza Rubia Gallega

	Longissimus thoracis				Grasa subcutánea			
	Concentrado				Concentrado			
	L	G	SJ	SEM	L	G	SJ	SEM
Ácidos grasos monoinsaturados (AGMI)								
∑*t*6- a *t*10-18:1	1,18[b]	2,20[a]	1,47[b]	0,239	1,76	2,98	2,19	0,337
*t*11-18:1 (TVA)	1,77	1,86	2,30	0,164	2,63[b]	2,87[b]	3,80[a]	0,244
(∑*t*6- a *t*10-18:1)/*t*11-18:1	0,68[b]	1,40[a]	0,67[b]	0,222	0,69	1,16	0,61	0,167
∑*t*13/*t*14-18:1[1]	0,99[a]	0,53[b]	0,67[b]	0,070	1,51[a]	0,70[b]	0,81[b]	0,087
∑*t*18:1	4,25	4,88	4,75	0,198	6,36	6,97	7,30	0,351
∑*t*AGMI	4,29	4,93	4,80	0,199	6,87	7,32	7,65	0,365
*c*9-18:1	29,64	30,31	28,59	0,698	28,55	29,21	28,46	0,755
*c*14-18:1	0,25[a]	0,18[b]	0,20[b]	0,012	0,39[a]	0,25[c]	0,28[b]	0,009
*c*15-18:1	0,32[a]	0,10[b]	0,12[b]	0,034	0,51[a]	0,12[b]	0,11[b]	0,042
∑*c*AGMI	36,01	36,18	34,51	0,777	37,38	36,89	36,56	1,125
∑AGMI	40,04	40,77	39,06	0,695	44,46	44,39	44,39	0,995
Ácidos grasos saturados y de cadena ramificada (AGS y AGCR)								
14:0	4,12	4,27	4,51	0,225	7,20	6,91	5,43	0,600
16:0	29,64	29,85	30,71	0,604	30,12	30,19	31,34	0,495
18:0	13,14	13,65	13,70	0,273	11,70	11,12	12,43	0,613
∑AGS	48,59	49,11	50,38	0,774	50,97	50,01	50,82	1,017
AGPI/AGS	0,19	0,16	0,16	0,015	0,06	0,06	0,06	0,003
∑AGCR	1,42	1,49	1,57	0,067	1,63	2,38	1,66	0,411

L: aceite de linaza; G: aceite de girasol; SJ: aceite de soja. SEM= error estándar de la media.
[a.b.c] Las medias dentro de la misma línea con diferentes superíndices difieren significativamente (P≤0,05)
∑*t*6- a *t*10-18:1= *t*6-18:1, *t*7-18:1, *t*8-18:1, *t*9-18:1 y *t*10-18:1; ∑*t*18:1= ∑*t*6- a *t*10-18:1, *t*11-18:1, *t*12-18:1, *t*13/*t*14-18:1 y *t*16-18:1; ∑*t*AGMI= *t*9-16:1, *t*11/*t*12-16:1 y ∑*t*18:1; ∑*c*AGMI= *c*9-14:1, *c*9-15:1, *c*7-16:1, *c*9-16:1, *c*9-17:1, *c*9-18:1, *c*11-18:1, *c*12-18:1, *c*13-18:1, *c*15-18:1, *c*9-20:1, *c*11-20:1 y *c*13-22:1; ∑AGMI= ∑*c*AGMI + ∑*t*AGMI; ∑AGS= 14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:0, 19:0, 20:0, 21:0, 22:0, 23:0 y 24:0; AGPI/AGS= ∑AGPI/∑AGS; ∑AGCR= $15:0_{iso}$, $15:0_{aiso}$, $16:0_{iso}$,$17:0_{iso}$, $17:0_{aiso}$
[1]Coelución con *c*6/*c*7/*c*8-18:1.

4.3.4.6. Ácidos Grasos Saturados (AGS) y de Cadena Ramificada (AGCR)

El tipo de aceite añadido al concentrado base tampoco mostró ningún efecto sobre los porcentajes de AGS totales o individuales, ni en el LT ni en la GSC (P>0,05, Tabla 4.7). Para todas las dietas, el AGS predominante en el LT y la GSC fue el 16:0, seguido del 18:0 y el 14:0. Del mismo modo, los porcentajes totales e individuales de AGCR en el LT y la GSC no fueron afectados por el tipo de aceite (P>0,05, Tabla 4.7).

4.3.4.7. Relación AGPI/AGS

Las relaciones AGPI/AGS en LT y GSC no se vieron afectadas (P>0,05, Tabla 4.7) por la dieta. La relación promedio de AGPI/AGS encontrada en este experimento para el LT (0,17) y la GSC (0,06) fue menor que la relación recomendada de 0,45 (BDH, 1994).

4.4. DISCUSIÓN

4.4.1. Características de producción animal y calidad de la canal

El tipo de aceite añadido al concentrado base no afectó al rendimiento de los animales o las características de la canal, lo que está en concordancia con los resultados obtenidos previamente en otros estudios en los que los animales fueron alimentados con dietas de acabado suplementadas con soja (Ludden *et al.*, 2009), girasol (Mir *et al.*, 2003) o una mezcla de linaza y girasol (He *et al.*, 2011). La falta de efectos en los parámetros medidos en los animales y en las características de canal también puede explicarse porque los animales del presente estudio se sacrificaron a similar edad (305 ± 2,8 días) y peso (344 ± 14,04 kg), siendo además la composición de las dietas experimentales muy próxima entre sí en cuanto al aporte proteico y energético.

4.4.2. Calidad organoléptica de la carne

La falta de respuesta al tipo de aceite incluido en la dieta sobre la composición química del LT, el pH $24_{h,pm}$ o los parámetros de color es consistente con los resultados obtenidos en el trabajo de Oliveira *et al.* (2012), en el que compararon un grupo control y

dietas enriquecidas con aceites de soja y linaza. El que la CRA no se haya visto influenciada por el tipo de aceite está relacionado con la ausencia de efectos en la composición química del LT y el similar contenido de GIM obtenido para todas las dietas. Los valores medios obtenidos en el presente trabajo para las PP y las PG (24,61% y 3,85%) son similares a los observados para terneros RG alimentados sin suplementación con aceites (25,19% y 3,36%; Bispo *et al.*, 2010a). Sin embargo, el valor medio de las PC para las presentes dietas experimentales resultó ser menor que el observado por aquellos autores (22,11% vs. 31,13%), probablemente debido a que los filetes del presente experimento tuvieron una maduración de 7 días, lo que lleva a una carne más jugosa y aceptable.

En cuanto a los parámetros de textura, aunque Maddock *et al.* (2006) observaron un aumento de la terneza de la carne cuando suplementaron la dieta animal con una fuente de alto contenido en LNA, los resultados actuales no mostraron ningún efecto de la fuente de aceite sobre la terneza objetiva (es decir, la fuerza de corte del WB), de acuerdo con el trabajo de Oliveira *et al.* (2012). Aun así, el valor medio entre las presentes dietas para la fuerza de corte del LT (4,2 ± 0,49 kg/cm^2) está próximo al valor indicado por Huffman *et al.* (1996) (4,2 kg/cm^2) como el umbral para una mayor aceptación por parte del consumidor.

La ausencia de efectos de la dieta sobre los atributos de sabor del LT evaluados mediante análisis sensorial y el hecho de que la alimentación con G produjese una carne que resultó con menores puntuaciones por parte de los panelistas para la masticabilidad, jugosidad y aceptabilidad general, no coincide con los resultados obtenidos por Oliveira *et al.* (2012), quienes observaron mayor puntuación de los panelistas en la carne producida con dietas enriquecidas en soja respecto a aquellas con linaza. Algunas diferencias ligeras en la composición de AG o el estado antioxidante pueden influir en la calidad sensorial. Se ha observado previamente que el aumento de los niveles de AGPI en la carne causa problemas en su estabilidad oxidativa (Larick y Turner, 1990), demostrándose que la oxidación de AGMI y AGPI conduce a la formación de compuestos volátiles que podrían ser responsables de sabores anormales o a rancio en la carne (Campo *et al*., 2003). Sin embargo, los cambios en los niveles de AGPI en el presente experimento no han sido lo suficientemente grandes como para haber afectado las evaluaciones del panel sensorial.

4.4.3. Calidad lipídica del *longissimus thoracis* y la grasa subcutánea

4.4.3.1. Ácidos Grasos Poliinsaturados (AGPI)

La falta de efectos de la dieta sobre el contenido de la GIM fue debido a que las dietas experimentales han sido isoenergéticas y esto es consistente con lo observado por Noci *et al.* (2007) cuando compararon los efectos de alimentar con girasol o linaza. Como el valor de la GIM del LT fue similar para las tres dietas, las diferencias observadas en la composición de AG probablemente están más relacionadas con la influencia del tipo de aceite que con el contenido total de GIM, es decir, que con posibles diferencias en la proporción de lípidos neutros respecto a fosfolípidos.

Los objetivos de suplementar la dieta animal con fuentes de aceites enriquecidos en AGPI tienen como objetivo final aumentar la deposición de *n-3*AGPICL, incluidos el EPA y el DHA, ya que tienen efectos favorables para la salud (Mozaffarian y Wu, 2011). El hecho de no haberse observado diferencias entre dietas en el porcentaje de ∑AGPI en el LT indica que los aceites suplementados no tuvieron efecto sobre las tasas de lipólisis en el rumen. Además, el hallazgo de no observar ninguna diferencia en los niveles de los *n-6*AGPI totales e individuales en los lípidos del LT, dadas las diferencias en el aporte dietético de LA (es decir, ~ 3 veces mayor en los concentrados de G y SJ en comparación con el de L), indica una alta eficiencia de la biohidrogenación de LA en el rumen. En contraste, los niveles más altos de Σ*n-3*AGPI, LNA y EPA encontrados en el LT para la dieta L pueden indicar que la tasa de lipólisis y/o el paso inicial en la biohidrogenación ruminal de LNA se redujeron, y este efecto deseable confirma las observaciones previas al evaluar la alimentación con semillas de lino (Mach *et al.*, 2006). El hallazgo de un mayor porcentaje de DPA en el LT para la dieta L en comparación con la dieta G contrasta con los resultados publicados por Noci *et al.* (2007), y apunta hacia posibles efectos de raza que merecerían una mayor investigación. La falta de efectos de la dieta animal sobre el DHA en el LT se relaciona con la limitada capacidad de los últimos pasos en la vía de elongación y desaturación de *n-3*AGPI (Raes *et al.*, 2004a). En el presente experimento, el LNA en el LT alcanzó un 1,59% para la dieta L y proporcionó un 1,04% más que cuando la dieta se suplementó con un aceite prácticamente desprovisto de LNA (dieta G). Las dietas con alto contenido de concentrado, que producen un pH bajo en el rumen, tienen el potencial de reducir la lipólisis (Van Nevel y Demeyer, 1996) y la biohidrogenación (Sackmann *et al.*, 2003). En el presente experimento, sin embargo, las diferencias entre dietas están probablemente más relacionadas con el tipo de aceite

que con los efectos de otros componentes de la dieta base, ya que la alimentación con las dietas suplementadas con aceites ricos en LA (G y SJ) no resultaron en aumentos de LA en el LT en comparación con la dieta L. En resumen, el haber alcanzado el doble de *n-3*AGPICL (EPA y DPA) en el LT con la dieta L podría constituir una saludable contribución al aporte dietético de *n-3*AGPICL, particularmente en poblaciones donde los alimentos de origen marino son limitados (Howe *et al.*, 2006).

El aumento observado en el porcentaje de *n-3*AGPI en la GSC con la dieta L es consistente con los resultados mostrados por otros autores en experimentos con la inclusión de aceite (Noci *et al.*, 2007) o de semilla (Nassu *et al.*, 2011) de lino. Estos resultados apuntan nuevamente hacia una reducción en la lipólisis/biohidrogenación de LNA cuando se incluye linaza en la dieta de rumiantes. La incorporación de LA y otros *n-6*AGPI individuales en la GSC fue menor en comparación con el LT, lo que coincide con estudios previos de alimentación con aceites (Aharoni *et al.*, 2005; Noci *et al.*, 2007). Las diferencias entre el depósito de AGPI en el LT y la GSC pueden atribuirse a la mayor proporción de fosfolípidos en el LT y su mayor relación AGPI/AGS. Por otra parte, la GSC incorpora la grasa de la dieta más fácilmente que el músculo, que es propenso a modificar los AG mediante reacciones de elongación y desaturación.

4.4.3.2. Relación *n-6*/*n-3*

En los últimos 100 años ha habido un aumento considerable en la proporción de *n-6*/*n-3* AGPI en la dieta humana y desde la WHO (2003) y la EFSA (2010) se ha venido recomendando aumentar la ingesta de *n-3*AGPI, buscando la prevención de enfermedades relacionadas con la inflamación (Simopoulos, 2008). Aunque algunos estudios respaldan la importancia de la relación *n-6*/*n-3* AGPI como más relevante que la ingesta absoluta para evaluar el factor de riesgo de ciertas enfermedades como el cáncer de próstata (Williams *et al.*, 2011), existe controversia en cuanto a sus limitaciones como marcador de enfermedades crónicas mayores (Marventano *et al.*, 2015). Sin embargo, una revisión reciente concluye que, aparte de las cantidades absolutas de *n-6*AGPI o *n-3*AGPI específicos, la relación *n-6*/*n-3* AGPI tiene gran relevancia para evaluar la relación entre la ingesta de AGPI y el riesgo de enfermedades crónicas (Saini y Keum, 2019). En el presente experimento, la pronunciada reducción observada en la relación *n-6*/*n-3* AGPI en el LT y la GSC cuando se incluyó aceite de lino

en la dieta hizo que su valor estuviese en el rango recomendado para la salud humana (4:1) (*British Department of Health,* BDH, 1994). En consecuencia, estas mejoras podrían proporcionar un potencial valor añadido para la carne de ternera, y particularmente para los productos procesados que contienen GSC.

4.4.3.3. Ácido Linoleico Conjugado (CLA)

El valor medio encontrado en las dietas del presente experimento para el CLA total (0,51%) de la GIM está dentro del rango de los valores observados previamente cuando se incluyen aceites o semillas oleaginosas ricos en AGPI en la dieta de rumiantes (Raes *et al.*, 2004a). Su valor fue incluso el doble que el encontrado en la carne de terneros RG (0,21%) destetados y acabados en sistemas de alimentación intensivos o semiextensivos similares, pero sin suplementación con aceites (Bispo *et al.*, 2010b). Independientemente de esta mejora, la cantidad (25,3 mg) encontrada en una porción de 170 g de carne de bovino del presente experimento estaría muy lejos de la cantidad propuesta (3g) como necesaria para observar efectos beneficiosos en humanos (Ip *et al.*, 1994), pero supondría una contribución del 17% a la cantidad diaria propuesta por Sofi *et al.* (2010; 145 mg CLA/día) para observar efectos beneficiosos en enfermedades cardiovasculares. En la mayoría de los estudios, los aumentos en la deposición de CLA en carne han sido limitados (<1,0%), y esto probablemente se deba a una extensa biohidrogenación de los AGPI a 18:0 y, potencialmente, a una reducción de la actividad de la Δ-9 desaturasa cuando se usan en la alimentación animal aceites ricos en AGPI (Waters *et al.*, 2009).

4.4.3.4. Ácidos Grasos *trans* Monoinsaturados (*t*AGMI)

Los porcentajes de Σ*t*18:1 en el LT para las presentes dietas fueron más bajos que los observados por Aldai *et al.* (2010) (~ 9%) y Humada *et al.* (2012) (~ 6%), quienes alimentaron los animales con dietas altas en concentrados con o sin suplementación con AGPI. Los bajos niveles encontrados de AGPI y CLA en los lípidos del LT podrían indicar que su flujo a través de las vías de biohidrogenación no estaría limitando la acumulación de *t*18:1, sino que ésta se debería, probablemente, a una extensa y completa biohidrogenación hasta 18:0. Se ha observado previamente que el TVA es el isómero *t*18:1 predominante en las grasas de rumiantes (Prates y Bessa, 2009), cuya

mayor acumulación en el LT se observó para las dietas L y SJ. Contrariamente, el principal isómero *t*18:1 observado en el LT para la dieta G fue el grupo Σ*t*6- a *t*10-18:1. Se sabe que las dietas bajas en forraje y altas en almidón reducen el pH del rumen y cambian las poblaciones bacterianas ruminales (Klieve *et al.*, 2003). Esto causa cambios en las vías de biohidrogenación de los AGPI de la dieta, favoreciendo la acumulación de *t*10-18:1 en lugar de TVA cuando se usan en la alimentación fuentes ricas en LA (Aldai *et al.*, 2008). Teniendo en cuenta la composición de AG de los aceites empleados, se podría anticipar que el perfil de los *t*18:1 en el LT cuando se emplea la dieta SJ sería similar al obtenido con la dieta G, ya que ambas tenían contenidos similares de LA (53,83% y 62,76%), y una menor proporción de LNA que la dieta L (6,02% y 0,18% vs. 55,46%). Inesperadamente, la alimentación con la dieta SJ resultó en menor deposición del grupo ∑*t*6- a *t*10-18:1 en el LT que la dieta G, a la vez que condujo a un porcentaje de TVA similar al de las otras dietas. Como consecuencia, las dietas SJ y L resultaron en las relaciones más bajas (deseable) de (Σ*t*6 a *t*10-18:1)/*t*11-18:1 en el LT.

A la vista de estos resultados, parece que la composición del aceite añadido a la dieta puede influir en las vías de biohidrogenación. El concentrado suplementado con soja, con sus niveles intermedios de LA y LNA en comparación con las otras fuentes de aceite, apunta hacia la importancia de la relación LA/LNA aportada por la dieta cuando se trata de aumentar el porcentaje de TVA en la carne de bovino a la vez que se limita la acumulación de otros isómeros *t*18:1. La alimentación con los concentrados L o SJ en una dieta típica de acabado para la raza RG podría, por lo tanto, ayudar a evitar la acumulación de *t*10-18:1 a expensas del TVA. El mayor porcentaje de Σ*t*13/*t*14-18:1 en el LT observado cuando se alimenta con la dieta L es típico de la adición de fuentes ricas en LNA, ya que las vías para la biohidrogenación de LNA previsiblemente no conducen a *t*10-18:1 (Kramer *et al.*, 2004), de modo que cuando se introducen en dietas altas en concentrado se produce un cambio en la acumulación de TVA hacia Σ*t*13/*t*14-18:1 (Juárez *et al.*, 2011).

Como cabía esperar, la falta de efectos de la dieta sobre los porcentajes de Σ*t*AGMI y Σ*t*18:1 en LT se repitió en la GSC. El valor medio para el Σ*t*18:1 en todas las dietas fue similar a los valores informados por Aharoni *et al.* (2005) y Noci *et al.* (2007) cuando emplearon dietas ricas en forraje suplementadas con fuentes de soja, o de girasol y linaza respectivamente. Sin embargo, mayores niveles de Σ*t*18:1 en GSC fueron

observados por Aldai *et al.* (12,46%; 2010) y Raes *et al.* (8,48%; 2004b) al agregar respectivamente, soja o linaza a dietas altas en concentrado.

Basándose en el perfil isomérico de los *t*18:1, la alimentación mediante las dietas SJ o L podría ser la opción más saludable dado que redujeron la acumulación de Σ*t*6 a *t*10-18:1 en el LT en comparación con la dieta G. Sin embargo, el bajo contenido general de TVA apunta a la necesidad de realizar nuevas investigaciones con el fin de limitar la hidrogenación completa a 18:0.

4.4.3.5. Ácidos Grasos *cis* Monoinsaturados (*c*AGMI)

Nassu *et al.* (2011) han observado que la alimentación con fuentes ricas en AGPI, concretamente con semillas de lino, en comparación con una dieta control, disminuyen la acumulación de *c*9-18:1 en el LT y la GSC, lo que está relacionado con la inhibición de la actividad de la Δ-9-desaturasa por parte de los AGPI de la dieta. En el presente experimento, la ausencia de efectos sobre los porcentajes de Σ*c*AGMI y *c*9-18:1 en ambos tejidos puede estar relacionada con el hecho de que las tres dietas experimentales han sido suplementadas con niveles similares de AGPI. El aumento observado en el porcentaje de los isómeros *c*14-18:1 y *c*15-18:1 para la dieta L es consistente con los trabajos de Juárez *et al.* (2011) y Nassu *et al.* (2011) quienes emplearon semillas de lino. Estos isómeros se acumulan cuando las dietas incluyen semillas de lino o su aceite, ya que la hidrogenación completa de los dobles enlaces a través del extremo metilo de la molécula puede ser algo menos eficiente.

4.4.3.6. Ácidos Grasos Saturados (AGS) y de Cadena Ramificada (AGCR)

La falta de efectos del tipo de aceite añadido a la dieta sobre los porcentajes de AGS es consistente con lo observado por Oliveira *et al.* (2012) cuando compararon los aceites de soja y linaza, aunque estos autores obtuvieron porcentajes de AGS más bajos (~45%). Las recomendaciones de salud actuales van en la línea de reducir la ingesta de AGS, particularmente aquellos con menos de 18 carbonos, debido a sus efectos sobre el colesterol LDL (lipoproteína de baja densidad) plasmático (Williams, 2000). Las estrategias para reducir la proporción de AGS requerirían, por tanto, un mayor nivel de

protección para los AGPI de la dieta que el que ofrece el presente experimento frente a la biohidrogenación ruminal.

En cuanto a los porcentajes de AGCR, era de esperar que no se viesen afectados por la dieta, ya que los precursores para su síntesis (aminoácidos y glucosa) han sido suministrados de manera constante en todas las dietas. Actualmente, los AGCR son de interés debido a sus efectos antitumorales sobre el cáncer de mama humano (Wongtangtintharn *et al.*, 2004) y otras propiedades antiinflamatorias según lo revisado por Vahmani *et al.* (2020). Es interesante destacar, por tanto, que los valores del porcentaje total de AGCR fueron más altos que los observados por otros autores que emplearon dietas altas en concentrados (Aldai *et al.*, 2006: 0,53-0,71%) y similares a los obtenidos a través de una alimentación basada en pasto y limitada en cebada (Humada *et al.*, 2012: 1,13–1,43%).

4.4.3.7. Relación AGPI/AGS

La relación AGPI/AGS es un índice utilizado para evaluar el valor nutricional de las grasas (OMS, 2003; BDH, 1994) recomienda una relación ≥0,45. Si bien las estrategias de suplementación con aceite o semillas oleaginosas pueden causar cambios considerables en la relación *n-6*/*n-3*, generalmente no consiguen aumentar la relación AGPI/AGS por encima del rango 0,1-0,15 normalmente observado en la carne de bovino (Scollan *et al.*, 2006a). La falta de efectos de la dieta sobre la relación AGPI/AGS en el presente experimento es consistente con el mínimo efecto observado sobre los AGPI y AGS, pero en cierto modo, fueron algo más bajos que los observados por otros autores que emplearon fuentes suplementarias de aceite (Aharoni *et al.*, 2005; Noci *et al.*, 2007), indicando que, en este trabajo, la tasa de la completa biohidrogenación de los AGPI procedentes de la dieta fue relativamente más alta.

4.5. CONCLUSIONES

El tipo de aceite añadido a la dieta no tuvo impacto en las características de producción animal, calidad de la canal o la calidad organoléptica de la carne de ternera RG. En cuanto a la calidad nutricional de la grasa, la alimentación de terneras RG con un concentrado comercial suplementado con aceite de soja o lino no causó una menor acumulación de TVA a favor de una mayor deposición de los isómeros Σ*t*6- a *t*10-18:1 ni en el LT ni en la GSC. Desde una perspectiva nutricional, la forma más efectiva de mejorar la calidad de la ternera RG puede ser mediante la alimentación con el concentrado suplementado con L, ya que proporcionó un aumento en la deposición de *n-3*AGPI en los tejidos sin comprometer un valor negativo de la relación Σ*t*6- a *t*10-18:1/*t*11-18:1. Los esfuerzos futuros para aumentar el contenido de *n-3*AGPI, TVA y $CLA_{c9,t11}$ en la ternera RG deberán centrarse en estrategias para proteger los aceites de la lipólisis o los AGPI de la extensa biohidrogenación ruminal, ya que sus acumulaciones se vieron limitadas independientemente de la fuente de aceite empleada en la dieta.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

CAPÍTULO II

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Parte de los resultados del Capítulo II han sido recogidos en el siguiente artículo, cuya información ampliada se incluye en el ANEXO de la presente Tesis:

González L, Moreno T, Bispo E, Dugan ME. Feeding oilseeds and hay free choice to "Rubia Gallega" heifers does not substantially alter *trans*-18:1 in veal. Bajo revisión (ID: AN20599) desde noviembre del 2020 en la revista *Animal Production Science:*

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

5. CAPÍTULO II

EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE SEMILLAS OLEAGINOSAS EN LA DIETA DE ACABADO DE TERNERAS DE RAZA RUBIA GALLEGA SOBRE EL PERFIL LIPÍDICO DE SU CARNE Y LAS CARACTERÍSTICAS DE PRODUCCIÓN ANIMAL, CALIDAD DE LA CANAL Y CALIDAD ORGANOLÉPTICA DE LA CARNE

5.1. INTRODUCCIÓN

La carne es una fuente esencial de aminoácidos, vitaminas del grupo B, hierro y zinc, pero su perfil de ácidos grasos es frecuentemente criticado por su alto contenido en ácidos grasos saturados (AGS) y bajo en poliinsaturados (AGPI) (Pereira y Vicente, 2013). Los sistemas de manejo animal que habitualmente incluyen un período de finalización para los terneros criados en pastoreo, basado en dietas altas en concentrados con el fin de mejorar su rendimiento económico y la calidad organoléptica de su carne, suelen ocasionar un incremento en la relación *n-6/n-3* AGPI de la grasa de su carne por encima del valor recomendado para la salud (4:1; Simopoulos, 2011). Este cambio en la dieta animal también puede conllevar cambios en el contenido y distribución de los ácidos grasos *trans* (*t*AG) en la carne, que se producen en el rumen durante la biohidrogenación (BH) de los AGPI (Jenkins *et al.*2008). Específicamente, el contenido de Σ*t*6- a *t*10-18:1 en la carne se incrementa con dietas basadas en concentrado (Aldai *et al.*2013) mientras que la cantidad de *t*11-18:1 (ácido *trans* vaccénico, TVA) y de *cis(c)*9,*t*11-18:2 (*c*9,*t*11-ácido linoleico conjugado, $CLA_{c9,t11}$, o ácido ruménico) aumenta con el incremento de la cantidad y la calidad de los forrajes en la dieta (Nassu *et al.*2011; Mapiye *et al.*2015). El consumo de *t*10-18:1 ha sido relacionado con alteraciones no saludables en los perfiles de colesterol sanguíneo en modelos animales (Bauchart *et al.*2007), mientras que el consumo de TVA y $CLA_{c9,t11}$ se ha asociado con numerosos beneficios en la salud, desde efectos anticancerígenos y antidiabéticos a propiedades antiinflamatorias (Gebauer *et al.*2011; Dilzer y Park 2012). La bioactividad del TVA y sus efectos sobre el riesgo de

enfermedades crónicas en humanos ha sido cuestionada (Gebauer *et al.* 2011; Aldai *et al.*2013), ya que elevadas cantidades de *t*AG, tanto procedentes de rumiantes como producidos industrialmente, pueden llevar a efectos deleterious en los perfiles lipoproteicos sanguíneos (Brouwer *et al.*2013). Consecuentemente, cuando se desarrollan estrategias de alimentación para aumentar el contenido en AGPI, es importante también examinar qué cambios se producen en el perfil y acumulación de los productos de la BH (Vahmani *et al.*2017*b*).

El sistema de producción de los animales de raza RG, una de las más importantes en España y comercializada bajo la Indicación Geográfica Protegida (IGP) de *Ternera Gallega*, se basa en un sistema semiextensivo que finaliza con un período en cebadero con dietas altas en concentrados (DOG, 2017). Por tanto, evaluar el efecto de la inclusión de suplementos ricos en AGPI en la dieta de acabado de terneros RG sobre al perfil lipídico de la carne, es una información de especial relevancia, particularmente desde que los *t*AG de origen ruminal se han convertido en la principal fuente de *t*AG en la dieta humana debido a la eliminación de los *t*AG industriales de la cadena alimentaria (Aldai *et al.*2013).

Los resultados del ensayo del Capítulo I muestran que la inclusión de aceites de linaza, soja o girasol, en una dieta comercial habitual de RG, conduce a menores proporciones de *t*FA y Σ*t*6- a *t*10-18:1 (González *et al.*2014; Cap. I) que las alarmantemente elevadas observadas por Aldai *et al.* (2010) en la carne de bueyes de la raza Asturiana de los Valles mediante suplementación del concentrado con aceite de soja en una dieta similar. Sin embargo, las acumulaciones de *n-3*AGPI, TVA y $CLA_{c9,t11}$ fueron limitadas independientemente de la fuente de aceite (González *et al.*2014; Cap. I), muy relacionado con la limitada capacidad de la raza RG para depositar grasa, ya que un gran número de animales posee hipertrofia muscular (gen *mh*) (González *et al.*2011), pero concluyendo que para lograrlo se necesitaría proteger eficientemente los AGPI frente a la BH. Se han sugerido diversos métodos para proteger los AGPI de la BH (Jenkins y Bridges 2007; Vahmani *et al.*2017*b*) y uno de los más indicados debido a su bajo coste, es la alimentación con semillas intactas. Alimentar con semillas enteras puede proporcionar cierta protección a la BH ruminal por la propia cáscara/piel de la semilla, aunque puede ser requerido cierto procesamiento para que el aceite esté más disponible para la microbiota ruminal y el animal en sí mismo (Raes *et al.* 2004*a*).

La alimentación con semillas oleaginosas procesadas para aumentar los AGPI y sus productos de BH en carne de bovino ya se ha llevado a cabo en diversos estudios. Por ejemplo, Mapiye *et al.* (2013a) alimentaron a terneros de cebo con girasol o linaza molidos y mezclados con el forraje, observando pequeños incrementos en los AGPI y sus productos de BH. Sin embargo, parece que el momento en que el concentrado suplementado con AGPI es suministrado a los animales, juega un importante papel, favoreciendo el aumento de los productos de BH. Noci *et al.* (2007) suministraron a los animales el concentrado suplementado con aceites ricos en AGPI por la mañana, antes de salir al pasto, dando lugar a incrementos sustanciales en los productos de BH como el $CLA_{c9,t11}$ y el TVA. Más recientemente, Vahmani *et al.* (2017a) observaron que alimentar con un concentrado suplementado con linaza extrusionada previamente, en lugar de mezclado con el heno, también resultó en incrementos sustanciales en los productos de BH. Alimentar el concentrado seguido del heno no sería, sin embargo, práctico en un entorno comercial (es decir, tener que alimentar dos veces al día).

El objetivo del presente estudio es, por tanto, determinar si alimentar *ad libitum* heno y concentrado suplementado con semillas oleaginosas procesadas puede fomentar la acumulación de *n-3*AGPI sin impactar negativamente en el perfil de *t*18:1 mientras se mantiene o mejora la calidad general de la canal y la carne de terneros RG. Las semillas seleccionadas fueron las fuentes de aceite de nuestro experimento previo (González *et al.*, 2014; Cap. I): i) semilla de lino (SL), que es rica en ácido α-linolénico (LNA), precursor de TVA, $CLA_{c9,t11}$ y *n-3*AGPI de cadena larga (CL); ii) semilla de girasol (SG), que es elevada en ácido linoleico (LA), precursor de $CLA_{c9,t11}$ y ambos, TVA y *t*10-18:1; y iii) semilla de soja (SSJ), que tiene un contenido en LA y LNA más balanceado.

5.2. MATERIAL Y MÉTODOS

5.2.1. Diseño experimental y manejo animal

El presente estudio se llevó a cabo en el Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (CIAM, A Coruña, España) y cumplió rigurosamente con las políticas de la UE respecto al bienestar de los animales de experimentación (DOUE, 2010). Se utilizaron 32 terneras RG del rebaño experimental nacidas entre el mes de octubre y febrero. Los animales estuvieron con sus madres en un sistema rotacional de pastoreo hasta los 7 meses de edad. Después del destete, los animales bloqueados por fecha de nacimiento

fueron asignados aleatoriamente a cuatro grupos experimentales (8 terneras/tratamiento) y estabulados en el cebadero con comederos y bebederos a su disposición (Figura 5.1).

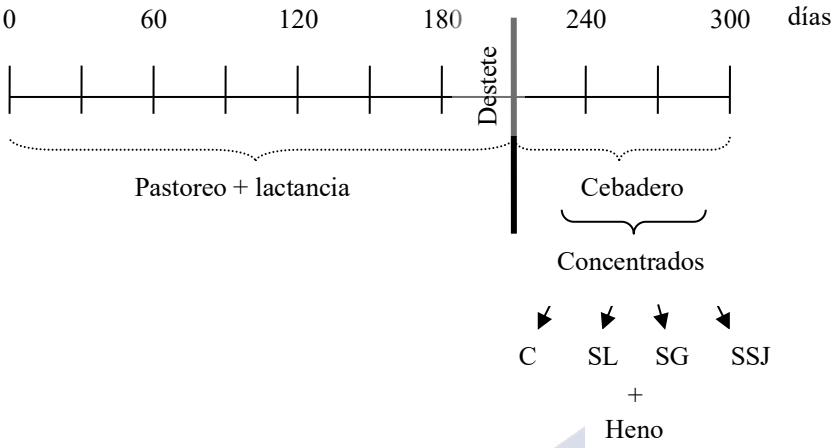


Figura 5.1. Diagrama del diseño y duración del experimento con terneras Rubia Gallega alimentadas con un concentrado control (C) o enriquecido con semillas de lino (SL), girasol (SG) o soja (SSJ).

Las dietas suministradas consistieron en heno de hierba junto con un concentrado control (C, con aceite vegetal) o suplementado con semillas de linaza (SL), soja (SSJ) o girasol (SG). El heno y los concentrados se ofrecieron al mismo tiempo en comederos separados que se rellenaron cada mañana y fueron consumidos *ad libitum* por las terneras durante 90 días antes de su sacrificio a los 300 días de edad. Las ingestas de concentrado y heno se determinaron como la diferencia entre las cantidades ofrecidas y rechazadas diariamente por cada grupo de animales. El peso de las terneras se registró al nacimiento (PN), a la entrada en cebadero (P7meses) y cada dos semanas, usándose para calcular la ganancia media diaria durante los periodos de pastoreo (GMD_P) y cebadero (GMD_C).

5.2.2. Concentrados suplementados

Los concentrados fueron suministrados por Progando, S.L. (A Coruña, España) que, a su vez, obtuvo el extrusionado de soja y linaza (ENERSOY y VALOMEGA 160 TRADILIN®) de Bunge Ibérica S.A. (O Burgo, A Coruña) y Pinallet, S.A. (Cardona, Girona). Las semillas suplementadas se añadieron proporcionando un 4,5% de aceite (materia seca, MS) al concentrado final. Como no se dispuso comercialmente de la semilla de girasol extrusionada, para la dieta SG se usó semilla de girasol molida a 7mm (diámetro de partícula) e incorporada al concentrado base mediante un carro mezclador.

5.2.3. Análisis de alimentos

Quincenalmente se recolectaron las muestras de alimento y fueron analizadas por el Laboratorio Agrario y Fitopatológico de Galicia para determinar el contenido en MS, proteína bruta (PB), fibra bruta (FB), cenizas, extracto etéreo, lignina ácido detergente (LAD), fibra ácido detergente (FAD) y fibra neutro detergente (FND), siguiendo la metodología ISO correspondiente (Met. Gral., 3.4.1 y 3.4.2). La energía metabolizable (EM), la energía neta para mantenimiento (ENm) y la energía neta para ganancia (ENg) se calcularon de acuerdo con las fórmulas indicadas por el NRC (2000).

El perfil lipídico de los alimentos se determinó en muestras secas, molidas (1mm) y envasadas al vacío (Met. Gral., 3.4.3.1) que permanecieron conservadas a -20°C hasta el día de su análisis. Los ésteres metílicos de los AG (AGME) se obtuvieron mediante transesterificación directa siguiendo el método de Sukhija y Palmquist (1988) modificado por Alves *et al.* (2008) usando el C19 como patrón interno (Met. Gral., 3.4.3.2.2). Los AGME se analizaron usando las condiciones cromatográficas descritas en la sección correspondiente de Metodología General (3.4.3.3).

5.2.4. Sacrificio y toma de muestra

Ambos procedimientos de sacrificio y toma de muestra del *longissimus thoracis* (LT) y la grasa subcutánea (GSC) se llevaron a cabo bajo las mismas condiciones que las descritas en la sección correspondiente de Metodología General (3.5). Se registraron los siguientes parámetros: el peso animal antes del sacrificio (PV), el peso de la canal en frío (PCF) y su clasificación atendiendo a la conformación (CS) y a la cobertura de grasa (FC) (DOUE, 2006).

5.2.5. Análisis fisicoquímico del *longissimus thoracis*

Los atributos de calidad de carne se midieron siguiendo los procedimientos descritos en la sección de Metodología General (3.6.1 y 3.6.2) y consistió en la evaluación de parámetros fisicoquímicos y de textura.

Los análisis fisicoquímicos incluyeron la determinación de: la composición química (humedad, proteína, grasa y cenizas), la capacidad de retención de agua (CRA) medida mediante las pérdidas por presión (PP), por goteo (PG) y por cocción (PC), los

parámetros de color (luminosidad, índice de rojo, índice de amarillo, croma y tonalidad) y la medida del pH del LT a las 24h *post-mortem* (*pm*).

El análisis de textura se realizó mediante el test de Warner-Bratzler (WB) y el perfil de textura (TPA), en muestras cocidas y crudas, respectivamente, de filetes con una maduración de 7 días. En el test WB se midió la fuerza de corte máxima; mientras que en el TPA se obtuvieron los siguientes atributos: elasticidad, gomosidad, masticabilidad y cohesividad.

5.2.6. Análisis de los ácidos grasos del *longissimus thoracis* y de la grasa subcutánea

5.2.6.1. Extracción lipídica y derivatización

Los lípidos totales del LT y la GSC se extrajeron siguiendo la metodología propuesta por Bligh y Dyer (1959) como se describe en la sección de Metodología General (3.7.1.1). Se añadió un patrón interno (éster metílico C19:0 al 10%) a los lípidos extraídos de ambos tejidos y se obtuvieron los AGME usando metóxido de sodio seguido de ácido clorhídrico en metanol (Carreau y Dubacq, 1978) (Met. Gral., 3.7.2.1).

5.2.6.2. Condiciones cromatográficas

El análisis cromatográfico de los AGME se llevó a cabo usando las condiciones cromatográficas descritas en la sección de Metodología General (3.7.4.1), contabilizándose como grupo de picos algún *t*18:1 algunos isómeros de los que no se obtuvo buena resolución (∑*t*6- to *t*10-18:1 y ∑*t*13+*t*14-18:1). La identificación y cuantificación individual de los AGME se realizó mediante rectas de calibrado empleando el área de pico y utilizando el método de patrón interno (Met. Gral., 3.7.5). Los resultados de AGME se expresaron como porcentaje del total de AGME identificados, pero, además, el nivel de algún AGME específico en el LT y la GSC también se calculó en base cuantitativa (Tabla 5.9) para facilitar la comparación de AG acumulados como recomiendan Dugan y Wood (2018).

5.2.7. Análisis estadístico

Los datos fueron analizados mediante el procedimiento PROCMIXED de SAS (versión 9.2, SAS 2009) y el modelo estadístico incluyó la dieta como efecto principal. No habiendo sido posible el disponer de un sistema de alimentación controlada para la realización del ensayo, los animales fueron alimentados en grupo y la ingesta de alimento no se analizó estadísticamente. Para el resto de los parámetros evaluados (rendimiento animal y de canal, calidad de carne y AG) medidos en animales individuales, se consideró el animal como la unidad experimental. Se asumió un efecto lote insignificante debido a la idéntica estructura de los cebaderos y a las mismas prácticas de manejo, con un amplio espacio para ser alimentados y con un consumo *ad libitum* en lugar de limitado (St-Pierre, 2007). Para calcular los grados de libertad se usó el método de Kenward-Rodgers y las medias para las dietas experimentales y los valores *p* se generaron usando las opciones LSMEANS y PDIFF del SAS. Las diferencias se consideraron significativas para $P<0,05$.

5.3. RESULTADOS

5.3.1. Composición de los alimentos

Los animales consumieron una dieta con una relación forraje y concentrado, sobre MS, de 24:76, y como tal, serían consideradas dietas altas en concentrado. Sin embargo, los concentrados contuvieron sólo ~42% de pequeños granos (es decir, fuentes de almidón rápidamente fermentable) y una considerable cantidad de pulpa de remolacha azucarera (~23%), como puede observarse en la Tabla 5.1, en la que se resumen los ingredientes de los concentrados.

La composición en nutrientes de las fuentes de concentrado y forraje se muestra en la Tabla 5.2. Los concentrados fueron formulados para ser isoproteicos e isocalóricos, resultando en similar contenido en PB, FB y EM. Se observaron diferencias numéricas en el EE, probablemente relacionado con ligeras diferencias en la disponibilidad de aceite de los respectivos materiales crudos. Además, el contenido en LAD de la dieta SG resultó 3 veces más elevado que en los otros concentrados, mayormente relacionado con la cáscara de la semilla, la cual pudo disminuir en general la digestibilidad y disponibilidad de aceite al animal.

Tabla 5.1. Ingredientes (% MS) de los concentrados suplementados con semillas oleaginosas ofrecidos a las terneras de raza Rubia Gallega.

	Concentrados			
	C	SL	SG	SSJ
Harina de cebada	47,2	41,9	41,1	39,2
Harina de soja tostada (44%proteína)	18,7	16,5	17,4	16,0
Pulpa de remolacha	23,9	21,1	26,6	20,2
Melaza de caña	3,5	3,1	2,7	3,1
Grasa Vegetal	4,5	-	-	-
VALOMEGA160 [A]	-	15,6	-	-
Semilla molida de girasol	-	-	10,0	-
Soja extrusionada	-	-	-	19,2
Mezcla vitaminas/minerales [B]	2,2	1,8	2,2	2,3

C: control; SL: semilla de linaza; SG: semilla de girasol; SSJ: semilla de soja.
[A] VALOMEGA (Pinallet. S.A. España): producto comercial (100% extrusionado) incluyendo el 70% de grano de linaza (Tradilin®) y el 30% de harina de trigo, con un 28% de contenido graso%.
[B] Mezcla de vitaminas/minerales compuesta (%) de: 1,80 iodo,1,32 calcio, 0,66 sodio, 0,50 fósforo, 0,44 magnesio, 0,40 cobalto, 0,40 selenio más 23 ppm cobre, 80 ppm manganeso, 110 ppm zinc, 12700 IU/kg vitamina A, 2700 IU/kg vitamina D3 y 60 ppm vitamina E.

Tabla 5.2. Composición nutricional (%MS) de los concentrados y fuentes de forraje ofrecidos a las terneras de raza Rubia Gallega

	Concentrado				Heno	Hierba fresca
	C	SL	SG	SSJ		
MS (g/kg materia fresca)	878,0	881,2	894,0	883,3	880,2	135,1
Composición nutricional (%MS)						
PB	17,2	18,5	17,3	19,0	6,8	21,8
FB	10,3	10,3	9,7	11,0	33,6	23,0
CZ	6,7	6,5	7,8	7,2	-	-
EE	5,8	5,2	7,6	6,9	-	-
LAD	0,7	0,8	2,0	0,7	-	-
FAD	12,3	12,7	13,0	12,0	39,7	26,9
FND	24,7	24,2	25,5	25,5	66,6	46,5
EM (MJ/kg)	11,9	11,8	11,7	11,9	7,2	9,4

C: control; SL: semilla de linaza; SG: semilla de girasol; SSJ: semilla de soja.
MS: materia seca; PB: proteína bruta; FB: fibra bruta; CZ: cenizas; EE: extracto etéreo; LAD: lignina ácido detergente; FAD: fibra ácido detergente; FND: fibra neutro detergente; EM: energía metabolizable.

Durante el período de pastoreo, los lípidos del pasto fresco proporcionaron mayores proporciones de LNA y menores de LA, como puede observarse en la Tabla 5.3, en la que se muestra la composición de AG de los concentrados y el forraje. Durante el período de cebo, el heno fue el principal proveedor de fibra y la fuente alimentaria con el

mayor contenido en AGS. El perfil de AG de la dieta C estuvo dominado por el LA (1,3 veces mayor que en la dieta SL), *c*9-18:1 (1,2 veces mayor que en las dietas SL y SG) y 16:0 (1,4 veces mayor que en las dietas suplementadas con semillas).

Tabla 5.3. Composición promedio de ácidos grasos (% del total de ácidos grasos) de los concentrados y fuentes de forraje ofrecidos a las terneras de raza Rubia Gallega

	Concentrado				Heno	Hierba fresca
	C	SL	SG	SSJ		
16:0	18,6	12,5	13,0	14,9	29,5	17,6
18:0	3,1	3,0	3,7	3,3	4,2	1,7
*c*9-18:1 (OA)	22,8	17,8	18,9	22,7	6,1	1,9
18:2*n-6* (LA)	48,7	36,7	60,3	51,6	15,0	12,7
18:3*n-3* (LNA)	4,8	28,7	1,9	5,7	14,6	44,1
ΣAGS	22,7	16,1	18,0	19,3	40,8	21,1
ΣAGMI	23,7	18,4	19,4	23,4	6,8	2,2
ΣAGPI	53,5	65,4	62,2	57,4	29,6	56,7
AGPI/AGS	2,3	4,1	3,5	3,0	0,7	2,9
n-6/n-3	10,0	1,3	31,8	9,0	1,1	0,3

C: control; SL: semilla de linaza; SG: semilla de girasol; SSJ: semilla de soja.
LA: ácido linoleico; LNA: ácido α-linolénico; ∑AGS (ácidos grasos saturados) = 14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:0, 20:0, 22:0 y 24:0; ∑AGMI (Ácidos Grasos Monoinsaturados) = *c*9-16:1, *c*9-17:1, *c*9-18:1 y *c*11-20:1; ∑AGPI (Ácidos Grasos Poliinsaturados) = 18:2*n-6*, 18:3*n-3*, 20:2*n-2* y 20:3*n-3*; *n-6*/*n-3*= 18:2*n-6*/18:3*n-3*.

En cuanto a los concentrados suplementados con semillas, la dieta SL obtuvo un nivel de LA mayor del esperado, pero la relación *n-6*/*n-3* se mantuvo como la más baja comparado con los otros concentrados debido a su elevado contenido en LNA. Las dietas SL y SG proporcionaron el mayor aporte de AGPI.

5.3.2. Características de producción animal y calidad de la canal

Los animales de mayor y menor peso al nacimiento fueron asignados al azar respectivamente a las dietas SG y SSJ (P<0,001, Tabla 5.4). El peso de los animales de la dieta SG al inicio del período de cebo (P7meses) fue comparable al de los animales de la dieta C, pero más elevado que el de los animales de las otras dietas suplementadas (SL y SSJ) (P<0,001), relacionado con la asignación de los animales más pesados y la mayor GMD_P (P<0,001). La ingesta de concentrado fue numéricamente mayor para los animales alimentados con las dietas SL y SG, pero, sin embargo, las GMD_I y GMD_T no se vieron

afectadas por el tipo de semilla incluida en las dietas (P>0,05 y P=0,069, respectivamente).

Tabla 5.4. Efecto del tipo de semilla suplementada en el concentrado sobre el rendimiento animal y calidad de la canal de terneras de raza Rubia Gallega

	Concentrado				
	C	SL	SG	SSJ	SEM
Rendimiento Animal					
PN (kg)	41,79^{b}	41,43^{b}	48,50^{a}	36,44^{c}	1,673
Período pastoreo (d)	213,57	213,00	210,25	213,88	2,025
GMD_P (kg/d)	0,97^{ab}	0,92^{b}	1,09^{a}	0,89^{b}	0,034
P7meses (kg)	248,83^{ab}	237,57^{b}	277,81^{a}	227,00^{b}	7,383
Período cebo (d)	91,00^{a}	92,00^{a}	84,50^{b}	90,88^{a}	0,976
IC (kg MS/animal/d)	4,87	6,44	6,73	5,01	-
IH (kg MS/animal/d)	1,65	1,54	1,51	1,91	-
GMD_C (kg/d)	1,19	1,29	1,30	1,15	0,106
GMD_T (kg/d)	1,08	1,11	1,20	1,02	0,047
Edad Sacrificio (d)	304,57	305,00	294,75	304,75	7,877
PV (kg)	357,50^{ab}	356,43^{ab}	387,63^{a}	331,88^{b}	9,033
Características de la canal					
PCF (kg)	160,86^{b}	167,30^{b}	211,92^{a}	153,37^{b}	6,245
Rendimiento canal[1]	45,19^{b}	46,96^{b}	54,63^{a}	46,18^{b}	1,031
SEUROP-CS	7,14^{b}	6,29^{b}	9,50^{a}	6,50^{b}	0,575
SEUROP-FC	8,00^{a}	7,57^{ab}	6,38^{b}	8,25^{a}	0,413
LT (5-10ª costilla, kg)	1,26^{b}	1,09^{b}	1,74^{a}	1,11^{b}	1,329

C: control; SL: semilla de linaza; SG: semilla de girasol; SSJ: semilla de soja.
$^{a.b.c}$ Las medias dentro de la misma línea con diferentes superíndices difieren significativamente (P≤0,05); SEM= error estándar de la media; PN: peso al nacimiento; GMD_P: ganancia media diaria para el periodo de pastoreo; GMD_C: ganancia media diaria para el periodo de cebo; GMD_T: ganancia media diaria para el periodo total; P7meses: peso al inicio del período cebo; IC: Ingesta de concentrado; IH: Ingesta de heno; PV: peso vivo al sacrificio; PCF: peso canal en frío (PCF=PCCalientex0,98).
[1]Rendimiento canal, calculado como RC = PCF/(PV x100)
SEUROP-CS (escala conformación de canal)= 15 para E^{+} hasta 1 para P^{-}; 6=O^{+}; 8=R
SEUROP-FC (escala cobertura de grasa de la canal)= 1-15; 7= 3^{-}; 8=3.

Los animales de la dieta SG mostraron el mayor peso al sacrificio, pero sólo estadísticamente diferente de aquellos de la dieta SSJ (P=0,001). Así, respecto a las características de canal, los animales alimentados con la dieta SG mostraron el mayor PCF (P<0,001), rendimiento canal (P<0,001), conformación (P<0,01) y peso del LT (P<0,01); contrariamente, obtuvieron la menor puntuación para la cobertura de grasa de la canal (P=0,014), aunque su valor no fue estadísticamente diferente del observado en animales que consumieron la dieta SL.

5.3.3. Características fisicoquímicas del *longissimus thoracis:* calidad organoléptica

Los resultados para los diferentes atributos de calidad de carne se muestran en la Tabla 5.5. La carne de terneras alimentadas con la dieta SG mostró unos porcentajes de humedad (P<0,01) y proteína (P<0,001) más elevados. Sin embargo, no se encontraron diferencias entre las presentes dietas experimentales en el $pH_{24h,\ pm}$ o en los parámetros de color (P>0,05). En cuanto a la capacidad de retención de agua, la carne obtenida mediante las dietas C y SG mostró las mayores PP (P<0,01), mientras que la dieta SG produjo carne de menores PG (P<0,05) aunque no estadísticamente diferente de la dieta SL.

Tabla 5.5. Efecto del tipo de semilla suplementada en el concentrado sobre la calidad organoléptica del *longissimus thoracis* de terneras de raza Rubia Gallega

	Concentrado				
	C	SL	SG	SSJ	SEM
Composición química (%)					
Humedad	75,75^{b}	75,62^{b}	76,56^{a}	75,48^{b}	0,231
Proteína	21,71^{b}	22,13^{b}	22,74^{a}	21,67^{b}	0,186
Grasa	2,50	2,68	1,76	2,57	0,304
Cenizas	1,16	1,15	1,17	1,14	0,008
$pH_{24h.\ pm}$	5,51	5,51	5,56	5,58	0,046
Parámetros de color					
L* (luminosidad)	41,28	40,19	39,64	40,62	0,918
a* (índice de rojo)	16,02	16,51	15,07	15,97	0,730
b* (índice de amarillo)	7,35	7,34	6,56	7,59	0,682
Croma $\sqrt{(a^{*2} + b^{*2})}$	17,65	18,12	16,45	17,70	0,925
Tono $(\tan^{-1}(b^*/a^*))$	24,22	23,36	23,48	25,25	1,216
Capacidad de retención de agua (%)					
Pérdidas por presión (PP)	28,40^{a}	26,07^{b}	28,00^{a}	25,63^{b}	0,573
Pérdidas por goteo (PG)	3,86^{a}	3,45^{ab}	2,51^{b}	4,19^{a}	0,368
Pérdidas por cocción (PC)	25,32	23,53	21,17	22,77	1,101
Test fuerza de corte WB					
Fuerza máxima de corte (N)	53,30^{a}	35,55^{b}	42,64^{ab}	40,47^{ab}	4,274
Test TPA					
Elasticidad (cm)	0,45	0,44	0,45	0,46	0,010
Gomosidad (N)	93,57^{b}	81,01^{b}	111,96^{a}	90,29^{b}	9,867
Masticabilidad (N-cm)	42,31^{b}	35,46^{b}	51,22^{a}	41,48^{ab}	3,048
Cohesividad	0,54^{b}	0,54^{b}	0,58^{a}	0,54^{b}	0,008

C: control; SL: semilla de linaza; SG: semilla de girasol; SSJ: semilla de soja.
$^{a.b.c}$ Las medias dentro de la misma línea con diferentes superíndices difieren significativamente (P≤0,05); SEM= error estándar de la media.
WB: Warner-Bratzler; TPA: análisis del perfil de textura.

La terneza objetiva (es decir, la fuerza de corte de WB) fue ligeramente afectada por la inclusión de semillas oleaginosas y su origen (P<0,05). Las dietas suplementadas mostraron valores numéricamente menores para la fuerza de corte WB en el LT comparado con la dieta C, pero sólo la dieta SL resultó en un valor estadísticamente más bajo. Algunos atributos de textura obtenidos del TPA, sí se han visto sustancialmente afectados por la dieta, ya que la gomosidad (P<0,01), masticabilidad (P<0,01) y cohesividad (P<0,05) fueron menos deseables en la carne procedente de animales que consumieron la dieta SG.

5.3.4. Composición de ácidos grasos del *longissimus thoracis* y de la grasa subcutánea: calidad lipídica

5.3.4.1. Contenido total de ácidos grasos

Los animales de raza RG son genéticamente magros *per se*, pero la carne de terneras que consumieron la dieta SG tuvo un menor contenido total de lípidos que la carne procedente de las otras dietas (P<0,001), mostrando también una disminución en el contenido de AGME en el LT comparado con las dietas C y SSJ (P=0,010, Tabla 5.6).

5.3.4.2. Ácidos Grasos Poliinsaturados (AGPI)

Se ha observado un marcado efecto de la dieta en el perfil de AGPI del LT y la GSC (Tabla 5.6). Independientemente de la dieta proporcionada a las terneras, la proporción de *n-6*AGPI (75%) fue mayor que la proporción de *n-3*AGPI (20%), siendo el LA el *n-6*AGPI más concentrado (76%). La carne de terneras RG que consumieron la dieta SG tuvo proporciones de AGPI más elevadas (P<0,001), relacionado directamente con los aumentos observados en los porcentajes totales e individuales de los *n-6*AGPI (P<0,001). Así, la alimentación con la dieta SG dobló los porcentajes de LA y sus productos de elongación y desaturación (20:3*n-6*, 20:4*n-6* and 22:4*n-6*) comparado con la dieta C y las otras dietas suplementadas (SL y SSJ) (P<0,001). Entre las presentes dietas experimentales también se observaron diferencias para la proporción Σ*n-3*AGPI y la mayoría de *n-3*AGPI individuales, pero el porcentaje del ácido docosahexaenoico DHA no se vio alterado (P>0,05). Sorprendentemente, la alimentación con la dieta SG produjo una carne con proporciones de LNA (P<0,05) y Σ*n-3*AGPI (P<0,01) estadísticamente comparables a aquellas observadas para la dieta SL. La alimentación con la dieta SG no

sólo resultó en un ligero incremento del porcentaje de LNA en el LT, sino también, y en mayor medida, en la proporción de *n-3*AGPI de cadena larga (CL), incluyendo los ácidos eicosapentaenoico (EPA, P<0,001) y docosapentaenoico (DPA, P<0,01). El DPA fue el mayor *n-3*AGPICL en cualquiera de las dietas, hasta el punto de ser el principal *n-3*AGPI en la carne de animales alimentados con la dieta SG (38%).

Tabla 5.6. Efecto del tipo de semilla suplementada en el concentrado sobre la composición de ácidos grasos poliinsaturados (% del total de ácidos grasos) del *longissimus thoracis* y la grasa subcutánea de terneras de raza Rubia Gallega

	Longissimus thoracis					Grasa subcutánea				
	Concentrado					Concentrado				
	C	SL	SG	SSJ	SEM	C	SL	SG	SSJ	SEM
Lípidos totales (g/100 g tejido)	2,23^{a}	1,99^{a}	1,22^{b}	2,40^{a}	0,186	90,29	88,61	86,37	88,42	2,003
AGME totales (g/100 g tejido)	1,73^{a}	1,58^{ab}	1,16^{b}	1,89^{a}	0,150	69,57	69,04	59,81	71,60	1,906
Ácidos grasos poliinsaturados (AGPI)										
18:2*n-6*c (LA)	6,07^{b}	6,41^{b}	12,42^{a}	7,26^{b}	0,932	2,08^{b}	2,08^{b}	2,94^{a}	2,94^{a}	0,194
20:3*n-6*	0,44^{b}	0,41^{b}	0,77^{a}	0,38^{b}	0,055	-	-	-	-	
20:4*n-6* (ARA)	1,48^{b}	1,55^{b}	2,67^{a}	1,42^{b}	0,205	-	-	-	-	
22:4*n-6*	0,14^{b}	0,11^{b}	0,20^{a}	0,12^{b}	0,012	-	-	-	-	
∑*n-6*	8,20^{b}	8,52^{b}	16,10^{a}	9,21^{b}	1,181	2,21^{b}	2,17^{b}	3,07^{a}	3,05^{a}	0,198
18:3*n-3* (LNA)	0,87^{b}	1,18^{a}	1,00^{ab}	0,82^{b}	0,089	0,36^{c}	0,67^{a}	0,41^{bc}	0,46^{b}	0,038
20:5*n-3* (EPA)	0,52^{b}	0,67^{b}	1,06^{a}	0,47^{b}	0,090	-	-	-	-	
22:5*n-3* (DPA)	0,77^{b}	0,88^{b}	1,39^{a}	0,66^{b}	0,105	-	-	-	-	
22:6*n-3* (DHA)	0,10	0,11	0,15	0,10	0,021	-	-	-	-	
∑*n-3*	2,28^{b}	2,87^{ab}	3,62^{a}	2,08^{b}	0,283	0,41^{b}	0,72^{a}	0,47^{b}	0,50^{b}	0,042
CLA total	0,62^{ab}	0,41^{c}	0,74^{a}	0,50^{bc}	0,057	0,66^{b}	0,53^{b}	1,64^{a}	0,57^{b}	0,076
∑AGPI	11,14^{b}	11,86^{b}	20,55^{a}	11,84^{b}	1,404	3,28^{c}	3,42^{c}	5,17^{a}	4,12^{b}	0,236

C: control; SL: linaza; SG: semilla de girasol; SSJ: semilla de soja.
[a.b.c] Las medias dentro de la misma línea con diferentes superíndices difieren significativamente (P≤0,05); SEM= error estándar de la media.
∑*n-6*= 18:2*n-6*, 18:3*n-6*, 20:3*n-6*, 20:4*n-6* y 22:4*n-6*; ∑*n-3*= 18:3*n-3*, 20:3*n-3*, 20:5*n-3*, 22:5*n-3* y 22:6*n-3;* CLA total= pico combinado de *c*9,*t*11-18:2 y *t*7,*c*9-18:2; ∑AGPI= ∑*n-6*, ∑*n-3* y CLA total.

De manera similar al LT, el porcentaje de ΣAGPI en la GSC aumentó cuando se alimentó con la dieta SG (P<0,001) y, en general, hubo más Σ*n-6*AGPI que Σ*n-3*AGPI. A diferencia del LT, las proporciones de Σ*n-6*AGPI y LA en la GSC aumentaron cuando se alimentaron con ambas dietas SG y SSJ en comparación con las dietas SL y C (P<0,01), mientras que los porcentajes de Σ*n-3*AGPI y LNA aumentaron sólo cuando se

empleó la dieta SL (P<0,001). En general, la GSC mostró una proporción mucho menor de ΣAGPI, LA y LNA que el LT, y se encontraron proporciones muy bajas de productos de elongación del LA y el LNA (menos del 0,1% del total de ácidos grasos).

5.3.4.3. Ácido Linoleico Conjugado (CLA)

El porcentaje total de CLA (pico combinado de $CLA_{c9,t11}$ y *t*7, *c*9-18: 2) se vio afectado por el tipo de semilla oleaginosa ofertada en la dieta, y aumentó cuando se alimentó con la dieta SG tanto en el LT (P<0,01) como, en mayor medida, en la GSC (P<0,001) en comparación con las dietas SL y SSJ (Tabla 5.6). Curiosamente, la proporción de CLA total en la GSC fue ligeramente más del doble en comparación con el LT cuando se usó la alimentación con la dieta SG.

5.3.4.4. Ácidos Grasos Monoinsaturados (AGMI)

El porcentaje de ΣAGMI y todos los porcentajes individuales de *t*AGMI y *c*AGMI en LT se vieron afectados por el tipo de dieta (Tabla 5.7). Los porcentajes de Σ*t*18:1 y Σ*t*AGMI fueron significativamente más elevados (P≤0,001) cuando se administró la dieta SG en comparación con las otras dietas. Este patrón se observó para todos los isómeros *t*18:1 individuales, excepto para Σ*t*13+*t*14-18:1, que mostró la mayor proporción cuando se alimentó con la dieta SL (P≤0,001) y representó el 23% del total de isómeros *t*18:1, pasando a ser el segundo más abundante después del TVA. La proporción del grupo Σ*t*6- a *t*10-18:1 aumentó drásticamente cuando se administró la dieta SG, mientras que la dieta SL tuvo la proporción más baja (P<0,001). Es importante señalar que este grupo de isómeros representó el 47% del total de *t*18:1 en el LT cuando se alimentó con la dieta SG, mientras que sólo representó el 17% con la dieta SL. Como se esperaba, el TVA fue el isómero *t*18:1 mayoritario para las dietas C, SL y SSJ (43%, 48% y 40% del total *t*18:1, respectivamente) pero su deposición no fue diferente entre estas dietas.

La alimentación con la dieta SG condujo a un pequeño pero significativo aumento en el porcentaje de TVA (P<0,05) en el LT en comparación con el resto de las dietas experimentales, pero también mostró una relación de (Σ*t*6- a *t*10-18:1)/t11-18:1 más elevada que la alimentación con la dieta SL (P≤0,01). Por el contrario, los porcentajes de ΣAGMI (P<0,01) y ΣcAGMI (P<0,001) en el LT fueron más bajos cuando

se alimentó con SG, lo cual estuvo directamente relacionado con la menor proporción de *c*9-18:1 (P<0,001) y *c*9-16:1 (P<0,05, Tabla 5.7). El resto de *c*AGMI individuales minoritarios no se vieron afectados por la dieta (*c*9-14:1, *c*13-18:1, *c*15-18:1, *c*9-20:1 y *c*11-20:1; datos no mostrados en la tabla) o sus proporciones fueron más elevadas cuando se alimentó con la dieta SG (*c*9-15:1 y *c*7-16:1, P<0,01; *c*9-17:1 y *c*11-18:1, P<0,05; datos no mostrados en la tabla).

Tabla 5.7. Efecto del tipo de semilla suplementada en el concentrado sobre la composición de ácidos grasos monoinsaturados (% del total de ácidos grasos) del *longissimus thoracis* y la grasa subcutánea de terneras de raza Rubia Gallega

	Longissimus thoracis					Grasa subcutánea				
	Concentrado					Concentrado				
	C	SL	SG	SSJ	SEM	C	SL	SG	SSJ	SEM
Ácidos grasos monoinsaturados (AGMI)										
∑*t*6- a *t*10-18:1	0,88^{b}	0,46^{c}	2,30^{a}	1,19^{b}	0,167	1,13^{b}	0,87^{b}	4,20^{a}	1,65^{b}	0,295
*t*11-18:1 (TVA)	1,19^{b}	1,29^{b}	1,61^{a}	1,27^{b}	0,121	1,68^{b}	1,52^{b}	3,18^{a}	1,45^{b}	0,229
*t*12-18:1	0,17^{b}	0,13^{b}	0,34^{a}	0,14^{b}	0,042	0,22^{b}	0,26^{b}	0,66^{a}	0,26^{b}	0,042
∑*t*13+*t*14-18:1^{A}	0,39^{b}	0,61^{a}	0,37^{b}	0,38^{b}	0,014	0,39^{b}	0,56^{a}	0,43^{b}	0,41^{b}	0,020
*t*16-18:1	0,17^{b}	0,21^{ab}	0,26^{a}	0,21^{ab}	0,018	0,17^{c}	0,32^{b}	0,44^{a}	0,24^{c}	0,027
(∑*t*6- a *t*10-18:1)/ *t*11-18:1	0,80^{b}	0,36^{c}	1,44^{a}	1,11^{ab}	0,191	0,80^{ab}	0,61^{b}	1,34^{a}	1,39^{a}	0,126
∑*t*18:1	2,79^{b}	2,70^{b}	4,87^{a}	3,19^{b}	0,267	3,60^{b}	3,53^{b}	8,97^{a}	4,00^{b}	0,464
∑*t*AGMI	2,84^{b}	2,72^{b}	4,94^{a}	3,23^{b}	0,270	3,63^{b}	3,58^{b}	9,03^{a}	4,05^{b}	0,467
*c*9-16:1	2,95^{a}	2,65^{ab}	2,31^{b}	2,95^{a}	0,145	4,66	4,18	4,83	4,62	0,381
*c*9-18:1 (OA)	34,28^{a}	34,13^{a}	25,35^{b}	32,62^{a}	1,017	34,74^{a}	36,07^{a}	29,29^{b}	34,64^{a}	1,435
*c*12-18:1	0,18^{b}	0,21^{b}	0,81^{a}	0,20^{b}	0,028	0,14^{c}	0,24^{b}	0,78^{a}	0,20^{bc}	0,031
∑*c*AGMI	40,91^{a}	40,54^{a}	33,04^{b}	39,20^{a}	1,090	43,11^{ab}	44,58^{a}	39,44^{b}	43,32^{ab}	1,425
∑AGMI	43,76^{a}	43,26^{a}	37,98^{b}	42,42^{a}	1,075	46,74	48,15	48,47	47,37	1,366

C: control; SL: semilla de linaza; SG: semilla de girasol; SSJ: semilla de soja.
$^{a.b.c}$ Las medias dentro de la misma línea con diferentes superíndices difieren significativamente (P≤0,05); SEM= error estándar de la media.
∑*t*6- a *t*10-18:1= *t*6-18:1, *t*7-18:1, *t*8-18:1, *t*9-18:1 y *t*10-18:1; ∑*t*18:1= ∑*t*6- a *t*10-18:1, *t*11-18:1, *t*12-18:1, *t*13/*t*14-18:1 y *t*16-18:1; ∑*t*AGMI= *t*9-16:1, *t*11/*t*12-16:1 y ∑*t*18:1; ∑*c*AGMI= *c*9-14:1, *c*9-15:1, *c*7-16:1, *c*9-16:1, *c*9-17:1, *c*9-18:1, *c*11-18:1, *c*12-18:1, *c*13-18:1, *c*15-18:1, *c*9-20:1, *c*11-20:1 y *c*13-22:1; ∑AGMI= ∑*c*AGMI + ∑*t*AGMI.
^{A}Coelución con *c*6/*c*7/*c*8-18:1.

La GSC siguió el mismo patrón que el LT, con las proporciones de Σ*t*AGMI, Σ*t*18:1 y *t*18:1 individuales siendo significativamente más altas (P≤0,001, Tabla 5.7) cuando se alimenta con la dieta SG en comparación con las otras, excepto el grupo de isómeros Σ*t*13+*t*14-18:1, cuyo porcentaje fue más elevado (P<0,001) cuando se alimentó con la dieta SL. De manera similar a lo observado en el LT, la alimentación con la dieta

SG favoreció la deposición de Σ*t*6- a *t*10-18:1 sobre la de TVA en la GSC y, nuevamente, la alimentación con la dieta SL mantuvo la relación más baja de (Σ*t*6- a *t*10-18:1)/*t*11-18:1 (P≤0,05) entre las dietas suplementadas. Los perfiles de *c*AGMI en la GSC fueron consistentes con los encontrados en el LT, obteniéndose las proporciones más bajas de Σ*c*AGMI (P<0,05) en la GSC con la alimentación mediante la dieta SG, principalmente debido al porcentaje más bajo de *c*9-18:1 (P<0,01). Sin embargo, a diferencia del LT, el porcentaje total de AGMI en la GSC no se vio afectado por la dieta (P>0,05). Las proporciones de ΣAGMI fueron más altas en la GSC que en el LT, relacionado con las mayores deposiciones de TVA y Σ*t*6- a *t*10-18:1 dentro de Σ*t*AGMI y de *c*9-16: 1 y *c*9-18: 1 dentro de Σ*c*AGMI.

5.3.4.5. Ácidos Grasos Saturados (AGS) y de Cadena Ramificada (AGCR)

La proporción de ΣAGS en el LT se redujo cuando se administró la dieta SG (P<0,01, Tabla 5.8), principalmente relacionado con los porcentajes más bajos observados del 16:0 (P<0,01) en comparación con las otras dietas. La dieta no tuvo ningún efecto sobre el porcentaje de ΣAGS en la GSC ni sobre la proporción total o individual de AGCR (P>0,05, Tabla 5.8).

Tabla 5.8. Efecto del tipo de semilla suplementada en el concentrado sobre la composición de ácidos grasos saturados y de cadena ramificada (% del total de ácidos grasos) del *longissimus thoracis* y la grasa subcutánea de terneras de raza Rubia Gallega

	Longissimus thoracis					Grasa subcutánea				
	Concentrado					Concentrado				
	C	SL	SG	SSJ	SEM	C	SL	SG	SSJ	SEM
Ácidos grasos saturados (AGS) y de cadena ramificada (AGCR)										
14:0	2,62	2,43	2,44	2,91	0,160	3,84	3,99	4,81	4,60	0,324
16:0	25,42^{a}	24,55^{a}	22,68^{b}	24,78^{a}	0,471	28,39	27,10	25,81	27,82	0,902
18:0	14,82	15,76	14,40	15,69	0,636	13,35	14,83	13,07	13,53	0,939
∑AGS	44,46^{a}	44,22^{a}	40,78^{b}	45,02^{a}	0,814	47,22	47,59	45,41	47,68	1,398
∑AGCR	0,77	0,66	0,67	0,68	0,044	0,77	0,82	0,87	0,78	0,066
AGPI/AGS	0,25^{b}	0,27^{b}	0,52^{a}	0,27^{b}	0,041	0,07^{b}	0,07^{b}	0,12^{a}	0,09^{b}	0,007
n-6/n-3	3,86^{a}	2,99^{b}	4,40^{a}	4,49^{a}	0,270	5,53^{a}	3,12^{b}	7,00^{a}	6,26^{a}	0,562

C: control; SL: linaza; SG: semilla de girasol; SSJ: semilla de soja.
$^{a.b.c}$ Las medias dentro de la misma línea con diferentes superíndices difieren significativamente (P≤0,05); SEM= error estándar de la media.
∑AGS= 14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:0, 19:0, 20:0, 21:0, 22:0, 23:0 y 24:0; ∑AGCR= 15:0$_{iso}$, 15:0$_{aiso}$, 16:0$_{iso}$,17:0$_{iso}$ y 17:0$_{aiso}$; AGPI/AGS= ∑AGPI/∑AGS; *n-6*/*n-3*=∑*n-6*/∑*n-3*.

5.3.4.6. Relaciones AGPI/AGS y *n-6/n-3*

La relación AGPI/AGS se duplicó en ambos tejidos mediante la alimentación con la dieta SG (P<0,001) mientras que la dieta SL redujo la relación *n-6/n-3* tanto en el LT (P =0,003) como en la GSC (P≤0,001) (Tabla 5.8).

5.4. DISCUSIÓN

5.4.1. Rendimiento animal y calidad de la canal

Se ha observado previamente que la suplementación con semillas oleaginosas y el tipo de semilla añadido modificaban la ingesta de alimento (Gibb *et al.*2004; Mapiye *et al.,* 2013a). Los resultados del presente estudio también sugieren que ambos factores afectaron el valor estimado de CI, ya que resultó numéricamente más alto para los animales alimentados con dietas suplementadas con semillas oleaginosas en comparación con la dieta C, específicamente cuando se alimentaron con dietas SL y SG. El valor numérico más alto de CI observado para los animales que consumieron la dieta SG en comparación con SL concuerda con los resultados publicados por Mapiye *et al.* (2013a), quienes informaron que este hallazgo explicaba la mayor GMD y, en consecuencia, los mayores pesos de sacrificio y canal. Estos autores también informaron que los porcentajes más altos de rendimiento canal que observaron en los animales alimentados con semillas de girasol, tal vez estaban relacionados con su mayor cobertura de grasa. Pero a la inversa de esos autores, la GMD_C fue, sin embargo, similar entre las dietas experimentales actuales, mostrando sólo una tendencia hacia GMD_T más elevadas los animales que consumieron la dieta SG, de acuerdo con resultados controvertidos previos sobre los efectos de la suplementación con semillas oleaginosas en la GMD (Gibb *et al.*, 2004; Mir *et al.*, 2008). Además, a pesar de que también observamos que la alimentación con la dieta SG condujo a canales más pesadas con mayor CS y rendimiento canal, creemos que las diferencias encontradas en el presente experimento probablemente estén relacionadas con la asignación inicial aleatoria de los animales más pesados a la dieta SG, y tal vez influenciado por una posible mayor proporción de animales de doble musculatura (gen *mh*) en esta dieta. Para respaldar esta teoría y asumiendo que ambos factores, animales más musculosos y mayor cobertura de grasa, están relacionados con un mayor rendimiento canal, en el presente experimento, el primero debió afectar en mayor medida. Así, los animales que consumieron la dieta SG presentaron el menor valor de FC (aunque

comparable a la dieta SL) y el mayor peso del LT con un peso vivo antes del sacrificio comparable al de los animales alimentados con las dietas C y SL.

5.4.2. Calidad organoléptica de la carne

Son varios los estudios en los que no se observaron efectos de la suplementación con semillas oleaginosas sobre la composición química de la carne (Mapiye *et al.*, 2013a; Albertí *et al.*, 2014). Sin embargo, la alimentación con la dieta SG del presente estudio condujo a una carne con un ligero incremento en los porcentajes de humedad y proteína, y con un contenido de grasa numéricamente menor comparado con las otras dietas, a pesar de ser la dieta con mayor EE (Tabla 2). Es bien sabido que el contenido de grasa es inversamente proporcional al contenido de agua, mientras que la proporción de proteína es más o menos constante. Sin embargo, el mayor porcentaje de proteína en la carne de terneras alimentadas con la dieta SG podría respaldar nuestra sospecha sobre una mayor presencia de animales con doble musculatura en este grupo en comparación con los demás. En general, a pesar de exhibir diferencias, la composición química entre las dietas estuvo en el rango de los valores esperados para la ternera RG, mostrando contenidos bajos en grasa y altos en proteína (Bispo *et al.*, 2010a; González *et al.*, 2011). La ausencia de efectos de la suplementación con semillas oleaginosas sobre el $pH_{24h,pm}$ observada en el presente experimento, concuerda con los resultados de nuestro estudio anterior en el que empleamos los respectivos aceites libres (Cap. I), y con los de Mapiye *et al.* (2013a) y Albertí *et al.* (2014) al incluir semillas oleaginosas en la dieta animal. También era esperado no observar cambios en el color de la carne entre las dietas experimentales, porque los animales eran de la misma raza, del mismo sexo y tenían una edad similar (Costa *et al.*2002), lo cual es consistente con nuestros hallazgos previos en respuesta a la suplementación de aceite libre en la dieta (Cap. I).

La CRA es el indicador más común de jugosidad de la carne cuando no se dispone de análisis sensorial (Juárez *et al.*, 2012), por lo que los resultados actuales sugieren que, dentro de las dietas suplementadas con semillas oleaginosas, la carne más jugosa se obtendría de los animales que fueron alimentados con la dieta SG en comparación con las demás, ya que mostró unas PP y PG, medidas en carne cruda, incrementadas y reducidas, respectivamente, y una tendencia hacia unas menores PC (P=0,084). Las mayores PP podrían estar relacionadas con su contenido inicial más alto de agua, mientras que el

porcentaje más alto de proteína pudo haber afectado a las PG contribuyendo a la retención de agua; resultando en una jugosidad instrumental mejorada.

Con respecto a la terneza, la menor fuerza de corte WB en el LT encontrada cuando se incluyeron semillas oleaginosas, específicamente linaza, en una dieta de acabado típica para RG, es inconsistente con los resultados mostrados por otros autores que incluyeron linaza en la dieta de los animales (Corazzin *et al.*, 2012) o que compararon sus efectos con la semilla de girasol (Mapiye *et al.*, 2013a). En todo caso, las dietas suplementadas con semillas alcanzaron el umbral mínimo de 43N para la carne tierna de calidad (Wheeler *et al.*, 2004; Platter *et al.*, 2005). Los resultados del análisis de TPA revelaron que la carne de animales alimentados con la dieta SG resultó ser más gomosa, dura y con una mayor resistencia de las fibras reticulares, sugiriendo que esta carne contenía tejido conectivo más fuertemente ligado en comparación con las otras dietas, y está inversamente correlacionado con la terneza en la carne cruda.

En general, dentro de la carne obtenida mediante la alimentación con semillas oleaginosas, la carne de la dieta SG podría ser más jugosa según lo indicado por las medidas de CRA, pero fue menos tierna que la procedente de la alimentación con SL, y con unos atributos de TPA menos deseables. Sin embargo, una evaluación mediante un panel de degustación podría brindar más información, ya que el uso de métodos objetivos no siempre se asemeja a las medidas sensoriales (Caine *et al.*, 2003).

5.4.3. Calidad lipídica del *longissimus thoracis* y de la grasa subcutánea

5.4.3.1. Contenido total de lípidos y ácidos grasos.

El menor contenido de lípidos y AGME observado en la carne cuando se usó la alimentación con SG sugiere un efecto del diferente procesamiento entre las semillas oleaginosas. Parece que la energía proporcionada por la dieta SG no estuvo suficientemente disponible para los animales con respecto a la deposición de grasa intramuscular (GIM), ya que es bien sabido que la grasa veteada está relacionada con la disponibilidad de energía neta durante el período de finalización (Harper y Pethick 2004). Se sugiere que el aceite de la semilla de girasol molida estuvo más protegido que el de las semillas extrusionadas, lo que disminuyó su disponibilidad y posterior incorporación de AG en los tejidos. En general, los bajos contenidos de lípidos totales y AGME observados en el LT para las presentes dietas experimentales estuvieron en el rango de los

publicados por Bispo *et al.* (<2,5%, 2011) para animales jóvenes de la misma raza, en sistemas semiextensivos similares sin suplementos de AGPI. El contenido total de lípidos observado para la carne del presente experimento fue 1,5 veces menor que el encontrado en nuestro previo estudio con aceites (Cap. I), sugiriendo una limitación en la disponibilidad del aceite para la infiltración de grasa cuando se alimenta con semillas, lo que podría elevar la proporción de AGPI (Fiems, 2012) pero no significar necesariamente una mayor derivación de los AGPI de la dieta. Animales de la raza RG con fenotipo de doble musculatura han mostrado previamente un perfil de AG mejorado a través de sus incrementos en la proporción de AGPI (González *et al.*, 2011), pero aumentar el contenido de GIM de la ternera RG y, en consecuencia, el contenido de AG deseables a través de la dieta animal es bastante complicado, como ya han publicado otros autores para este tipo de razas magras (Raes *et al.*, 2004a; Fiems, 2012; Horcada *et al.*, 2016).

5.4.3.2. Ácidos Grasos Poliinsaturados (AGPI)

Que la alimentación con la dieta SG duplicase la proporción de ΣAGPI, especialmente de *n-6*AGPI relativo al incremento en LA, fue algo inesperado, ya que el aporte dietético de ΣAGPI fue incluso mayor para la dieta SL y el de LA fue cercano al de las dietas C y SSJ (Tabla 5.3). Estos resultados podrían indicar que la naturaleza y el procesamiento de las semillas oleaginosas suplementadas en el presente estudio tuvieron un efecto diferente sobre las tasas de lipólisis o de BH (Jenkins *et al.*, 2008), lo que sugiere un mayor paso ruminal de AGPI en animales alimentados con la dieta SG en comparación con las demás. La accesibilidad al aceite y la tasa de degradación de los lípidos de las semillas de girasol molidas podrían haber sido más lentas que en las semillas extrusionadas, ya que la molienda podría haber roto las semillas sin alterar los cuerpos oleosos. Aun así, el tamaño de partícula en la dieta SG podría haber sido lo suficientemente grande como para salir del rumen más rápido que los productos extrusionados (Pires *et al.*, 1997) y estar menos expuestos a la BH. Apoyando esta hipótesis, Akraim *et al.* (2006) encontraron una mayor proporción de LA y LNA en el flujo duodenal cuando se alimentó con linaza triturada a través de una malla de 6mm en comparación con una de 3mm o con linaza extrusionada. En cualquier caso, la mayor proporción de LA resultante en la carne de terneras alimentadas con la dieta SG, quizás haya activado las enzimas de elongación y desaturación, resultando también en mayores porcentajes de sus productos de elongación (20:3*n-6*, 20:4*n-6* y 22:4*n-6*).

Sorprendentemente, aunque los productos comerciales basados en linaza (ricos en LNA) y otras fuentes ricas en *n-3*AGPI (aceite de pescado, forrajes, lípidos protegidos ruminalmente, algas enriquecidas) se han sugerido como la forma más eficaz de aumentar los niveles de *n-3*AGPI y *n-3*AGPICL en la carne de vacuno (Scollan *et al.*, 2014), la alimentación con la dieta SG del presente estudio, condujo a una proporción de LNA comparable y a porcentajes más altos de EPA y DPA en el LT de terneros RG que los obtenidos con la dieta SL. Dadas las diferencias en el aporte dietético de LNA entre los concentrados (~15 veces mayor en SL que en SG, y ~5 veces mayor que en C y SSJ, Tabla 5.2), se esperaba un patrón similar en su incorporación a los tejidos, en el que la alimentación con las dietas SL y SG favoreciesen, respectivamente, la mayor y menor proporción de ambos, LNA y *n-3*AGPI. Estos resultados pueden reflejar que la protección de los AGPI en las semillas extrusionadas, especialmente en la linaza (SL), fue menor que en la semilla de girasol molida (SG), observándose una extensa BH de los AGPI de la dieta, lo que concuerda con la predicción de Akraim *et al.* (2006) de la limitada capacidad de protección de las semillas extrusionadas. Además, alimentar con la dieta SG, que tuvo un tamaño de partícula mayor que las dietas con semillas extrusionadas, podría haber facilitado que los AGPI de la dieta saliesen antes del rumen o haber alterado la población microbiana, influyendo así en las tasas de lipólisis y de BH (Lourenço *et al.*, 2010). Parte del LNA acumulado mediante la alimentación con la dieta SG también podría haber resistido a la BH debido al alto nivel de LA en el concentrado (Tabla 5.3) (Bas y Morand-Fehr, 2000). Este hecho quizás alteró la BH de los AGPI provenientes del forraje; dado que el concentrado SG proporcionó el menor aporte de LNA (Tabla 5.3), parece que la elevada proporción incorporada en la carne estaría influenciada por el suministro de LNA del forraje. En general, si la alimentación con la dieta SG logró elevar de algún modo el porcentaje de LNA, éste pudo usarse en mayor medida como sustrato para el complejo sistema enzimático de desaturasas y elongasas promoviendo la síntesis *de novo* de *n-3*AGPICL, ya que existen evidencias de la preferencia del LNA como sustrato frente al LA (Cherfaoui *et al.*, 2012). La ausencia de efectos de la dieta sobre el porcentaje de DHA está relacionada con la limitada eficiencia de las últimas etapas en la ruta de elongación y desaturación de *n-3*AGPI (Raes *et al.*, 2004a). Las limitaciones para aumentar los niveles de DHA en la carne de bovino, incluso mediante la alimentación con linaza, ya fueron publicadas anteriormente (Corazzin *et al.*, 2012; Habeanu *et al.*, 2014), y sólo se observaron proporciones considerables de DHA cuando la inclusión de semillas oleaginosas se realizó en dietas altas en forraje (Razminowick *et al.*, 2008) o cuando se

agregaron algas ricas en DHA o aceite de pescado protegido ruminalmente a la dieta (Scollan *et al.*, 2014).

La incorporación de AGPI en la GSC fue menor que en el LT, lo que concuerda con los resultados de estudios anteriores en los que se emplearon aceites (Cap. I) o semillas oleaginosas (Nassu *et al.*, 2011), y esta diferencia puede ser atribuida a las mayores proporciones de fosfolípidos en el LT y a su mayor relación AGPI/AGS. La distribución de AGPI en la GSC reflejó la composición de AG de los concentrados, con las dietas SG y SSJ favoreciendo la deposición de LA y *n-6*AGPI comparado con las dietas C y SL; mientras que la alimentación con la dieta SL fue la única que aumentó la proporción de LNA y Σ*n-3*AGPI en la GSC, lo cual concuerda con los resultados de otros estudios de alimentación con linaza como aceite o semilla (Cap. I; Nassu *et al.*, 2011).

5.4.3.3. Ácido Linoleico Conjugado (CLA)

La incorporación de $CLA_{c9,t11}$ en la carne de rumiantes es un factor combinado entre i) ser un producto intermedio de la BH ruminal de los AGPI de la dieta (Kepler *et al.*, 1966), y ii) su síntesis endógena a partir de la Δ-9-desaturación del TVA absorbido, la principal ruta sugerida (Corl *et al.*, 2001).

El aporte de LA y, especialmente, la relación *n-6/n-3* de las dietas experimentales actuales, parece haber influido en la deposición de CLA total ($CLA_{c9,t11}$ + *t*7,*c*9-18:2) ya que sus diferencias entre dietas se reflejaron en los porcentajes de CLA total tanto en el LT como en la GSC. La alimentación con las dietas SG y SL mostró la mayor y menor proporción, respectivamente, de CLA total en el LT, mientras que las dietas C y SSJ resultaron en una proporción intermedia. La mayor respuesta del CLA a fuentes ricas en LA frente a LNA se explica por sus metabolismos ruminales que evidencian al LA como su principal precursor en la BH ruminal (Bessa *et al.*, 2007; Troegeler-Meynadier *et al.*, 2006), mientras que el LNA conduce preferiblemente a otros dienos no conjugados (Jenkins *et al.*, 2008; Nassu *et al.*, 2011). Por lo tanto, que el porcentaje total de CLA haya sido mayor en la carne de terneras alimentadas con la dieta SG que con la dieta SL, concuerda con estudios anteriores de alimentación con aceites (Noci *et al.*, 2007) o semillas oleaginosas (Mapiye *et al.*, 2013a). Sin embargo, a pesar de que el aporte de LA en la dieta SG fue similar a las dietas C y SSJ, su relación *n-6/n-3* fue 3,5 veces más elevada, lo que pudo haber influido en la eficiencia de las vías de BH

ruminal del LA como previamente observaron Troegeler-Meynadier *et al.* (2006). En la misma línea, Srivastava *et al.* (2018) confirmaron que el aceite de girasol fue más efectivo para la síntesis de CLA cuando se incubó con *B. fibrisolvens* que el aceite de soja, y lo explicaron por su diferente relación LA/LNA. Además, si los AGPI de la dieta SG estuvieron protegidos de algún modo contra la lipólisis (los cuerpos oleosos en la semilla molida no se alteraron totalmente), relacionado con el diferente método de procesamiento de semillas oleaginosas y sus efectos sobre los AGPI BH (Troegeler-Meynadier *et al.*, 2014), su presencia podría haber inhibido el último paso de la BH ruminal (*t*18:1 a 18:0) conduciendo a acumulaciones considerables de CLA absorbido/incorporado y TVA de origen ruminal (Harfoot y Hazlewood, 1997; Demeyer y Doreau, 1999). Por lo tanto, el mayor porcentaje de TVA derivado del rumen en la dieta SG pudo haber sido un sustrato para la enzima Δ-9-desaturasa y convertirse endógenamente en $CLA_{c9,t11}$, contribuyendo a la absorción de CLA total; mientras que si las dietas con semillas extusionadas (SL y SSJ) y la dieta C favorecieron una BH ruminal de los AGPI más completa, conducirían preferiblemente a acumulaciones de 18:0 (producto final de AGPI BH) en lugar de CLA y TVA. Aún más, el 18:0 absorbido cuando se alimenta con dietas suplementadas con semillas extrusionadas o con la dieta control, podría ser un sustrato preferido para la Δ-9-desaturasa y ser endógenamente sintetizado en *c*9-18:1 (Waters *et al.* 2009) (como se refleja en la Tabla 5.7) en lugar de que el TVA se convirtiese en CLA en los tejidos.

Se ha informado anteriormente que los aumentos en la deposición de CLA en la carne de vacuno son limitados (<1%) debido a una extensiva BH y, potencialmente, a una actividad reducida de Δ-9-desaturasa cuando se usan en la alimentación animal aceites ricos en AGPI (Waters *et al.*, 2009). En general, el porcentaje de CLA total promedio (0,55%) en las dietas suplementadas con semillas oleaginosas (SL, SG y SSJ) fue similar al encontrado en nuestro estudio anterior usando los respectivos aceites (0,51% Cap. I), a la inversa de los hallazgos de Troegeler -Meynader *et al.* (2014) quienes observaron mayor producción de CLA mediante la alimentación con semilla de soja que con aceite de soja. Estos autores concluyeron que las condiciones de calentamiento durante la extrusión, o la naturaleza del proceso, podría ser el factor principal en la protección de AGPI frente a la BH, sugiriendo que el método de extrusión debe alcanzar una Tª determinada para proporcionar una protección eficiente de AGPI y así poder obtener más CLA, siendo además un tema para futuras investigaciones. Aun así, el

porcentaje de CLA total en el presente experimento estuvo en el rango de los valores esperados en carne de bovino cuando se suplementa con semillas oleaginosas la dieta de razas de doble musculatura (0,48%, Raes *et al.*, 2004b), pero ligeramente superior a la proporción encontrada en la carne de terneros RG destetados y alimentados con un sistema semiextensivo similar sin adición de semillas oleaginosas (0,35%, Bispo *et al.*, 2011). Los porcentajes más altos de CLA observados en la GSC en comparación con el LT son consistentes con los resultados previos de otros estudios en los que se evaluó la alimentación con aceites (Cap. I),) o con semillas (Raes *et al.*, 2004b; Nassu *et al.*, 2011; Oliveira *et al.*2011), y está relacionado con el hecho de que el CLA se deposita predominantemente en los triglicéridos (Fritsche *et al.*, 2000) y con la mayor actividad de Δ-9-desaturasa en la GSC (St John *et al.*, 1991).

5.4.3.4. Ácidos Grasos Monoinsaturados (AGMI)

Los triglicéridos de la dieta son sometidos a lipólisis y los AGPI liberados experimentan procesos de BH y *trans*-isomerización (Harfoot y Hazlewood, 1997), acumulándose *t*AGMI como intermedios predominantes de la BH (Lourenço *et al.*, 2010).

La alimentación con la dieta SG condujo a porcentajes de Σ*t*AGMI en el LT y en la GSC más elevados en comparación con las otras dietas (1,7 y 2,4 veces más altos en LT y GSC respectivamente), lo que podría sugerir un efecto del diferente método de procesado de las semillas oleaginosas sobre la disponibilidad de AGPI y sobre la extensión de su BH ruminal. Así, la alimentación con semillas molidas (SG) en vez de extrusionadas (SL y SSJ) parece causar una acumulación mayor e indeseable de *t*AG, mayormente relacionado con la inhibición de la etapa final de BH por los AGPI de la dieta (Lourenço *et al.,* 2010). Los cambios observados en el perfil *t*18:1 son indicativos de la composición en AGPI de los concentrados. Es conocido que el ácido vaccénico es el *t*18:1 predominante en las grasas de rumiantes (Bessa *et al.*, 2007; Prates y Bessa, 2009), pero este patrón sólo se observó para las dietas C, SL y SSJ, ya que la dieta SG promovió la acumulación de Σ*t*6- a *t*10-18:1, de acuerdo con nuestros resultados previos al suplementar el concentrado base con aceites libres (Cap. I). Las dietas bajas en forraje y altas en almidón conducen a un pH ruminal reducido y a cambios en las poblaciones bacterianas, alterando las vías conocidas de BH de los AGPI y conduciendo a una acumulación de *t*10-18:1 en lugar de TVA (Klieve *et al.*, 2003; Leheska *et al.*, 2008; Aldai *et al.*, 2013; Mapiye *et al.*, 2015; Zened *et al.*, 2016). Estas vías de BH alteradas

para fuentes de LA y LNA se propusieron hace muchos años (Griinari y Bauman, 1999; Harfoot y Hazlewood 1997), pero sólo la del LA fue aceptada inicialmente por identificar los intermediarios responsables en muestras de rumiantes, ampliamente confirmado en estudios posteriores (Hristov *et al.*, 2005; Zened *et al.*, 2013). Sin embargo, Alves y Bessa (2014) también identificaron posteriormente uno de los dos intermedios de BH previamente propuestos como precursores del *t*10-18:1 en las rutas alteradas de BH del LNA. Incluso sabiendo que las vías de BH del LNA también pasan a través de intermedios *trans*-10, su ocurrencia, debe ser menor que para el LA. Dado el similar aporte de LA en los concentrados C, SG y SSJ del presente estudio (Tabla 5.2), cabría esperar un perfil *t*18:1 parecido en los tejidos, por lo que sospechamos, como otros autores han publicado anteriormente (Troegeler-Meynadier *et al.*, 2006), que la relación dietética *n-6/n-3* tuvo una fuerte influencia en las vías de BH. Se podría sugerir que el mayor "cambio *trans*-10" está asociado con la abundancia de LA en la dieta y no de LNA, ya que la alimentación con la dieta SL resultó en una relación más baja de Σ(*t*6- a *t*10-18:1)/TVA tanto en LT como en la GSC, mientras que la dieta SG llevó al valor más alto y las dietas C y SSJ a valores intermedios. La alimentación con la dieta SL también resultó en una mayor deposición de Σ*t*13+*t*14-18:1 en el LT y la GSC, lo cual ha sido previamente documentado cuando se ofrecen fuentes ricas en LNA, tanto en dietas altas en forraje (Nassu *et al.*, 2011; Mapiye *et al.*, 2013a), como en aquellas con un alto contenido de concentrado (Bispo *et al.*, 2009; Habeanu *et al.*, 2014). En general, la proporción de Σ*t*18:1 en la GSC fue mayor que en el LT, lo que concuerda con hallazgos previos al agregar aceites ricos en AGPI a dietas altas en concentrado (Raes *et al.*, 2004b; Aldai *et al.*, 2010; Cap. I). Es importante destacar que, la alimentación con semillas extrusionadas (SL y SSJ) frente a la semilla molida (SG) redujo las proporciones de Σ*t*AGMI en el LT respecto a la alimentación con los respectivos aceites libres (~5%, Cap. I) de acuerdo con los hallazgos de Troegeler-Meynadier *et al.* (2014), quienes confirmaron que los aceites eran más eficientes que las semillas en la producción de *t*-18:1.

Con respecto al perfil de *c*AGMI en el LT y la GSC, la menor proporción de OA y Σ*c*AGMI observada para la dieta SG está relacionada probablemente con una mayor acumulación de LA y/o sus productos BH que causen el desplazamiento de *c*9-18:1 o la inhibición de la actividad de la Δ-9-desaturasa (Waters *et al.*, 2009; Jacobs *et al.*, 2011). La alimentación con las dietas C, SL y SSJ promovió la completa BH de los

AGPI a 18:0, que una vez absorbido fue propenso a ser usado como sustrato por la Δ-9-desaturasa para la síntesis de OA.

5.4.3.5. Ácidos Grasos Saturados (AGS) y de Cadena Ramificada (AGCR)

Nuestra incapacidad para alcanzar niveles elevados de AGPI o sus productos de BH en el presente experimento apunta nuevamente hacia una baja protección de los AGPI frente a los microbios ruminales y a una BH de AGPI más o menos completa (Lourenço *et al.*, 2010). En apoyo de esta teoría, las proporciones del producto final de la BH de la mayoría de los AGPI (es decir, 18:0) fueron relativamente altas tanto en LT como en la GSC, y no se encontraron diferencias entre las dietas. La menor proporción de ΣAGS y 16:0 (constituyente principal y producto de la síntesis endógena) encontrada en el LT de animales alimentados con la dieta SG, indica que la síntesis *de novo* fue inhibida de algún modo en esta dieta. Eso podría estar relacionado con la mayor proporción de AGPI y/o sus intermedios de BH (*t*18:1 principalmente), los cuales han mostrado tener efectos inhibidores sobre la síntesis endógena de AG en el músculo (Waters *et al.*, 2009). En general, la suplementación con semillas (dietas SL, SG y SSJ) en el presente estudio redujo ligeramente los porcentajes totales de AGS en el LT y la GSC en comparación con la alimentación mediante los respectivos aceites libres (~49 y 51% en LT y GSC respectivamente, Cap. I), principalmente bajando el 16:0 y 14:0 manteniendo porcentajes similares de 18:0. La reducción en la proporción de AGS podría verse como un efecto positivo, ya que las recomendaciones para la salud humana incluyen reducir la ingesta de AGS, especialmente con menos de 18 carbonos debido a sus efectos aterogénicos e hipercolesterolémicos (Williams, 2000).

La ausencia de efectos de la suplementación con semillas oleaginosas sobre los porcentajes de ΣAGCR en el LT y la GSC concuerda con los resultados que observamos previamente mediante la suplementación con aceites (Cap. I), relacionado con un similar aporte de los precursores para su síntesis (aminoácidos y glucosa) a través de las dietas (Vlaeminck *et al.*, 2006a). Aunque Mapiye *et al.* (2013a) encontraron concentraciones de algún AGCR individual más elevadas en carne de terneros alimentados con linaza comparado con girasol, la mayoría de los autores no encontraron cambios en relación con la dieta, cuya influencia ha mostrado resultados contradictorios en los AGCR de bovino según lo revisado por Vahmani *et al.* (2020).

5.4.3.6. Índices de calidad lipídica: AGPI/AGS y *n-6/n-3*

La relación AGPI/AGS se vio duplicada mediante la alimentación con la dieta SG en comparación con la dieta C y con las SL y SSJ, alcanzando el valor recomendado por el BDH, (1994) para esta relación (≥0,45), relevante debido a su uso para evaluar el valor nutricional de las grasas (WHO, 2003). El valor promedio encontrado para la relación AGPI/AGS en el presente estudio estuvo por encima del rango de 0,1-0,15 normalmente observado en la carne de bovino cuando se usan estrategias de suplementación (Vahmani *et al.*, 2017b), relacionado con el uso de razas magras (Raes *et al.*, 2004*a*; 2004*b*; Fiems, 2012; Scollan *et al.*, 2014). Además, este valor fue superior, y en mayor medida para la dieta SG, que el observado en la raza RG mediante la suplementación con los aceites libres (0,17; Cap. I), lo cual podría sugerir que las semillas mejoraron la protección y el paso ruminal de los AGPI de la dieta, y que la semilla molida ha sido más eficaz que las extrusionadas. Sin embargo, el aumento en la relación AGPI/AGS podría estar más bien relacionado con el menor contenido de GIM encontrado en el presente experimento (Scollan *et al.*, 2006a), que a su vez fue sustancialmente reducido con la dieta SG respecto a las otras. De hecho, la alimentación con la dieta C condujo a una relación AGPI/AGS similar a las dietas SL y SSJ, lo que significa que los ingredientes de la dieta base han afectado a las tasas de BH en mayor medida que el tipo de grasa añadida y que la extrusión no ha sido efectiva protegiendo los AGPI frente a la BH.

El balance entre los *n-6*AGPI y *n-3*AGPI es un factor crítico que influye en la salud cardiovascular, ya que estas familias de ácidos grasos son necesarias para las funciones fisiológicas normales (Wijendran y Hayes, 2004). En los últimos 100 años, el aumento en la relación *n-6/n-3* en la dieta humana se ha relacionado con el desarrollo de enfermedades asociadas con la inflamación (Simopoulos, 2008). Ante la controversia encontrada en la bibliografía, una reciente revisión concluye que, además de las ingestas absolutas de *n-6*AGPI y *n-3*AGPI, la relación entre ellos tiene gran relevancia a la hora de evaluar la relación entre la ingesta de AGPI y el riesgo de enfermedades crónicas (Saini y Keum, 2018). Anteriormente se ha publicado que las estrategias de suplementación causaban cambios considerables en la relación *n-6/n-3* (Scollan *et al.*, 2014) y en el presente estudio, hubo un claro efecto del tipo de semilla oleaginosa suplementada, ya que la alimentación con la dieta SL redujo fuertemente la relación *n-6/n-3* en el LT y la GSC, llevándola en ambos casos al valor recomendado para la salud humana (<4:1)

(BDH 1994; Simopoulos, 2011). La reducción observada en la relación *n-6/n-3* al alimentar con dieta SL concuerda con los hallazgos de estudios previos que evaluaron la suplementación con linaza (Habeanu *et al.*, 2014) o con aceite de lino (Cap. I; Noci *et al.*, 2007) en comparación con otras fuentes de lípidos.

5.4.3.7. Cantidades de AG depositadas en carne

La aparente protección de los AGPI mediante la alimentación con la dieta SG en el presente estudio podría, sin embargo, no ser tan efectiva, ya que, en base cuantitativa (mg/100 g carne), debido a las diferencias encontradas en el contenido intramuscular de lípidos, la cantidad total de AGPI y/o sus productos de BH (TVA y $CLA_{c9,t11}$) fue similar entre dietas (P>0,05, Tabla 5.9), aportando cualquiera de las dietas presentes un promedio de 120 mg de LA por 100g de carne fresca. Se podría decir que la alimentación con semilla extrusionada de linaza fue ineficaz, ya que a pesar de que la dieta SL favoreció la acumulación de LNA en el LT respecto a la dieta SG, las diferencias con la dieta control y la dieta SSJ fueron mínimas (P<0,05), y estos efectos sólo se trasladaron en diferencias numéricas en el contenido total de Σ*n-3*AGPI y de sus productos de elongación (*n-3*AGPICL) (P>0,05). De hecho, la acumulación de LNA y Σ*n-3*AGPI fue menor que la observada mediante la alimentación con aceites (Cap. I).

Acumulaciones limitadas de LNA fueron previamente documentadas en varios estudios, incluso suplementando con linaza a niveles superiores al del presente estudio y con diversos métodos de protección (Vahmani *et al.*, 2017b). Como consecuencia, la cantidad de LNA más *n-3*AGPICL (EPA + DHA) y DPA depositada en el LT cuando se alimenta con la dieta SL supondría sólo el 6% del LNA y el 31% de *n-3*AGPICL (EPA + DHA) requerido para ser un producto etiquetado como "fuente de" *n-3*AGPI (300 mg de LNA o 40 mg de EPA + DHA; EFSA, 2009). Dado que el DPA es el *n-3*AGPICL predominante en los animales terrestres y puede convertirse fácilmente en EPA y DHA, además de compartir algunos de sus efectos (Holub *et al.*, 2011), se sugiere ampliamente que se incluya en el sumatorio de *n-3*AGPICL (Howe *et al.*, 2006; Vahmani *et al.*, 2017b). En ese caso, la alimentación con la dieta SL llevaría a 26 mg de *n-3*AGPICL + DPA por 100 g de carne, con lo que alcanzaría el 63% de los requisitos de etiquetado.

Tabla 5.9. Efecto del tipo de semilla suplementada en el concentrado sobre el contenido de ácidos grasos específicos del *longissimus thoracis* (mg/100 g carne) y la grasa subcutánea (mg/g grasa subcutánea) de terneras de raza Rubia Gallega

	Longissimus thoracis					Grasa subcutánea				
	Concentrado					Concentrado				
	C	SL	SG	SSJ	SEM	C	SL	SG	SSJ	SEM
Ácidos grasos poliinsaturados (AGPI)										
18:2*n-6c* (LA)	103,92	98,08	148,31	131,14	9,332	14,38^{b}	14,32^{b}	17,23^{ab}	20,87^{a}	0,870
∑*n-6*	139,74	130,20	192,36	165,79	11,621	15,30^{b}	14,98^{b}	17,98^{ab}	21,61^{a}	0,888
18:3*n-3* (LNA)	14,21^{ab}	18,71^{a}	11,55^{b}	15,03^{ab}	0,861	2,48^{c}	4,54^{a}	2,46^{c}	3,50^{b}	0,218
20:5*n-3* (EPA)	8,19	10,26	12,69	8,28	0,759	0,02^{ab}	0,01^{b}	0,04^{a}	0,00^{b}	0,005
22:5*n-3* (DPA)	12,68	13,36	16,51	11,85	0,927	0,18	0,17	0,22	0,16	0,014
22:6*n-3* (DHA)	1,62	1,69	1,76	1,65	0,130	0,02	0,01	0,02	0,01	0,003
∑*n-3*	37,02	44,48	42,77	37,20	2,289	2,80^{b}	4,88^{a}	2,83^{b}	3,78^{b}	0,227
CLA total	10,16	6,58	8,42	9,49	0,569	4,38^{b}	3,61^{b}	9,53^{a}	4,13^{b}	0,548
∑AGPI	187,67	182,03	244,53	213,44	13,56	22,61^{b}	23,57^{b}	30,45^{a}	29,68^{a}	1,161
*n-3*AGPICL	9,81	11,95	14,45	9,93	1,717	-	-	-	-	
*n-3*AGPICL+DPA	22,49	25,51	30,46	21,78	3,556	-	-	-	-	
Ácidos grasos monoinsaturados (AGMI)										
∑*t*6 a *t*10-18:1	16,12^{ab}	6,99^{b}	25,67^{a}	22,85^{a}	2,071	7,90^{bc}	5,92^{c}	24,12^{a}	11,58^{b}	1,645
*t*11-18:1 (VA)	20,68	20,19	17,90	23,66	1,190	11,20	10,47	18,24	10,43	0,910
∑*t*13+*t*14-18:1^{A}	6,75^{b}	9,66^{a}	4,26^{c}	7,39^{b}	0,500	2,67	3,83	2,50	2,91	0,130
∑*t*18:1	49,51	41,97	54,60	60,47	3,979	24,48^{b}	24,22^{b}	51,23^{a}	28,55^{b}	2,531
∑*t*AGMI	50,44	42,35	55,34	61,16	3,010	24,73^{b}	24,53^{b}	51,57^{a}	28,85^{b}	2,538

C: control; SL: semilla de linaza; SG: semilla de girasol; SSJ: semilla de soja.

$^{a.b.c}$ Las medias dentro de la misma línea con diferentes superíndices difieren significativamente (P≤0,05); SEM= error estándar de la media.

∑*n-6*= 18:2*n-6*, 18:3*n-6*, 20:3*n-6*, 20:4*n-6* y 22:4*n-6*; ∑*n-3*= 18:3*n-3*, 20:3*n-3*, 20:5*n-3*, 22:5*n-3* y 22:6*n-3;* CLA total= pico combinado de *c*9,*t*11-18:2 y *t*7,*c*9-18:2; ∑AGPI= ∑*n-6*, ∑*n-3* y CLA total; *n-3*AGPICL= EPA+DHA; ∑*t*6- a *t*10-18:1= *t*6-18:1, *t*7-18:1, *t*8-18:1, *t*9-18:1 y *t*10-18:1; ∑*t*18:1= ∑*t*6- a *t*10-18:1, *t*11-18:1, *t*12-18:1, *t*13/*t*14-18:1 y *t*16-18:1; ∑*t*AGMI= *t*9-16:1, *t*11/*t*12-16:1 y ∑*t*18:1.

^{A}Coelución con *c*6/*c*7/*c*8-18:1.

Además, basándose en una ración de 150 g, la carne de ternera RG alimentada con la dieta SL proporcionaría el 1,4% de la ingesta diaria recomendada de LNA (2 g por día) y el 7% (16% incluyendo DPA) de las recomendaciones para *n-3*AGPICL (250 mg EPA + DHA por día) sugeridos por la EFSA (2009; 2010).

Aunque a primera vista el aporte de LNA y *n-3*AGPICL a través del consumo de carne de ternera alimentada con la dieta SL podría parecer insignificante para los requerimientos humanos, puede contribuir a la ingesta general cuando el consumo de alimentos marinos es limitado (Howe *et al.*, 2006; Vahmani *et al.*, 2017b). Más allá de la carne magra, el enriquecimiento en AGPI de la GSC también es de interés, ya que podría servirse en una pequeña proporción acompañando el filete o usarse en carne picada y otros productos procesados. Así, en base cuantitativa, la alimentación con linaza contribuiría a un mayor aumento en la ingesta de Σ*n-3*AGPI (~73 mg extra) en comparación con las otras dietas (un promedio de 47 mg) al consumir una ración final de 150 g constituida por el 10% de su GSC.

Las acumulaciones de CLA total en el LT del presente estudio han sido bajas y comparables entre dietas (promedio de 9 mg de CLA total/100 g de carne, $P>0,05$, Tabla 5.9), relacionado con las altas tasas de BH de los AGPI y con los genéticamente bajos niveles de GIM en la ternera RG. Así, el CLA total estaría dentro del rango observado para razas magras en diferentes estudios con suplementación de AGPI mediante semillas, revisados por Vahmani *et al.* (2017b). Finalmente, una porción de 150 g de filete de ternera RG alimentada con cualquier dieta del presente estudio proporcionaría una cantidad comparable de CLA total (promedio de 13 mg) que contribuiría en un 9% a la cantidad diaria propuesta por Sofi *et al.* (2010) (145 mg CLA/día) para observar efectos beneficiosos sobre la enfermedad cardiovascular aterosclerótica en humanos. Sin embargo, si se consume una ración de filete de 150g acompañada del 10% de su GSC, la alimentación con la dieta SG aportaría el doble de CLA total ($P<0,001$) que las otras dietas, alcanzando el nivel sugerido por Sofi *et al.* (2010).

Lo más destacado de los resultados de *t*18:1es que la alimentación con la dieta SL evitó la acumulación de Σ*t*6- a *t*10-18:1 comparado con las otras dietas suplementadas (SG y SSJ), tanto en el LT (3,5 veces menor, P<0,01) como en la GSC (4 y 2 veces menos que las dietas SG y SSJ, respectivamente, P<0,001) (Tabla 5.9). Disminuir la acumulación de Σ*t*6- a *t*10-18:1 podría ser un objetivo importante para obtener un perfil *t*18:1 potencialmente menos dañino. Entonces, dado que las acumulaciones absolutas de TVA, presumiblemente asociado con efectos beneficiosos para la salud (Gebauer *et al.*, 2011; Dilzer y Park, 2012), fueron similares entre las dietas actuales (un promedio de 22 mg de TVA/100 g de carne fresca), la alimentación con la dieta SL podría ser la mejor opción, ya que también mostró una tendencia hacia cantidades de Σ*t*AGMI en el LT más bajas (P=0,078) que con las otras dietas (1,4 veces menos). Pero, como se ha señalado en otros estudios, se requiere más investigación sobre los efectos en la salud de muchos isómeros *t*18:1 individuales y otros lípidos de rumiantes para elaborar cualquier directriz o consejo (Aldai *et al.*, 2013; Mapiye *et al.*, 2015; Vahmani *et al.*, 2020), ya que la alimentación con dieta SL también resultó en la acumulación de Σ*t*13+*t*14-18:1 en el LT. De entre los isómeros *t*18:1, se han realizado numerosos esfuerzos para aumentar el contenido de TVA en la carne de vacuno, por lo que es importante señalar que las acumulaciones de TVA alcanzadas en este experimento están por debajo del rango de valores revisado por Vahmani *et al.* (2017b), procedente de distintos estudios en los que se agregaron diferentes tipos de semillas oleaginosas a las dietas de animales de diversas razas y a varios niveles (generalmente superiores al empleado en el presente estudio), lo que indica una protección contra la BH no efectiva. El rasgo genético de la raza RG que limita la deposición de GIM también debió tener un gran efecto, puesto que la cantidad promedio de TVA (22 mg/100 g carne) en las presentes dietas experimentales es del orden observado en animales genéticamente magros criados bajo un sistema de producción similar con un 3% de aceite de soja añadido (~4 y ~10 mg de TVA/100 g de carne para animales con doble musculatura y normales, respectivamente; Aldai *et al.,* 2010). En cualquier caso, suplementar las dietas comerciales habituales de acabado de RG con cualquiera de las semillas oleaginosas presentes, redujo el contenido de Σ*t*AGMI en el LT (en promedio 52 mg Σ*t*AGMI/100 g de carne fresca) a la mitad en comparación con la suplementación mediante los respectivos aceites (127 mg Σ*t*AGMI/100 g de carne fresca, Cap. I), de acuerdo con los hallazgos publicados por Troegeler-Meynadier *et al.* (2014), quienes encontraron que los aceites eran más eficientes que las semillas en la producción de *t*-18:1. Esta reducción en el contenido de *t*AGMI lleva a niveles

comparables a los observados en carne de ternera RG criada en condiciones similares sin adición de AGPI (57 mg Σ*t*AGMI/100 g carne fresca; Bispo *et al.*, 2011), que es considerablemente más bajo que el límite sugerido por los reguladores para ser considerado como libre de *trans* (0,5 g de *t*FA/100 g porción; FDA, 2003). Sin embargo, deben tenerse en cuenta ciertas consideraciones al alimentar a las terneras RG con la dieta SG actual si un filete de 150g se consume con el 10% de su GSC, ya que, en este caso, se proporcionarían 768 mg adicionales de *t*AGMI que influirían negativamente, principalmente debido al aumento de Σ(*t*6- a *t*10-18:1).

5.4.3.8. Implicaciones

En general, la alimentación separada y *ad libitum* de heno y concentrados suplementados con semillas no fue efectiva en el aumento del contenido de AGPI o productos de su BH. Los resultados concuerdan con nuestro estudio previo en el que la suplementación se hizo con aceites (Cap. I) y con un gran número de estudios donde la suplementación con semillas fue sustancialmente ineficaz modificando el contenido de ácidos grasos de la carne (Vahmani *et al.*, 2017b). La clave para mejorar los perfiles lipídicos de la ternera es manipular la BH ruminal, por lo que, si el objetivo es incrementar el contenido de AGPI, especialmente *n-3*AGPI, se debe inhibir la lipólisis y los primeros estadios de la BH. Por otro lado, la inhibición del último paso de la biohidrogenación elevaría los contenidos de $CLA_{c9,t11}$ y/o TVA. Alimentar con mayor proporción de forraje, mejorar su calidad y el tiempo en pastoreo, aumenta el *n-3*AGPI en la carne de vacuno (Alfaia *et al.*, 2009) y promueve la acumulación de TVA y AR en relación con la capacidad de ciertos metabolitos del forraje para inhibir el último paso de la BH de AGPI a 18: 0 (Morales y Ungerfeld, 2015). Más allá de aumentar el suministro de forraje, se ha sugerido que la inclusión de aceites o semillas oleaginosas enriquecidos en AGPI en la dieta animal mejora el paso ruminal de AGPI debido al aumento del suministro de AGPI y sus efectos tóxicos en los microbios del rumen, lo que a su vez reduce las tasas de lipólisis y/o BH ruminal de AGPI. Normalmente, la BH de los AGPI de la dieta es muy eficiente, a menos que el proceso se inhiba de alguna manera (Jenkins y Bridges, 2007; Lourenço *et al.*, 2010; Buccioni *et al.*, 2012), y planteamos la hipótesis de que alimentar concentrados enriquecidos con AGPI por separado del heno daría como resultado fluctuaciones en los niveles de AGPI en el rumen y, en ocasiones, alcanzar niveles suficientes para ser inhibidores o tóxicos para las bacterias sensibles responsables

de la BH. Sin embargo, no encontramos aumentos sustanciales en el contenido de AGPI ni en el LT ni en la GSC respecto a la alimentación con una dieta control, y no parece que se hayan alcanzado concentraciones intermitentes de AGPI lo suficientemente elevadas para inhibir el último paso de la BH y acumular productos intermedios de la BH de AGPI. El no haber mejorado la acumulación de AGPI intactos podría estar relacionado con la capacidad amortiguadora del heno y/o con el contenido limitado de carbohidratos rápidamente fermentables en el concentrado y, por lo tanto, el pH del rumen se habría mantenido relativamente alto y estable. Previamente en otros estudios se encontraron aumentos sustanciales en AGPI, particularmente 18:3*n-3*, cuando se alimenta con semillas de lino en dietas reductoras del pH ruminal basadas en maíz (46 mg/100 g de músculo; LaBrune *et al.*, 2008) y en cebada (60 mg/100g de músculo; Juárez *et al.*, 2011) (es decir, dietas ricas en carbohidratos de fermentación rápida), las cuales se sabe que reducen la lipólisis (típicamente, la etapa limitante en las tasas de BH) (Van Nevel y Demeyer, 1996; Jenkins *et al.*, 2007; 2008). En el presente estudio, aunque las dietas se clasificarían como altas en concentrado, con toda probabilidad no han tenido éxito en producir un ambiente ruminal que condujese a limitar la lipólisis y la BH (Lourenço *et al.*, 2010), probablemente relacionado con la pequeña cantidad de grano (40%) y alta presencia de carbohidratos de fermentación menos rápida en la dieta base (20% de pulpa de remolacha) (Tabla 5.1). Esto coincide con los resultados de Raes *et al.*(2004c) y Habeanu *et al.* (2014), quienes observaron cantidades limitadas de LNA escapando a la BH ruminal mediante la suplementación con linaza en dietas altas en concentrado con bajas cantidades de grano, pero con una proporción considerable de carbohidratos de fermentación lenta (pulpa de remolacha azucarera). De hecho, en el presente experimento, el "cambio *trans*-10" (es decir, más *t*10-18:1 que *t*11-18:1) en la BH, asociado con variaciones en la población microbiana ruminal y resultante de la alimentación con dietas de alto contenido en concentrado/reductoras del pH (Klieve *et al.*, 2003; Leheska *et al.*, 2008; Aldai *et al.*, 2013; Mapiye *et al.*, 2015; Zened *et al.*, 2016), sólo se ha visto para la dieta SG.

En el lado positivo, la alimentación con dietas ricas en AGPI con alto contenido de concentrado en el presente experimento no condujo a los aumentos sustanciales en *t*MUFA observados por Aldai *et al.* (2010). De nuevo, esto se debe probablemente a la naturaleza moderada de la dieta (es decir, niveles más bajos de carbohidratos de fermentación rápida y una mayor calidad y cantidad de forraje). Sin

embargo, en el lado negativo, la BH extensa fomentada por las dietas actuales no condujo a aumentos deseables en *n-3*AGPI, o productos de BH que se cree poseen efectos beneficiosos para la salud (es decir, *t*11-18:1 y $CLA_{c9,t11}$). Aunque el concentrado y el heno se proporcionaron por separado a libre elección, esto no fue suficiente para dar como resultado las condiciones del rumen necesarias para aumentar las acumulaciones netas de los AG deseados, combinado esto con una medida protectora adicional (extrusión/molienda de la semilla oleaginosa), que también fue ineficaz. La extrusión no limitó el acceso microbiano a los lípidos, lo que resultó en una extensa lipólisis y BH de AGPI, resultando en la misma proporción de AGS que la dieta C. La alimentación con semilla de girasol molida en comparación con las extrusionadas, aunque pudo haber mejorado la proporción de AGPI, redujo la disponibilidad de energía para el animal y la deposición de GIM, pero no protegió los AGPI de los microorganismos ruminales, que se hidrogenaron a tasas similares dando acumulaciones netas de AGPI y sus productos de BH comparables.

La modificación beneficiosa de los ácidos grasos en la carne de ternera requerirá un método de protección más eficaz o formas de controlar las vías y extensión de la BH. Uno de los medios más eficaces para proteger los AGPI hasta la fecha es el tratamiento de semillas oleaginosas con formaldehído (Scott *et al.*, 1971), según lo revisado por Jenkins *et al.* (2008), Scollan *et al.* (2014), Vahmani *et al.* (2017b) y Dugan *et al.* (2018), pero esta práctica no está permitida en varias jurisdicciones debido a preocupaciones sobre su toxicidad (Doreau *et al.*, 2010). Por lo tanto, se requieren medios de protección más efectivos que permitan una mayor derivación ruminal de AGPI (inhibiendo la lipólisis) a la vez que se preserva la disponibilidad para el animal. Mejorar el perfil de AG de la carne de bovino modificando la extensión y las vías de BH de los AGPI, sin embargo, parece estar más al alcance. Tanto Noci *et al.* (2007) como Vahmani *et al.* (2017a) pudieron promover aumentos en el contenido de TVA (229 y 409 mg/100g músculo, respectivamente) y CLA (42 y 58 mg/100g músculo, respectivamente) al suministrar los concentrados suplementados con AGPI a mayores niveles (15% MS) que los del presente estudio, previamente al consumo de forraje, en dietas basadas en pasto y heno, respectivamente. La eficacia de este enfoque probablemente se basó en la alimentación de una pequeña cantidad de concentrado con un alto contenido de AGPI para interrumpir la BH completa de AGPI, el último paso de la cual se sabe que es sensible a la presencia de niveles elevados de AGPI (Lourenço *et al.*, 2010; Dewanckele

et al., 2018; Toral *et al.*, 2018). Sin embargo, la alimentación con dietas altas en forraje no conduce a tasas altas de GMD o deposición de GIM, por lo que se requiere un período de finalización basado en dietas altas en concentrado para razas magras de maduración tardía similares a la RG. En consecuencia, un próximo paso será determinar si la alimentación con un suplemento que contenga elevados niveles de AGPI antes que el resto de los alimentos, usando un sistema de acceso controlado en una dieta alta en concentrado, permitiría la producción de ternera RG de alta calidad con enriquecimientos significativos en AGPI y/o productos de su BH.

5.5. CONCLUSIONES

La inclusión de semillas oleaginosas en la dieta y su fuente de origen tuvieron efectos menores sobre el rendimiento animal, la calidad de la canal y la calidad organoléptica de la carne de ternera RG. Sin embargo, el perfil de AG en el LT y la GSC se vio notablemente afectado por el tipo de semilla añadido a la dieta de acabado.

La alimentación con un concentrado comercial suplementado con semilla de girasol molida (dieta SG), en comparación con semillas extrusionadas de linaza y soja (SL y SSJ) o con una grasa vegetal ©, incrementó la proporción de PUFA en la carne de ternera, sugiriendo, además, una mayor protección frente a la BH completa. Pero realmente, la alimentación con semilla molida de girasol redujo la disponibilidad de energía para los animales y la deposición de GIM, resultando un mayor porcentaje de PUFA en los tejidos por las menores tasas de síntesis endógena de AG. Del mismo modo, las mayores relaciones AGPI/AGS observadas en este estudio de suplementación con semillas, en comparación con nuestro experimento previo con aceites (Cap. I), también estarían más relacionadas con el menor contenido de GIM encontrado en el presente trabajo que con una protección eficaz de los AGPI frente a la BH.

Algo muy relevante de este estudio es que cuando las dietas de finalización típicas del ganado RG (ricas en cereales) se suplementa con linaza, no se obtuvo la gran cantidad de *t*AGMI asociada a estas dietas altas en concentrado, evitando la acumulación indeseable de *t*10-18:1; al mismo tiempo que provocó un ligero incremento de LNA, conduciendo a una relación *n-6/n-3* más baja y favorable. Sin embargo, para conseguir enriquecimientos sustanciales en el contenido de *n-3*AGPI o productos deseables de su BH (TVA y $CLA_{c9,t11}$) en los tejidos, un desafío aún mayor para este tipo de raza magra, sería

necesario alimentar a los animales con mayores niveles de AGPI eficientemente protegidos seguidos del resto de la dieta, cuyos ingredientes base favorezcan la inhibición de los procesos de lipólisis y/o BH ruminal. Hay que llegar a una situación de compromiso entre proteger el aceite dentro de las semillas oleaginosas y al mismo tiempo brindar disponibilidad a los animales, ya que los resultados actuales muestran claramente grandes diferencias cuando las condiciones de producción, como el procesamiento de las semillas oleaginosas, se modifican ligeramente. Esto significa que la protección de los AGPI debería ser proporcionada por el resto de la dieta, sino sería necesario modificar el proceso de extrusión.

Consecuentemente, los esfuerzos futuros deben centrarse en la selección adecuada de i) los ingredientes base de la dieta, ii) el nivel de semilla añadida y/o su método de procesamiento y iii) un sistema de acceso controlado para alimentar el concentrado altamente enriquecido en AGPI, con el objetivo de suplementar una dieta típica de RG que permita la producción de carne de calidad con enriquecimientos significativos en *n-3*AGPI y/o en productos de su BH.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

CAPÍTULO III

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

6. CAPÍTULO III

EFECTO DEL NIVEL DE LINAZA SUPLEMENTADO EN LA DIETA DE ACABADO DE TERNEROS MACHO Y HEMBRA DE RAZA RUBIA GALLEGA SOBRE LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS DE LA CARNE, SU CALIDAD ORGANOLÉPTICA Y LAS CARACTERÍSTICAS DE PRODUCCIÓN ANIMAL Y CALIDAD DE LA CANAL

6.1. INTRODUCCIÓN

La revisión bibliográfica desde hace casi dos décadas, sobre la alimentación de rumiantes con semillas oleaginosas, recoge que el uso de linaza es una de las mejores estrategias para elevar los niveles de *n-3*AGPI en la carne (Scollan *et al.*, 2014; 2017; Vahmani *et al.*, 2015a; 2017), incluyendo el ácido α-linolénico (LNA, 18:3*n-3*) y sus productos de elongación y desaturación de cadena larga (CL), el eicosapentaenoico (EPA, 20:5*n-3*), el docosapentaenoico (DPA, 22:5*n-3*) y el docosahexaenoico (DHA, 22:6 *n-3*). Aunque las deposiciones realmente considerables de *n-3*AGPICL sólo se han alcanzado, hasta el momento, mediante la suplementación con aceites de pescado o algas enriquecidas (Scollan *et al.*, 2014). El consumo de *n-3*AGPI, especialmente EPA y DHA, en las sociedades occidentales está muy por debajo de los requerimientos internacionales, ya que estos AG pueden moderar las enfermedades cadiovasculares, cáncer y desórdenes del sistema inmune, además de jugar un importante papel en diversas funciones biológicas, particularmente en los procesos de inflamación, desarrollo del cerebro, función cognitiva y estado psicológico en humanos (Pellicia *et al.*, 2013). La ingesta recomendada de *n-3*AGPICL varía según la edad, estado fisiológico y hábitos dietéticos (GOED, 2020), pero las recomendaciones generales sugeridas por la *European Food Safety Authority* son de 250 mg EPA + DHA por día (EFSA, 2010). Así, el consumo de carne enriquecida en estos AG puede suponer un aporte sustancial (20%) a la ingesta total de *n-3*AGPICL, especialmente en países que consumen más carne roja y procesados

cárnicos que pescado o marisco (Howe *et al.*, 2006; 2007; Russo, 2009; Ponnampalam *et al.*, 2018). Sin embargo, el aumento en la cantidad de *n-3*AGPI depositada en la carne mediante estrategias de suplementación con respecto a las dietas comunes, es limitado y no suele ser económicamente viable (Vahmani *et al.*, 2020).

Las concentraciones de *n-3* en carne no reflejan la cantidad de *n-3* en la dieta debido principalmente a la extensiva biohidrogenación (BH) ruminal de los AGPI (Jenkins *et al.*, 2008) y a la competencia con los *n-6* por la absorción y uso de enzimas de elongación y desaturación (Ponnampalam *et al.*, 2018). Durante la BH, se produce además la acumulación de intermedios, *trans*(*t)*-18:1 principalmente, cuyo perfil isomérico en carne está fuertemente determinado por la dieta (Jenkins *et al.*, 2008). El enriquecimiento de la carne en *t*11-18:1 (ácido *trans* vaccénico, TVA) y *(c)*9,*t*11-18:2 (*c*9,*t*11-ácido linoleico conjugado, $CLA_{c9,t11}$, o ácido ruménico), ha sido de gran interés durante décadas por sus potenciales beneficios para la salud basados en estudios sobre modelos animales y cultivos celulares (Gebauer *et al.*2011; Dilzer y Park, 2012). Sin embargo, recientemente se está demandando más información sobre los diferentes isómeros *t*18:1 y sus efectos en la salud (Gebauer *et al.,* 2011; Aldai *et al.,* 2013), ya que estos productos de BH se acumulan de forma diferente en la carne en función del tipo de dieta (Mapiye *et al.*, 2015), exacerbándose este efecto mediante las estrategias de suplementación con AGPI (Vahmani *et al.*, 2020). Por ello, evaluar los cambios que se producen en el perfil *t*AG y su acumulación total resulta también de interés cuando se persigue aumentar el contenido de AGPI en carne, ya que el impacto del consumo total de *t*AG procedentes de rumiantes en el desarrollo de enfermedades crónicas en humanos no está claro todavía, y podría ser tan perjudicial como el consumo de *t*AG de origen industrial (Brouwer *et al.*, 2013; Menaa *et al.*, 2013; 2016; Gebauer *et al*., 2015).

Como se ha comentado, la BH de los AGPI de la dieta es muy eficiente, a menos que el proceso se inhiba de alguna manera (Jenkins y Bridges, 2007; Lourenço *et al.*, 2010; Buccioni *et al.*, 2012), de modo que la clave para mejorar los perfiles lipídicos de la carne de ternera es modular el metabolismo ruminal de los lípidos mediante la dieta. Así, si el objetivo es incrementar el contenido de AGPI en la carne, especialmente *n-3*AGPI, se debe inhibir la lipólisis y los primeros estadios de la BH; mientras que la inhibición del último paso de la BH elevaría los contenidos de $CLA_{c9,t11}$ y/o TVA. La alimentación con dietas ricas en forraje, así como la calidad del forraje y el aumento del tiempo en pastoreo, eleva las concentraciones de *n-3*AGPI en carne (Noci *et al.*, 2005; Moreno *et*

al., 2007b; Alfaia *et al.*, 2009, Daley *et al.*, 2010; Pestana *et al.*, 2012) y promueve la acumulación de TVA y $CLA_{c9,t11}$ (Vahmani *et al.*, 2015a), principalmente gracias a la capacidad de ciertos metabolitos del forraje para inhibir la primera etapa de la BH de los AGPI y/o modular el último paso a 18:0 (Vasta y Bessa, 2012; Morales y Ungerfeld, 2015; Toral *et al.*, 2018). Sin embargo, la comercialización de carne procedente de razas genéticamente magras, como es la Rubia Gallega (RG), requiere un período de cebo previo al sacrificio que mejore la conformación y cobertura de grasa de los animales para lograr la eficiencia económica (Brea *et al.*, 1998). Este periodo a base de dietas altas en concentrado lleva asociado una merma en la calidad lipídica de la carne debido al aumento en la proporción de SFA y en la relación *n-6/n-3* (Ponnampalam *et al.*, 2006; Varela *et al.*, 2004), por lo que la suplementación con fuentes ricas en LNA podría contrarrestar esa disminución en la calidad del perfil lipídico de la carne (Wood *et al.*, 2008). La efectividad de la inclusión de aceites o semillas oleaginosas enriquecidos en AGPI sobre la mejora en la acumulación de AGPI en la carne, estaría relacionada con el aumento de AGPI libres intactos y sus efectos tóxicos en los microbios del rumen, lo que a su vez reduce las tasas de lipólisis y/o BH ruminal de AGPI.

Las dietas típicas de acabado de la raza RG no contienen generalmente suplementos de AGPI, pero, de la información obtenida en los estudios mediante estrategias de suplementación con aceites vegetales y semillas oleaginosas, cuyos resultados se expusieron en los Capítulos I y II, respectivamente, se puede decir que la proporción de *n-3*AGPI en la carne de RG mejora mediante el uso de linaza (fuente rica en LNA), y las proporciones de TVA y $CLA_{c9,t11}$ con la soja o el girasol (fuentes ricas en LA) preferentemente. Sin embargo, como ya se ha comentado, las cantidades acumuladas en la carne mediante estrategias de suplementación han sido limitadas, especialmente las de *n-3*AGPICL, tanto en nuestros ensayos previos (Cap. I y II) como lo revisado en la bibliografía (Vahmani *et al.*, 2017), incluso empleando distintos métodos de protección ruminal (semillas enteras, extrusión, encapsulación o protección química) (Jenkins y Bridges, 2007; Gadeyne *et al.*, 2015; Dugan *et al.*, 2018) con el objetivo de aumentar el paso ruminal de los AGPI de la dieta. Los efectos de la protección química y la encapsulación han sido menos explorados en carne que en leche debido a sus elevados costes y a la baja compensación económica en la producción de carne enriquecida con *n-3*AGPI, por lo que la alternativa más barata, sigue siendo la suplementación con semilla extrusionada de linaza (Jenkins y Bridges, 2007). Mediante esta estrategia, sólo algunos

autores han observado aumentos sustanciales de AGPI en carne, particularmente de LNA (46 y 60 mg/100g de músculo; LaBrune *et al.*, 2008 y Juárez *et al.*, 2011, respectivamente), suplementando semillas de lino extrusionado en dietas altas en concentrado (conteniendo >70% grano) (reductoras del pH ruminal), las cuales tienen la capacidad de inhibir la lipólisis, que es la etapa limitante de la BH (Van Nevel y Demeyer, 1996; Jenkins *et al.*, 2007; 2008). Por otro lado, Noci *et al.* (2007) y Vahmani *et al*. (2017a) lograron aumentos en el contenido de LNA (34 y 69 mg/100g músculo, respectivamente), TVA (229 y 409 mg/100g músculo, respectivamente) y CLA (42 y 58 mg/100g músculo, respectivamente) al suministrar los concentrados suplementados con AGPI a niveles elevados (15% MS) antes del forraje en dietas con alto contenido en forrajes (pasto y heno, respectivamente). La eficacia de este enfoque probablemente se basó en la alimentación de una pequeña cantidad de concentrado con un alto contenido de AGPI para interrumpir la BH completa de AGPI, el último paso de la cual se sabe que es sensible a la presencia de niveles elevados de AGPI (Lourenço *et al.*, 2010; Dewanckele *et al.*, 2018; Toral *et al.*, 2018). Por tanto, estudiar las combinaciones entre el sistema de procesado, la composición de la dieta de base y el modo de alimentar el suplemento, serían de importancia para el futuro desarrollo de estrategias de protección de AGPI de bajo coste.

Con el objetivo de complementar la información obtenida en los estudios anteriores con aceites y semillas (Cap. I y II, respectivamente), y conseguir unos niveles mayores de AGPI en el rumen, se planteó un ensayo donde se evaluó el efecto de incrementar el nivel de linaza extrusionada (5, 10 y 15% MS) en una dieta base habitual de acabado en cebadero para terneros RG, sobre el perfil lipídico de la carne; evaluando además, los posibles efectos sobre las características de producción animal y de calidad de la canal y la carne. Cuando se añaden suplementos lipídicos a la dieta animal, además de la relación forraje/concentrado y el tipo de forraje, factores como la cantidad, el tipo y el procesado del suplemento, han mostrado influir en la composición de AG en carne (Vahmani *et al.*, 2015a). Así, se ha seleccionado la alimentación con linaza por ser aquella fuente oleaginosa que presenta la mayor proporción de LNA, favoreciendo su deposición en la carne (ver resultados en Cap. I y II), y se escogió la semilla extrusionada como forma de suministro, por ser la opción más cómoda y económica. Además, se han realizado cambios en la dieta base, ya que, por un lado, i) se ha aportado un extracto etéreo superior al empleado previamente (8 frente a 6%MS), pues un incremento en el nivel de grasa

incluida en la dieta, además de incrementar su nivel de insaturación, puede reducir la lipólisis (Beam *et al.*, 2000), y por otro, ii) se ha empleado grano de maíz en sustitución de la cebada. Sin embargo, durante el periodo de realización de los ensayos de la presente tesis, no se dispuso de un sistema de alimentación individual controlada, mediante el cual se pueda establecer una ingesta diaria de concentrado fija y previa al consumo del forraje, como se concluyó en el capítulo anterior. A mayores, en este ensayo, quisimos evaluar el efecto sexo y su interacción con la suplementación con linaza, pues el diferente grado de deposición de GIM entre animales de distinto género, daría como resultado, acumulaciones variables de los AG deseados.

6.2. MATERIAL Y MÉTODOS

6.2.1. Diseño experimental y manejo animal

El presente experimento se desarrolló en el Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (CIAM, A Coruña, España) siguiendo rigurosamente la normativa europea en relación con el bienestar de los animales de experimentación (DOUE, 2010). Se emplearon 48 terneros de raza RG, 24 machos y 24 hembras seleccionados del rebaño experimental del CIAM. Los nacimientos fueron agrupados en el otoño, de modo que los terneros permanecieron 1con sus madres siendo amamantados libremente y manejados en pastoreo rotacional en avance hasta los 7 meses de edad (Figura 6.1); divididos en subparcelas, sembradas previamente siguiendo las prácticas agronómicas habituales en el CIAM (Met. Gral., 3.2.1).

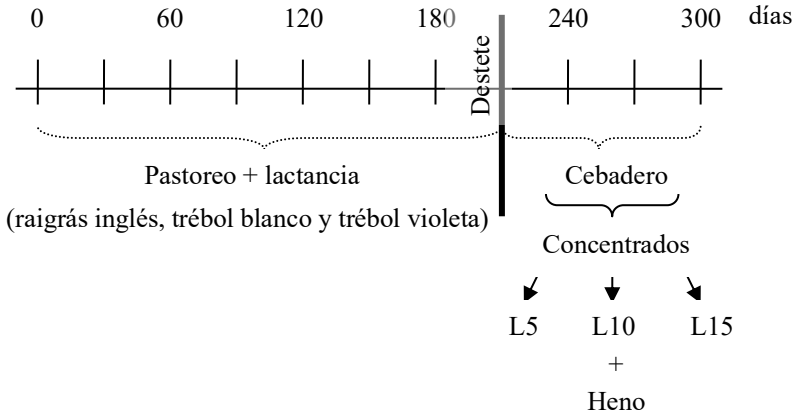


Figura 6.1. Diagrama del diseño y duración del experimento con terneros de raza Rubia Gallega (macho y hembra) alimentados con un concentrado enriquecido con linaza a diferentes niveles sobre MS: 5 (L5), 10 (L10) y 15% (L15)

Después del destete, al alcanzar los 7 meses de edad, los animes fueron bloqueados por su peso (PN) y fecha al nacimiento, clasificándolos aleatoriamente en tres grupos (16 animales/grupo): L5, L10 y L15, según las diferentes dietas ofrecidas hasta su sacrificio (300 d) (Figura 6.1). Cada grupo de terneros se dividió en dos lotes balanceados, según el sexo, y se estabularon en el cebadero durante los 3 meses previos a su sacrificio (8 animales/lote). Los cebaderos estaban constituidos por suelos duros, camas de paja, buena ventilación y espacio suficiente para que todos los animales tuviesen acceso libre a los alimentos y al agua fresca, al mismo tiempo. Las dietas experimentales ofrecidas diariamente *ad libitum* durante los 90 días consistieron en heno más un concentrado suplementado con linaza extrusionada a tres niveles diferentes: L5 (50g/kg MS), L10 (100g/kg MS) y L15 (150 g/kg MS). Las ingestas de concentrado y heno se estimaron como la diferencia entre las cantidades ofrecidas y rechazadas diariamente por cada grupo experimental. Los animales se pesaron quincenalmente para calcular la ganancia media diaria durante los períodos de pastoreo (GMD_P) y cebadero (GMD_C).

6.2.2. Concentrados

Los concentrados empleados en este experimento fueron proporcionados por Progando, S.L. (A Coruña, España). El producto comercial *Extrulin* 70 (E_{70}), que contenía el 70% de semilla extrusionada de lino, fue añadido a tres niveles en las dietas: L5 (7% (E_{70}), L10 (15% E_{70}) y L15 (21% E_{70}). El producto E_{70} tenía un contenido graso del 28%, por lo que aportó 20g/kg, 40g/kg y 65g/kg (L5, L10 y L15, respectivamente) de grasa a los concentrados de cada dieta hasta obtener un contenido final de 80g/kg.

6.2.3. Análisis de alimentos

La composición química de las muestras de concentrado enriquecido, heno y hierba fresca, tomadas quincenalmente, fue analizada por el Laboratorio Agrario y Fitopatológico de Galicia. Los contenidos de materia seca y orgánica se obtuvieron mediante gravimetría, y se empleó la normativa ISO correspondiente a alimentos animales para las determinaciones de: calcio, fósforo total, proteína bruta (PB), fibra bruta (FB), grasa, cenizas, fibra ácido detergente (FAD), lignina ácido detergente (LAD) y fibra neutro detergente (FND) (Met. Gral., 3.4.1 y 3.4.2). La energía metabolizable y

energías netas fueron calculadas como indica el NRC (2000).

El perfil de ácidos grasos de los alimentos ofertados a los terneros se determinó sobre muestras secas, molidas (1mm), envasadas al vacío y congeladas (-20ªC) hasta el día de su análisis (Met. Gral., 3.4.3.1). Los lípidos totales se extrajeron transformando los AG en sus ésteres metílicos (AGME) mediante una sola etapa, siguiendo la metodología propuesta por Sukhija y Palmquist (1988) y modificada por Alves *et al.* (2008) (Met. Gral., 3.4.3.2.2), para realizar la posterior separación, identificación y cuantificación de los AGME mediante cromatografía de gases (CG), bajo las condiciones detalladas en la sección 3.4.3.3 de Metodología General.

6.2.4. Sacrificio y toma de muestra

Los terneros fueron trasladados a un matadero comercial a 4 km del CIAM y los procedimientos de sacrificio de los animales y toma de muestra del *longissimus thoracis* (LT) y de la grasa subcutánea (GSC), se llevaron a cabo bajo las condiciones en la sección 3.5 de Metodología General. Se registraron los siguientes parámetros: el peso vivo del animal (PV), el peso de la canal en caliente (PCC), el rendimiento canal y su clasificación SEUROP para la conformación (CS) y cobertura de grasa (FC) (DOUE, 2006).

6.2.5. Análisis fisicoquímico del *longissimus thoracis*

Los atributos de calidad organoléptica de la carne se midieron según se describe en la sección correspondiente de Metodología General y consistió en la evaluación de los parámetros fisicoquímicos (Met. Gral., 3.6.1) y de textura (Met. Gral., 3.6.2) del LT.

La determinación de la composición química (humedad, cenizas, grasa y proteína) de la carne se realizó mediante NIRS siguiendo la metodología indicada por Moreno *et al.* (2007a). Las mediciones del $pH_{24h,pm}$, los parámetros instrumentales de color (luminosidad, índice de rojo, índice de amarillo, croma y tonalidad), los pigmentos hemínicos (mioglobina y hematina), la capacidad de retención de agua (CRA), medida mediante las pérdidas por presión (PP), por goteo (PG) y por cocción (PC), y los análisis de textura mediante el test Warner-Bratzler (WB) y el perfil de textura (TPA), se realizaron de acuerdo con la metodología descrita por Franco *et al.* (2009).

6.2.6. Análisis de ácidos grasos: *longissimus thoracis*

Los métodos de extracción, derivatización, purificación y análisis cromatográfico de los AG del LT se describen en la sección correspondiente de metodología general. La grasa intramuscular (GIM) del LT se extrajo con una mezcla 2:1 chloroformo:metanol, siguiendo el método de Folch *et al.*(1975) (Met. Gral., 3.7.1.2). Los ácidos grasos metilados (AGME) se obtuvieron mediante reacciones separadas catalizadas por un ácido (MeOHCl, 3N) (Met Gral., 3.7.2.2.1) y por una base ($NaOCH_3$, 0,5N) (Met. Gral., 3.7.2.2.2), de acuerdo con la metodología indicada por Kramer *et al.* (1997; 2008). La metilación básica separada se llevó a cabo para evitar/corregir la isomerización del ácido linoleico conjugado (CLA) (Cruz-Hernández *et al.,* 2004; De la Fuente *et al.,* 2006).

Los AGME se purificaron (Met. Gral., 3.7.3) previamente a su análisis cromatográfico, aquellos procedentes de la metilación catalizada por ácido fueron analizados mediante la combinación de dos programas de temperatura por GC siguiendo las condiciones descritas para la separación de los isómeros *t*18:1 (Met Gral., 3.7.4.2.1), mientras que el perfil isomérico del CLA se determinó en los AGME de la metilación básica mediante la combinación de CG y HPLC (Met. Gral., 3.7.4.2.2). La identificación y cuantificación individual de los AGME se realizó mediante rectas de calibrado empleando el área de pico y utilizando el método de patrón interno (Met. Gral., 3.7.5). Los resultados de AG se expresaron como porcentaje del total de AG identificados y, en algún caso específico, se han calculado las cantidades acumuladas en el LT (mg/100g músculo) (Tabla 6.10).

6.2.7. Análisis estadístico

Los datos se analizaron usando el procedimiento MIXED de SAS (versión 9.2, SAS, 2009) y el modelo incluyó los efectos fijos de dieta, sexo y su interacción. Como los animales fueron alimentados en grupo, la ingesta individual de alimento no se analizó estadísticamente. El resto de los parámetros evaluados (características de producción animal, calidad de la canal y la carne, y AG) se analizaron considerando el animal individual como la unidad experimental. El método de Kenward-Rodgers se usó para calcular los grados de libertad del denominador, y las medias se separaron usando la opción PDIFF de SAS. Las diferencias se consideraron significativas para $P<0,05$.

6.3. RESULTADOS

6.3.1. Composición de los alimentos

Los ingredientes de los concentrados ofrecidos en las tres dietas experimentales se resumen en la Tabla 6.1, mientras que su composición nutricional y perfil lipídico se muestran en la Tabla 6.2, en la siguiente página.

Tabla 6.1. Ingredientes (%MS) de los concentrados suplementados con niveles crecientes de linaza extrusionada (5, 10 y 15%MS) ofrecidos a los terneros de raza Rubia Gallega

	Concentrado		
	L5	L10	L15
E_{70} [1]	7,49	15,03	22,22
Cascarilla de soja	35,63	35,64	39,39
Harina de maíz	32,45	28,62	14,95
Harina de soja (44%)	17,86	14,77	10,35
Aceite crudo de soja	2,86	1,20	-
Harina de cebada	-	-	9,09
Carbonato cálcico	1,11	1,16	1,02
Fosfato bicálcico	1,00	1,01	1,04
Fungicida/bactericida	0,80	0,80	0,80
Núcleo vitamínico[2]	0,37	0,32	0,30

[1] *Extrulin 70*, producto comercial 100% extrusionado que incluye el 70% de granos de lino (Tradilin®), 33% de otros cereales y posee un 28% de contenido graso.
[2] Por kg de dieta: A (10000 UI), D_3 (2000 UI) y E (10 mg), y compuesto del 94% de minerales: Na como cloruro de sodio; Zn como sulfato de zinc; Mn como sulfato de manganeso; Co como sulfato de cobalto. Extra de Cu como sulfato de cobre (II) pentahidratado (17 ppm).

Los concentrados fueron formulados para ser isoproteicos e isoenergéticos, resultando en una próxima composición nutricional y en un contenido similar de PB (16%MS) y EE (8%MS), aportando similar energía metabolizable durante el período de cebo.

Durante la fase de pastoreo, los lípidos de la hierba fresca proporcionaron los mayores niveles de LNA y los más bajos de LA comparado con cualquier otra fuente de la dieta. Durante el período de acabado, a pesar de haber incluido linaza en las tres dietas, el LNA sólo resultó ser el AGPI mayoritario en la dieta L15, mientras que en las dietas L5 y L10 lo fue el LA; relacionado con la inclusión de aceite de soja (rico en LA) en estas dietas para igualar el aporte calórico. El principal AGS en todas las dietas fue el C16:0.

Tabla 6.2. Composición nutricional (% MS) y perfil lipídico (% de los AG totales) de los concentrados suplementados con niveles crecientes de linaza extrusionada y de las fuentes de forraje ofrecidas a los terneros de raza Rubia Gallega

	Concentrado			Heno	Pasto fresco
	L5	L10	L15		
Composición química (% MS)					
MS (g/100g materia fresca)	88,5	88,4	89,3	89,19	14,75
MO	-	-	-	94,61	89,85
PB	15,55	15,63	15,68	6,52	15,75
EE	8,00	8,09	8,42	nd	nd
FB	14,53	15,24	17,28	35,65	24,45
FND	-	-	-	70,75	45,73
FAD	-	-	-	40,67	24,40
LAD	0,91	0,98	1,76	-	-
Ca	1,49	1,11	1,56	-	-
P_{TOTAL}	0,55	0,48	0,62	-	-
Cenizas	5,89	5,98	6,20	-	-
EM (MJ/kg MS)	10,94	10,80	10,38	7,06	9,81
ENm (MJ/kg MS)	7,14	7,02	6,65	3,55	6,15
ENg (MJ/kg MS)	4,57	4,46	4,13	1,29	3,68
Composición en ácidos grasos (% del total de AG)					
16:0	16,34	11,45	12,44	42,42	14,91
18:0	4,92	3,94	4,63	5,79	1,62
*c*9-18:1	26,10	22,52	24,04	16,58	3,31
18:2*n-6* (LA)	38,92	37,14	25,75	20,22	12,93
18:3*n-3* (LNA)	11,88	26,51	32,10	11,55	58,49
AGS	22,50	15,95	17,72	-	-
AGMI	26,43	22,75	24,30	-	-
AGPI	50,81	61,28	57,85	-	-
AGPI/AGS	2,48	3,84	3,56	-	-
n-6/*n-3*	3,41	1,75	0,82	1,7	0,2

MS=materia seca; MO=materia orgánica; PB=proteína bruta; EE=extracto etéreo; FB=fibra bruta; FND= fibra neutro detergente; FAD= fibra ácido detergente; LAD= lignina ácido detergente; Ca=Calcio; P_{TOTAL}=fósforo total; EM=energía metabolizable; ENm= energía neta de mantenimiento; ENg= energía neta ganancia.
LA: ácido linoleico; LNA: ácido α-linolénico; ∑AGS (ácidos grasos saturados)= 14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:0, 20:0, 22:0 y 24:0; ∑AGMI (ácidos grasos monoinsaturados)= *c*9-16:1, *c*9-17:1, *c*9-18:1 y *c*11-20:1; ∑AGPI (ácidos grasos poliinsaturados)= 18:2*n-6*, 18:3*n-3*, 20:2*n-2* y 20:3*n-3*; *n-6*/*n-3*= 18:2*n-6*/18:3*n-3*.

6.3.2. Características de producción animal y calidad de la canal

Los valores medios para cada dieta y sexo, de los parámetros medidos para evaluar el efecto del nivel de linaza añadido a la dieta, sobre las características de producción animal y calidad de la canal, se muestran en la Tabla 6.3, en la página siguiente. Los animales tuvieron libre acceso al forraje y al concentrado, consumiendo de media una proporción de 22:78 (en MS), considerándose como tal, dietas altas en concentrado y destacando que las hembras mostraron preferencia por el forraje respecto a los machos, consumiendo en total ~1 kg de MS menos al día.

El nivel de linaza no afectó significativamente a ningún parámetro medido de las características de producción animal o calidad de la canal en el presente experimento ($P>0,05$).

Contrariamente, las características de producción animal y calidad de la canal se han visto significativamente afectadas por el efecto sexo, pero sin observar ninguna interacción con la dieta. Los machos mostraron ganancias medias diarias durante el período de cebadero y en todo el experimento, significativamente más elevadas que las hembras (GMD_C: 1,97 vs. 1,38; GMD_T: 1,64 vs. 1,23 kg/animal-d, respectivamente, $P<0,0001$), alcanzando así los mayores PV (452,33 vs. 355,75 kg, $P<0,0001$) y PCC (248,44 vs. 186,96 kg $P<0,0001$). Las canales de los terneros macho respecto a las de las hembras, obtuvieron un rendimiento canal (53,79 vs. 51,45%, $P<0,05$) y un peso del LT (1,7 vs. 1,3 Kg, $P<0,001$) significativamente más elevados.

Tabla 6.3. Efecto del nivel de linaza suplementado en el concentrado sobre las características de producción animal y calidad de la canal de terneros de raza Rubia Gallega

	Concentrado					Sexo				C*S
	L5	L10	L15	SEM	P_{value}	F	M	SEM	P_{value}	P_{value}
Características de producción animal										
PN (kg)	44,50	45,09	44,44	1,598	0,951	41,83[b]	47,52[a]	1,304	0,004	0,511
Período de cebo (d)	92,69	90,87	90,81	1,019	0,350	90,87	92,04	0,832	0,333	0,802
IC (kg MS/animal-d)	7,50	7,67	7,93	-	-	6,82	8,57	-	-	-
IH (kg MS/animal-d)	1,79	2,10	2,33	-	-	2,43	1,72	-	-	-
GMD_P (kg/animal-d)	1,32	1,11	1,16	0,134	0,535	1,08	1,31	0,110	0,163	0,144
GMD_C (kg/animal-d)	1,67	1,71	1,64	0,058	0,724	1,38[b]	1,97[a]	0,048	<,0001	0,811
GMD_T (kg/animal/d)	1,49	1,41	1,40	0,071	0,601	1,23[b]	1,64[a]	0,058	<,0001	0,108
Edad sacrificio (d)	302,00	300,94	301,34	1,272	0,838	301,25	301,60	1,039	0,814	0,594
PV (kg)	403,81	403,69	404,63	9,269	0,997	355,75[b]	452,33[a]	7,569	<,0001	0,328
Calidad de la canal										
PCC (kg)	218,13	221,13	213,85	6,372	0,730	186,96[b]	248,44[a]	5,203	<,0001	0,700
Rendimiento canal (%)	52,75	53,46	51,64	0,768	0,265	51,45[b]	53,79[a]	0,627	0,013	0,723
SEUROP-CS	8,37	8,75	8,19	0,278	0,364	8,50	8,37	0,227	0,702	0,865
SEUROP-FC	7,44	7,19	7,56	0,348	0,748	7,17	7,62	0,284	0,267	0,584
Peso LT (g)	1454,44	1534,00	1447,54	59,871	0,535	1262,92[b]	1694,40[a]	48,885	<,0001	0,796

L5: concentrado con el 5% de lino; L10: concentrado con el 10% de lino; L15: concentrado con el 15% de lino. SEM= error estándar de la media.
[a.b.c] Las medias dentro de la misma línea con diferentes superíndices difieren significativamente ($P \leq 0,05$).
PN: peso al nacimiento, IC: Ingesta de concentrado; IH: Ingesta de heno; GMD_P: ganancia media diaria para el periodo de pastoreo; GMD_C: ganancia media diaria para el periodo en cebadero; GMD_{TOTAL}: ganancia media diaria total; PV: peso vivo al sacrificio; PCC: peso canal en caliente.
[1]Rendimiento canal, calculado como RC = PCF/(PV x100), siendo PCF= peso canal en frío (PCF=PCCalientex0,98).
SEUROP-CS (escala conformación de canal)= 15 para E^+ hasta 1 para P^-; 6=O^+; 8=R
SEUROP-FC (escala cobertura de grasa de la canal)= 1-15; 7= 3^-; 8=3.

6.3.3. Características fisicoquímicas del *Longissimus thoracis*: calidad organoléptica

Los resultados de las determinaciones de composición química, $pH_{24h,pm}$, color y CRA del LT, así como el color de la GSC para cada dieta y sexo, se muestran en la Tabla 6.4 (pág. siguiente). El nivel de linaza incluido en las dietas no afectó significativamente a la composición química del LT, a su $pH_{24h,pm}$ ni a su CRA, así como tampoco influyó en el contenido de pigmentos hemínicos ni en el color de la GSC (P>0,05). Sin embargo, el color instrumental del LT resultó ligeramente afectado por el nivel de linaza en cuanto a los atributos de índice de rojo, índice de amarillo y croma, mostrando la dieta L5 los menores valores (P<0,05) respecto a L10, pero ninguno de ellos estadísticamente diferente de los obtenidos con la dieta L15.

En cambio, como era de esperar, el sexo sí afectó a casi todas las características fisicoquímicas; así, en cuanto a la composición química, la carne de las hembras resultó tener menos contenido en humedad (76,16 vs. 76,87 %, P<0,001) y cenizas (1,14 vs. 1,16 %, P<0,05), y más contenido en grasa (2,62 vs. 1,78; P<0,01). De los parámetros de color medidos instrumentalmente en el espacio CIE L*a*b*, se observó que la carne de las hembras mostró valores más bajos de luminosidad (40,16 vs. 42,20, P<0,05) e índice de amarillo (6,99 vs. 7,88, P=0,049), presentando, sin embargo, en la determinación química de pigmentos, un mayor contenido de mioglobina (3,42 vs. 3,01, P<0,01) y hematina (132,96 vs. 117,02, P<0,01). En cuanto a la CRA, sólo las PG fueron significativamente mayores para la carne de las hembras (3,58 vs. 3,09, P=0,01). El color de la GSC también fue significativamente afectado por el sexo, mostrando las hembras menor luminosidad (67,03 vs. 71,14, P<0,0001) y tono (48,29 vs. 51,92, P<0,05), pero mayor índice de rojo (9,09 vs. 6,91, P<0,01) y croma (13,52 vs. 11,27, P<0,05).

Tabla 6.4. Efecto del nivel de linaza suplementado en el concentrado sobre las características fisicoquímicas del *longissimus thoracis* y sobre el color de la grasa subcutánea de terneros de raza Rubia Gallega

	Concentrado					Sexo				C*S
	L5	L10	L15	SEM	P_{value}	H	M	SEM	P_{value}	P_{value}
Composición química (%)										
Humedad	76,59	76,56	76,40	0,168	0,703	76,16^{b}	76,87^{a}	0,137	<0,001	0,0195
Cenizas	1,15	1,15	1,15	0,007	0,992	1,14^{b}	1,16^{a}	0,006	0,015	0,5948
Grasa	2,30	2,18	2,13	0,233	0,871	2,62^{a}	1,78^{b}	0,190	0,004	0,3851
Proteína	21,89	22,07	22,06	0,160	0,683	22,02	21,99	0,131	0,861	0,7928
$pH_{24h,\ pm}$	5,56	5,55	5,57	0,017	0,712	5,54	5,58	0,014	0,057	0,2292
Color del LT										
Luminosidad (L)	40,59	41,66	41,29	0,712	0,564	40,16^{b}	42,20^{a}	0,581	0,018	0,5083
Índice de rojo (a*)	15,56^{b}	16,84^{a}	15,89^{ab}	0,366	0,048	15,82	16,38	0,299	0,196	0,4807
Índice de amarillo (b*)	6,88^{b}	8,15^{a}	7,26^{ab}	0,374	0,049	6,99^{b}	7,88^{a}	0,305	0,049	0,6998
Croma ($\sqrt{(a^{*2} + b^{*2})}$)	17,03^{b}	18,73^{a}	17,51^{ab}	0,469	0,039	17,31	18,20	0,383	0,110	0,5758
Tono ($\tan^{-1}(b^*/a^*)$)	23,72	25,61	24,24	0,744	0,191	23,72	25,33	0,608	0,072	0,6143
Mioglobina (mg/g músculo)	3,25	3,15	3,26	0,120	0,786	3,42^{a}	3,01^{b}	0,098	0,006	0,6411
Hematina (µg/g músculo)	126,19	122,32	126,47	4,672	0,786	132,96^{a}	117,02^{b}	3,815	0,006	0,6411
Capacidad de retención de agua (%)										
Pérdidas por presión (PP)	26,67	27,50	26,49	0,636	0,498	26,68	27,09	0,519	0,575	0,8915
Pérdidas por goteo (PG)	3,31	3,47	3,22	0,157	0,549	3,58^{a}	3,09^{b}	0,128	0,010	0,8495
Pérdidas por cocción (PC)	23,24	24,35	23,28	0,550	0,286	23,35	23,89	0,449	0,406	0,7124
Color de la GSC										
Luminosidad (L)	69,44	69,21	68,61	0,771	0,747	67,03^{b}	71,14^{a}	0,629	<,0001	0,4594
Índice de rojo (a*)	8,18	8,35	7,47	0,664	0,631	9,09^{a}	6,91^{b}	0,542	0,008	0,9259
Índice de amarillo (b*)	9,06	9,88	9,16	0,502	0,461	9,91	8,83	0,410	0,072	0,1774
Croma ($\sqrt{(a^{*2} + b^{*2})}$)	12,30	13,02	11,86	0,770	0,575	13,52^{a}	11,27^{b}	0,629	0,017	0,7128
Tono ($\tan^{-1}(b^*/a^*)$)	48,61	50,63	51,08	1,452	0,453	48,29^{b}	51,92^{a}	1,186	0,038	0,0307

L5: concentrado con el 5% de lino; L10: concentrado con el 10% de lino; L15: concentrado con el 15% de lino

$^{a.b.c}$ Las medias dentro de la misma línea con diferentes superíndices difieren significativamente (P≤0,05). SEM= error estándar de la media.

Tabla 6.5. Efecto del nivel de linaza suplementado en el concentrado sobre los parámetros de textura del *longissimus thoracis* de terneros de raza Rubia Gallega

	Concentrado					Sexo				C*S
	L5	L10	L15	SEM	P_{value}	F	M	SEM	P_{value}	P_{value}
Test fuerza de corte WB										
Fuerza máxima de corte (N)	43,19	46,08	43,74	12,400	0,788	40,64[b]	48,22[a]	11,224	0,039	0,3955
Test TPA										
Elasticidad	0,47	0,48	0,47	0,007	0,728	0,47	0,48	0,006	0,215	0,8148
Gomosidad (N)	83,67	84,08	79,19	11,124	0,419	78,75[b]	86,17[a]	10,406	0,027	0,8784
Cohesividad	0,55	0,56	0,54	0,006	0,476	0,55	0,55	0,005	0,789	0,9638
Masticabilidad (N-cm)	39,52	40,17	37,70	6,276	0,552	37,12[b]	41,28[a]	5,528	0,029	0,8789

L5: concentrado con el 5% de lino; L10: concentrado con el 10% de lino; L15: concentrado con el 15% de lino.
[a.b.c] Las medias dentro de la misma línea con diferentes superíndices difieren significativamente (P≤0,05). SEM= error estándar de la media.
WB: Warner-Bratzler; TPA: análisis del perfil de textura.

En cuanto al análisis de textura, los valores medios de los parámetros medidos por los test WB y TPA obtenidos para cada dieta y sexo se muestran en la Tabla 6.5 (pág. anterior). Ninguno de estos datos se vio afectado por el nivel de linaza añadido a los concentrados, sólo el sexo tuvo un ligero efecto en los parámetros de textura. Así, la carne de las hembras mostró una mayor terneza objetiva, medida por la fuerza máxima de corte WB (40,64 vs 48,22 N, P<0,05) y los valores más bajos de gomosidad (78,75 vs. 86,17 N, P<0,05) y masticabilidad (37,12 vs. 41,28 N-cm, P<0,05).

6.3.4. Composición de ácidos grasos del *longissimus thoracis*: calidad lipídica

6.3.4.1. Contenido total de grasa y Ácidos Grasos Poliinsaturados (AGPI)

En la Tabla 6.6 se muestran los valores medios obtenidos, por efecto de la dieta y el sexo sobre el contenido total de grasa intramuscular (GIM) y AG, así como del perfil de AGPI. El contenido en lípidos y $AG_{TOTALES}$ fue estadísticamente similar entre las dietas con diferente nivel de linaza y entre animales de distinto sexo (P>0,05).

En cuanto a la composición de ácidos grasos, el incremento del nivel de linaza en los concentrados no tuvo efecto sobre la deposición de ΣAGPI ni de Σ*n-6* o *n-6* individuales. Sin embargo, sí aumentó significativamente la proporción de LNA (P<0,01) en las dietas L10 y L15 (2,73 ± 0,68%) respecto a la dieta L5 (1,94%), y la proporción de Σ*n-3* (P<0,05) en la dieta L15 (4,88%) respecto a la dieta L5 (3,67%), mostrando un valor intermedio la dieta L10 (4,55%).

En cuanto al sexo, en el LT de las hembras se observó un porcentaje significativamente menor de ΣAGPI (15,57 vs. 18,21; P<0,05), relacionado con su menor proporción de los AG cabeza de serie de las familias *n-6* y *n-3*, es decir, del AGPI mayoritario, el LA (7,14 vs. 9,41, P<0,01), y del LNA (2,22 vs. 2,77, P<0,05), respectivamente. A pesar de ser un AG minoritario, cabe destacar que el DHA, uno de los *n-3*AGPI de cadena larga (CL, *n-3*AGPICL), se encuentra presente en mayor proporción en el LT de las hembras que en el de los machos (0,14 vs. 0,11%, P<0,01).

Tabla 6.6. Efecto del nivel de linaza suplementado en el concentrado sobre la composición de ácidos grasos poliinsaturados (% del total de ácidos grasos) del *longissimus thoracis* de terneros de raza Rubia Gallega

	Concentrado					Sexo				C*S
	L5	L10	L15	SEM	P_{value}	H	M	SEM	P_{value}	P_{value}
Lípidos (g/100g tejido)	2,20	2,14	2,13	0,176	0,958	2,27	2,04	0,144	0,277	0,1876
AG$_{TOTALES}$ (g/100g tejido)	1,51	1,44	1,44	0,129	0,917	1,56	1,37	0,105	0,200	0,2743
Ácidos Grasos Poliinsaturados (AGPI)										
18:2*n-6* (LA)	8,81	8,07	7,96	1,537	0,589	7,14^{b}	9,41^{a}	1,646	0,003	0,602
20:3*n-6*	0,31	0,30	0,33	0,068	0,753	0,35^{a}	0,28^{b}	0,073	0,043	0,742
20:4*n-6* (ARA)	1,44	1,42	1,46	0,219	0,962	1,47	1,41	0,229	0,642	0,493
22:4*n-6*	0,12	0,11	0,11	0,012	0,161	0,11	0,12	0,012	0,904	0,878
Σ*n-6*	10,84	10,03	10,03	1,735	0,686	9,22^{b}	11,37^{a}	1,848	0,016	0,585
18:3*n-3* (LNA)	1,94^{b}	2,64^{a}	2,90^{a}	0,468	0,003	2,22^{b}	2,77^{a}	0,501	0,014	0,487
20:5*n-3* (EPA)	0,56	0,64	0,68	0,166	0,413	0,66	0,59	0,179	0,388	0,416
22:5*n-3* (DPA)	0,96	1,03	1,04	0,089	0,781	1,04	0,98	0,072	0,563	0,193
22:6*n-3* (DHA)	0,11	0,12	0,14	0,016	0,145	0,14^{a}	0,11^{b}	0,017	0,002	0,295
Σ*n-3*	3,67^{b}	4,55^{ab}	4,88^{a}	0,791	0,042	4,17	4,57	0,845	0,297	0,357
*n-3*AGPICL (EPA+DHA)	0,64	0,74	0,80			0,77	0,67			
*n-3*AGPICL+DPA	1,60	1,77	1,84			1,81	1,66			
ΣAGPI	16,48	16,93	17,26	2,293	0,871	15,57^{b}	18,21^{a}	2,434	0,030	0,486

L5: concentrado con el 5% de lino; L10: concentrado con el 10% de lino; L15: concentrado con el 15% de lino.
$^{a.b.c}$ Las medias dentro de la misma línea con diferentes superíndices difieren significativamente (P≤0,05). SEM= error estándar de la media.
∑*n-6*= 18:2*n-6*, 18:3*n-6*, 20:2*n-6*, 20:3*n-6*, 20:4*n-6* y 22:4*n-6*; ∑*n-3*= 18:3*n-3*, 20:3*n-3*, 20:5*n-3*, 22:5*n-3* y 22:6*n-3*; *n-3*AGPICL= EPA+DHA; ∑AGPI= ∑*n-6*, ∑*n-3*, ΣCLA, ΣnCLA y RLA.

6.3.4.2. Ácido linoleico conjugado (CLA), ácido linolénico conjugado (CLNA) y dienos atípicos no conjugados del ácido linoleico (nCLA)

En la Tabla 6.7 se muestran los valores medios por efecto de la dieta y el sexo de los isómeros del CLA, de dienos atípicos no conjugados del LA (nCLA), y del principal isómero del ácido linolénico conjugado (CLNA), el ácido rumelénico (RLA, *c*9*t*11*c*15-18:3). Como puede observarse, ni el nivel de linaza ni el sexo afectaron significativamente al contenido total de CLA, sin embargo, las hembras mostraron un mayor porcentaje de $CLA_{c9,t11}$ (P=0,009), el isómero mayoritario para todas las dietas. A medida que aumenta el nivel de linaza en la dieta, se observa un incremento significativo en la proporción total de los Σ*t,t*-CLA (P=0,001) y de los ΣnCLA (P=0,002), pero no existen diferencias significativas entre las dietas L10 y L15. Con el aumento del nivel de linaza en la dieta, se observan también mayores porcentajes de los isómeros individuales *t*12,*t*14, *t*11,*t*13 y *t*11,*c*13, pero que, nuevamente, sus valores resultan similares entre las dietas L10 y L15 (P<0,01). Contrariamente, el porcentaje del isómero *t,c*-CLA mayoritario, el isómero *t*7*c*9, disminuye significativamente (P=0,003) al pasar de las dietas L5 y L10 (0,082%) a la dieta L15 (0,065%), a la vez que la proporción del segundo isómero más abundante, el *t*10*c*12, disminuyó progresivamente con el nivel de linaza (P=0,001).

Dentro de los nCLA, el isómero mayoritario, el *t*11,*c*15 aumentó su proporción al pasar de la dieta L5 (0,38%) a las dietas L10 o L15 (0,56%), mientras que el segundo isómero nCLA más abundante, el grupo *c*9*t*13/*t*8*c*12 permaneció inalterado por el efecto de la dieta. En cuanto al sexo, los machos mostraron un mayor porcentaje de nCLA (P=0,022) debido al significativo aumento en la proporción del isómero principal *t*11,*c*15 (P<0,01).

El nivel de linaza añadido a las dietas no tuvo efecto sobre el RLA (*c*9*t*11*c*15-18:3), sólo se observó una tendencia (P=0,069) por una mayor proporción en las dietas L10 y L15. El sexo, en cambio, afectó ligeramente a la proporción de RLA, mostrando las hembras porcentajes más elevados (P<0,05).

Tabla 6.7. Efecto del nivel de linaza suplementado en el concentrado sobre la composición de isómeros del ácido linoleico conjugado, dienos no conjugados y del ácido linolénico conjugado (% del total de ácidos grasos) del *longissimus thoracis* de terneros de raza Rubia Gallega

	Concentrado					Sexo				C*S
	L5	L10	L15	SEM	P_{value}	H	M	SEM	P_{value}	P_{value}
*t*8,*t*10-18:2	0,002	0,002	0,003	0,001	0,292	0,0021	0,0024	0,001	0,476	0,283
*t*10,*t*12-18:2	0,009[b]	0,011[a]	0,011[a]	0,013	0,069	0,011	0,011	0,002	1,000	0,658
*t*11,*t*13-18:2	0,042[b]	0,054[a]	0,059[a]	0,003	0,001	0,050	0,054	0,002	0,297	0,674
*t*12,*t*14-18:2	0,019[b]	0,027[a]	0,026[a]	0,001	0,001	0,0234	0,0240	0,001	0,728	0,146
Σ*t,t*-CLA	0,09[b]	0,11[a]	0,12[a]	0,004	0,001	0,11	0,11	0,004	0,593	0,823
*t*7,*c*9-18:2	0,083[a]	0,081[a]	0,065[b]	0,006	0,003	0,073	0,080	0,007	0,100	0,480
*t*8,*c*10-18:2	0,012	0,011	0,011	0,002	0,736	0,013[a]	0,010[b]	0,002	0,0187	0,689
*t*9,*c*11-18:2	0,029	0,027	0,026	0,002	0,589	0,028	0,027	0,001	0,556	0,345
*t*10,*c*12-18:2	0,035[a]	0,027[b]	0,020[c]	0,004	0,001	0,023[b]	0,032[a]	0,004	0,001	0,874
*t*12,*c*14-18:2	0,016	0,027	0,020	0,004	0,122	0,015[b]	0,026[a]	0,003	0,021	0,089
*t*11,*c*13-18:2	0,015[b]	0,025[a]	0,024[a]	0,006	0,020	0,024	0,019	0,006	0,162	0,594
*c*9,*t*11-18:2 (RA)	0,37	0,41	0,37	0,060	0,500	0,42[a]	0,34[b]	0,064	0,009	0,926
*c*13,*t*15-18:2	0,0034[b]	0,0073[a]	0,0036[b]	0,0007	0,0003	0,0039[b]	0,0056[a]	0,00056	0,0338	0,058
c12,t14-18:2	0,0016b	0,0034a	0,0017b	0,0004	0,0043	0,0019	0,0025	0,00032	0,2136	0,077
*c*11,*t*13-18:2	0,0076[b]	0,0093[a]	0,0078[b]	0,0004	0,0165	0,0085	0,0079	0,00035	0,2472	0,966
Σ*t,c/c,t*-CLA	0,58	0,64	0,56	0,029	0,170	0,62	0,56	0,024	0,059	0,618
ΣCLA	0,68	0,75	0,68	0,030	0,151	0,73	0,67	0,024	0,076	0,668
*c*9,*t*13-/*t*8,*c*12-18:2	0,33	0,38	0,38	0,043	0,107	0,36	0,37	0,046	0,368	0,652
*t*8,*c*13-18:2	0,13	0,14	0,15	0,007	0,138	0,14	0,14	0,006	0,578	0,324
*t*11,*c*15-18:2	0,38[b]	0,57[a]	0,56[a]	0,039	0,001	0,43[b]	0,57[a]	0,031	0,005	0,869
*c*9,*c*15-18:2	0,11[b]	0,13[b]	0,17[a]	0,013	0,010	0,13	0,14	0,011	0,432	0,365
ΣnCLA	1,02[b]	1,29[a]	1,36[a]	0,064	0,002	1,13[b]	1,31[a]	0,052	0,022	0,919
*c*9,*t*11,*c*15-18:3 (RLA)	0,09	0,11	0,11	0,013	0,069	0,11[a]	0,09[b]	0,013	0,040	0,652

L5: concentrado con el 5% de lino; L10: concentrado con el 10% de lino; L15: concentrado con el 15% de lino.
[a.b.c] Las medias dentro de la misma línea con diferentes superíndices difieren significativamente (P≤0,05). SEM= error estándar de la media.
Σ*t.t*-CLA: *t*12,*t*14-18:2 + *t*11,*t*13-18:2 + *t*10,*t*12-18:2 + *t*9,*t*11-18:2 + *t*8,*t*10-18:2; Σ*t,c/c,t*-CLA: *t*12,*c*14-18:2 + *c*13,*t*15-18:2 + *c*12,*t*14-18:2 + *t*11,*c*13-18:2 + *c*11,*t*13-18:2 + *t*10,*c*12-18:2 + *t*8,*c*10-18:2 + *t*7,*c*9-18:2 + *c*9,*t*11-18:2 + *t*9,*c*11-18:2; ΣCLA: Σ*t,t*-CLA + Σ*t,c/c,t*-CLA; ∑nCLA: *t*11,*t*15-18:2, *t*9,*t*12-18:2; *c*9,*t*13-/*t*8,*c*12-18:2, *t*8,*c*13-18:2, *c*9,*t*12-18:2/*c*16-18:1, *t*9,*c*12-18:2, *t*11,*c*15-18:2, *c*9,*c*15-18:2, *c*12,*c*15-18:2.

6.3.4.3. Ácidos Grasos *trans* Monoinstarurados (*t*AGMI)

Los valores medios de los *t*AGMI por efecto de la dieta y el sexo se muestran en la Tabla 6.8. El nivel de linaza incluido en la dieta no afectó a la proporción de Σ*t*AGMI ni de Σ*t*18:1 en el LT (P>0,05), pero sí modificó el perfil isomérico de los *t*18:1. La dieta L15 mostró una reducción significativa (P<0,01) en la proporción de los isómeros *t*6-18:1 (0,28%), *t*9-18:1 (0,30%) y *t*10-18:1 (1,45%) comparado con las dietas L5 y L10 (valores promedio de *t*6-18:1= 0,35%, *t*9-18:1= 0,35% y *t*10-18:1= 1,99%, respectivamente). En cambio, las dietas L10 y L15 han mostrado en el LT porcentajes comparables entre sí pero significativamente mayores respecto a la dieta L5, para el grupo de isómeros *t*13-*t*14-18:1 (1,12%, valor promedio para L10 y L15, vs. 0,88 % para L5; P<0,01) y de los individuales *t*15-18:1 (0,52%, valor promedio para L10 y L15, vs. 0,43% para L5, P=0,025) y *t*16-18:1 (0,32%, valor promedio para L10 y L15, vs. 0,26% para L5, P=0,011). La proporción de TVA en el LT no se vio alterada por el nivel de linaza en la dieta, pero sólo destacó como el isómero *t*18:1 predominante en el LT procedente de la dieta L15. Con el aumento del nivel de linaza en la dieta se redujo la relación *t*10-/*t*11-18:1, siendo su valor sólo significativamente diferente entre las dietas L5 (1,50) y L15 (0,98; P<0,01).

Se observó también un claro efecto sexo tanto sobre el porcentaje de los sumatorios Σ*t*AGMI y Σ*t*18:1, como sobre la distribución individual de isoméros *t*18:1. Las hembras mostraron proporciones estadísticamente inferiores de Σ*t*AGMI (5,71 vs. 6,81%, P<0,01) y Σ*t*18:1 (5,59 vs. 6,71%, P<0,01) respecto a los machos, debido a una reducción en la proporción de todos los isómeros individuales *t*18:1, a excepción del TVA que fue comparable entre machos y hembras. La carne de las terneras destacó por mostrar una menor acumulación de *t*10-18:1 (1,51 vs. 2,11%, P=0,001) y por tanto una relación más baja y deseable de *t*10-/*t*11-18:1 (1,03 vs. 1,43, P<0,001).

Tabla 6.8. Efecto del nivel de linaza suplementado en el concentrado sobre la composición de ácidos grasos monoinsaturados (% del total de ácidos grasos) del *longissimus thoracis* de terneros de raza Rubia Gallega

	Concentrado					Sexo				C*S
	L5	L10	L15	SEM	P_{value}	F	M	SEM	P_{value}	P_{value}
Ácidos Grasos Monoinsaturados (AGMI)										
*t*6-18:1	0,35^{a}	0,35^{a}	0,28^{b}	0,031	0,004	0,30^{b}	0,36^{a}	0,033	0,002	0,992
*t*9-18:1	0,36^{a}	0,35^{a}	0,30^{b}	0,024	0,006	0,32^{b}	0,36^{a}	0,026	0,009	0,994
*t*10-18:1	2,10^{a}	1,88^{a}	1,45^{b}	0,293	0,008	1,51^{b}	2,11^{a}	0,310	0,001	0,954
*t*11-18:1 (TVA)	1,47	1,77	1,62	0,110	0,189	1,68	1,56	0,090	0,361	0,610
*t*12-18:1	0,36	0,41	0,41	0,021	0,153	0,36^{b}	0,43^{a}	0,017	0,004	0,964
*t*13+*t*14[1]-18:1	0,88^{b}	1,15^{a}	1,10^{a}	0,058	0,005	0,89^{b}	1,20^{a}	0,047	<,0001	0,613
*t*15-18:1	0,43^{b}	0,53^{a}	0,51^{a}	0,027	0,025	0,44^{b}	0,54^{a}	0,022	0,003	0,476
*t*16-18:1	0,26^{b}	0,32^{a}	0,31^{a}	0,036	0,011	0,27^{b}	0,32^{a}	0,038	0,018	0,526
*t*10-18:1/*t*11-18:1	1,50^{a}	1,21^{ab}	0,98^{b}	0,216	0,005	1,03^{b}	1,43^{a}	0,227	0,002	0,570
Σ*t*AGMI	6,15	6,70	5,93	0,250	0,097	5,71^{b}	6,81^{a}	0,204	0,001	0,870
Σ*t*18:1	6,06	6,59	5,81	0,248	0,091	5,59^{b}	6,71^{a}	0,202	0,000	0,883
*c*9-16:1	1,83	1,68	1,88	0,194	0,308	1,96^{a}	1,63^{b}	0,203	0,004	0,346
*c*9-18:1	27,22	27,25	26,59	2,073	0,821	28,64^{a}	25,40^{b}	2,221	0,001	0,623
*c*11-18:1	1,41	1,39	1,32	0,080	0,300	1,30^{b}	1,45^{a}	0,083	0,003	0,697
Σ*c*AGMI	32,72	32,73	32,20	0,822	0,878	34,23^{a}	30,86^{b}	0,671	0,001	0,458
ΣAGMI	38,87	39,43	38,13	0,727	0,465	39,95^{a}	37,67^{b}	0,593	0,011	0,374

L5: concentrado con el 5% de lino; L10: concentrado con el 10% de lino; L15: concentrado con el 15% de lino.
[a.b.c] Las medias dentro de la misma línea con diferentes superíndices difieren significativamente (P≤0,05). SEM= error estándar de la media.
∑*c*-AGMI= *c*9-14:1, *c*9-15:1, *c*7-16:1, *c*9-16:1, *c*9-17:1, *c*9-18:1, *c*11-18:1, *c*12-18:1, *c*13-18:1, *c*14-18:1, *c*15-18:1, *c*16-18:1, *c*9-20:1, *c*11-20:1 y *c*13-22:1; ∑*t*-18:1= *t*6-18:1, *t*9-18:1, *t*10-18:1, *t*11-18:1, *t*12-18:1, *t*13+*t*14, *t*15-18:1 y *t*16-18:1; ∑*t*-AGMI *t*9-16:1 y ∑*t*-18:1; ∑AGMI= ∑*c*-AGMI + ∑*t*-AGMI.
[1]coeluciónn con *c*6-/*c*8-18:1.

6.3.4.4. Ácidos Grasos *cis* Monoinstarurados (*c*AGMI)

En la Tabla 6.8 se resumen los valores medios de los principales *c*AGMI para cada dieta experimental y sexo. El total de *c*AGMI y el perfil de los isómeros individuales no se han visto significativamente afectados por el nivel de linaza incluido en la dieta (P<0,05). Sin embargo, en cuanto al sexo, se observa que el LT de las hembras mostró un porcentaje estadísticamente superior respecto al de los machos para el total de *c*AGMI (34,23 vs. 30,86%, P=0,001), causado principalmente por la mayor proporción observada también para el isómero *cis* mayoritario, el *c*9-18:1 (oleico, 28,64 vs. 25,40%, P=0,001).

6.3.4.5. Ácidos Grasos Saturados (AGS) y de Cadena Ramificada (AGCR)

Los resultados del perfil de AGS y de AGCR, obtenidos en el LT para cada dieta experimental y sexo, se resumen en la Tabla 6.9.

Ni el nivel de linaza añadido a la dieta ni el sexo han tenido influencia sobre los porcentajes totales de ΣAGS o ΣAGCR, a pesar de que la proporción de 16:0, el AGS mayoritario, se vio ligeramente reducida en el LT de animales alimentados con la dieta L10 (21,62%) respecto al valor medio de las dietas L5 y L15 (22,99 ± 1,88 %). El sexo afectó a la deposición de los AGS individuales, ya que el LT de las hembras mostró mayores niveles de 16:0 y 14:0 que los machos (23,31 vs. 21,75%, P=0,002; y 2,11 vs. 1,79%, P=0,015, respectivamente), mientras que su contenido en 18:0 fue menor (16,79 vs. 18,21%, P<0,01).

Tabla 6.9. Efecto del nivel de linaza suplementado en el concentrado sobre la composición de ácidos grasos saturados y de cadena ramificada (% del total de ácidos grasos) del *longissimus thoracis* de terneros de raza Rubia Gallega

	Concentrado					Sexo				C*S
	L5	L10	L15	SEM	P_{value}	F	M	SEM	P_{value}	P_{value}
Ácidos Grasos Saturados (AGS)										
14:0	1,96	1,78	2,11	0,108	0,107	2,11[a]	1,79[b]	0,088	0,015	0,333
16:0	22,93[a]	21,62[b]	23,05[a]	0,397	0,027	23,31[a]	21,75[b]	0,324	0,002	0,036
18:0	17,55	17,90	17,07	0,928	0,413	16,79[b]	18,21[a]	0,980	0,007	0,500
ΣAGS	43,54	42,45	43,38	1,226	0,384	43,33	42,92	1,288	0,561	0,523
Ácidos Grasos de Cadena Ramificada (AGCR)										
16:0iso	0,19[b]	0,22[b]	0,26[a]	0,010	0,000	0,21	0,23	0,009	0,084	0,998
17:0iso	0,25	0,27	0,27	0,011	0,393	0,26	0,27	0,009	0,443	0,836
17:0ai	0,38	0,40	0,39	0,028	0,716	0,38	0,40	0,029	0,063	0,619
ΣAGCR	1,05	1,11	1,16	0,090	0,133	1,09	1,13	0,096	0,319	0,995
AGPI/AGS	0,38	0,40	0,40	0,058	0,862	0,36	0,42	0,061	0,061	0,524
n-6/n-3	3,01[a]	2,17[b]	2,04[b]	0,114	<0,001	2,25[b]	2,56[a]	0,093	0,025	0,652

L5: concentrado con el 5% de lino; L10: concentrado con el 10% de lino; L15: concentrado con el 15% de lino.
[a.b.c] Las medias dentro de la misma línea con diferentes superíndices difieren significativamente (P≤0,05). SEM= error estándar de la media.
∑AGS= 14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:0, 20:0, 21:0, 22:0, 23:0 y 24:0; ∑AGCR= $15:0_{iso}$, $15:0_{aiso}$, $16:0_{iso}$, $17:0_{iso}$ y $17:0_{aiso}$. AGPI/AGS= ∑AGPI/∑AGS; *n-6/n-3*=∑*n-6*/∑*n-3*

6.3.4.6. Relaciones AGPI/AGS y *n-6*/*n-3*

La relación AGPI/AGS no se vio afectada ni por el nivel de linaza añadido a la dieta ni por el sexo, observando una tendencia hacia un valor más elevado en el LT de los machos (P=0,06, Tabla 6.9), relacionado con su mayor proporción de total de AGPI y la ausencia de efectos de dieta o sexo sobre la proporción total de AGS.

La relación entre las dos familias, *n-6*/*n-3* AGPI (Tabla 6.9), se ha visto alterada por ambos efectos, nivel de linaza añadida y el sexo. El incremento del nivel de linaza en el concentrado provocó una fuerte reducción de la relación *n-6*/*n-3* AGPI en la carne de los animales alimentados con L15 y L10 (media de 2,10 ± 0,45) respecto a aquellos que consumieron la dieta L5 (3,01) (P<0,001). La carne de las hembras también mostró un ligero descenso en la relación *n-6*/*n-3* AGPI respecto a los machos (2,25 vs. 2,56, respectivamente, P<0,05).

6.4. DISCUSIÓN

6.4.1. Características de producción animal y calidad de la canal

Cuando los animales entraron en el periodo de cebo, los tres grupos, L5, L10 y L15, mostraron pesos similares (250 ± 32,64 kg) y estuvieron el mismo tiempo en el cebadero (91 ± 4d). Este hecho, sumado a una ingesta de concentrado similar entre las dietas experimentales, cuyo aporte nutricional, proteico y energético fue comparable, puede justificar la ausencia de efecto del nivel de linaza incluido en la dieta sobre las características de producción animal, con unos valores medios de GMD_C de 1,67 ± 0,37 kg/animal y día. Así, los animales de las tres dietas del presente experimento obtuvieron un PCC similar (217 ± 39,6 kg) y mismo rendimiento de la canal (52,6 ± 3,3 %). De acuerdo con lo observado, existen estudios previos que documentan que la suplementación con linaza no parece alterar el rendimiento animal cuando se incluye a niveles crecientes (0, 3 y 6%MS, Alvarado-Gilis *et al.*, 2015) y similares a los del presente estudio (4, 11 y 18%MS, Mach *et al.*, 2006); o cuando se compara su inclusión frente a otra fuente de grasa, también a niveles parecidos (5-8% MS, Corazzin *et al.*, 2012; 5% Alberti *et al.*, 2014; 10%MS, Alberti *et al.*, 2013) o incluso más elevados (20%MS, Conte *et al.*, 2018). La ausencia de efectos de la inclusión de linaza, o del aumento de su nivel en la dieta sobre las características de la canal, también ha sido

previamente documentada (Alberti *et al.*, 2014; Alvarado-Gilis *et al.*, 2015; Conte *et al.*, 2018;), y podría ser justificada por el hecho de no haber observado diferencias en las características de producción animal y haber evaluado animales de la misma raza y con la misma edad (301±1,0d) y peso (404±53,7kg) al sacrificio.

Junto con la raza, la edad y el peso, el sexo es otro de los principales factores de variación de las características de producción animal y calidad de la canal. Los machos, cuyo peso al nacimiento fue superior al de las hembras, fueron también más pesados al inicio del periodo de cebo (270±41,1 vs. 230±29,2 kg), mostrando mayores GMD y obteniendo canales más pesadas y de mayor rendimiento, lo que concuerda con los resultados observados por Weglarz (2010b) y Mueller *et al.* (2019), quienes evaluaron los efectos del sexo sobre la calidad de la canal y la carne, y con los documentados por Moreno (2004) en terneros RG.

6.4.2. Calidad organoléptica de la carne

El nivel de linaza incorporado en las dietas no modificó ninguna de las características fisicoquímicas que determinan la calidad de la carne, sólo algún parámetro del color del LT resultó ligeramente afectado. La ausencia de efectos de la dieta sobre la composición química y el $pH_{24h,pm}$ es consistente con lo observado por otros autores que incluyeron linaza en la alimentación animal (Corazzin *et al.*, 2012; Albertí *et al.*, 2014, Conte *et al.*, 2018; Renna *et al.*, 2019). Relacionada en nuestro caso, además, con el similar desarrollo muscular y rendimiento de la canal, alcanzado por los animales de las diferentes dietas, ya que, siendo éstas isoproteicas e isocalóricas, los animales obtuvieron la misma GMD y fueron sacrificados a edades y pesos similares. Los valores obtenidos para la composición química y el $pH_{24h,pm}$ estuvieron en el rango esperado para animales jóvenes (<1año) de raza RG, para los que destaca el bajo contenido medio de grasa (González *et al.*, 2014; Bispo *et al.*, 2010a, 2011; Moreno *et al.*, 2006). En cuanto a los parámetros de color de la carne, está ampliamente documentado que la adición de linaza en la dieta no altera el color de la carne cuando se compara con una dieta control (Corazzin *et al*, 2012, Albertí *et al.*, 2014, Conte *et al.*, 2018), ni cuando se añade a diferentes niveles (Mach *et al.*, 2006), por lo que no encontramos explicación a las diferencias observadas en el presente experimento. En todo caso, han sido diferencias de baja magnitud ($P<0,05$) y de tendencia no clara, mostrándose los valores extremos de los

índices de rojo y amarillo y del croma, en las dietas L5 (más bajos) y L10 (más altos)**.** Además, el resto de los parámetros relacionados con el contendido en fibras musculares y la apreciación final del color, como son la composición química, el $pH_{24h,pm}$, los pigmentos hemínicos y la CRA, han permanecido inalterados con el nivel de linaza suministrado en la dieta. El nivel de linaza incluido en la dieta tampoco afectó a la terneza objetiva (es decir, la fuerza de corte de WB) de la carne, lo cual es consistente con los resultados de varios estudios en los que se incluyó linaza a niveles similares (5%MS, Corazzin *et al.*, 2012; 10%MS, Barahona *et al.*, 2016; 15%MS, Mapiye *et al.*, 2013a), ni a los atributos medidos por el TPA.

El sexo, en cambio, sí afectó a las características fisicoquímicas de la carne. Aún teniendo un contenido proteico similar, la carne de las hembras mostró un mayor contenido en grasa y menor en humedad que la carne de los machos, lo que coincide con lo observado en la literatura (Zea *et al.*, 2007; Mueller *et al.*, 2019). En general, la carne de las hembras fue más oscura y la grasa subcutánea menos blanca, lo que también está documentado en la literatura en ensayos tanto en otras razas (Sañudo, 1993) como en la raza RG (Oliete, 2003; Zea *et al.*, 2007). La capacidad de retención de agua se emplea como indicador de jugosidad y, aún cuando el análisis sensorial es el único método fiable para ello, que las pérdidas de agua por goteo hayan sido de mayor magnitud en la carne de hembras que en la de machos, se podría considerar como un aspecto negativo para la rentabilidad de la producción de carne (Juárez *et al.*, 2012). Al igual que Crouse *et al.* (1983), encontramos que la carne de los machos fue más dura y con atributos de TPA menos deseables que la de las hembras, aunque un análisis sensorial mediante un panel de catadores aportaría mayor fiabilidad (Caine *et al.*, 2003). En cambio, Zea *et al.* (2007) documentaron no haber encontrado diferencias significativas en los parámetros de textura respecto al sexo. , Las diferencias observadas en el presente experimento podrían estar relacionadas con el mayor contenido graso en la carne de las hembras, ya que la infiltración de grasa es un factor directamente relacionado con la percepción de terneza de la carne, pues la grasa proporciona lubricación entre las fibras musculares (Juárez *et al.*, 2012).

6.4.3. Calidad lipídica: composición de ácidos grasos del *longissimus thoracis*

En el presente estudio, el nivel de linaza añadido a la dieta modificó significativamente el perfil de AG de la GIM sin afectar a su contenido total, de acuerdo con los trabajos de otros autores que incluyeron fuentes de *n-3*AGPI en la dieta de terneros (Mapiye *et al.*, 2013a; Conte *et al.*, 2018; Renna *et al.*, 2019), y relacionado con el consumo de dietas experimentales isocalóricas.

De manera similar, el sexo tampoco mostró influencia significativa sobre el contenido de GIM ni de AG totales. Aunque las hembras mostraron valores numéricos más elevados para ambos, no se alcanzó el grado de diferencia observado en el contenido graso determinado por NIRS.

En general, el contenido de lípidos y AG totales encontrados en el LT para las presentes dietas experimentales es del orden observado en animales jóvenes de la misma raza, indicando que se trata de animales genéticamente magros (<2,5%) (Moreno *et al.*, 2006; Bispo *et al.*, 2011; González *et al.*, 2014).

6.4.3.1. Ácidos Grasos Poliinsaturados (AGPI)

La composición de AGPI en la carne de rumiantes no refleja directamente su proporción en la dieta, ya que la microbiota ruminal hidroliza rápidamente los lípidos aportados por la dieta a ácidos grasos libres, cuyos dobles enlaces son isomerizados y biohidrogenados, transformando los AGPI principalmente en *t*AGMI y AGS (Lee y Jenkins, 2011). Aún así, en la bibliografía se encuentran revisados multitud de ensayos basados en la suplementación con oleaginosas para incrementar el contenido de AGPI en la carne, y más concretamente favorecer la deposición de *n-3* a través del pastoreo o de la inclusión de fuentes ricas en *n-3*AGPI (Toral *et al.*, 2018; Ponnampalam *et al.*, 2018; Scollan *et al.*, 2017; Vahmani *et al.*, 2015a, 2020). Aunque Mapiye *et al.* (2013a) observaron un aumento en el porcentaje de AGPI cuando emplearon semilla de linaza frente a semilla de girasol, la mayoría de los autores no documentaron efectos de la inclusión de linaza a diversos niveles en dietas basadas en concentrado (10% MS, Renna *et al.*, 2019; 5% MS, Albertí *et al.*, 2014; 20% MS, Conte *et al.*, 2018) o en forraje (15% MS, Nassu *et al.*, 2011), en comparación con dietas control. En el presente experimento, hemos observado que el incremento en el nivel de linaza en la dieta de terneros RG no

tuvo ningún efecto sobre la deposición de AGPI, lo que coincide con lo previamente observado por Mach *et al.* (2006) al comparar la adición de linaza a la dieta a 3 niveles similares a los nuestros (3,6, 11,2 y 18% MS). La ausencia de efecto probablemente se debe al similar aporte de AGPI entre las dietas experimentales que además tuvieron idéntico EE y fueron consumidas en la misma medida por los animales de los tres grupos experimentales (IC=7,7 kg/d, Tabla 6.3). El porcentaje de ΣAGPI (17%) obtenido en el presente estudio está por encima de los observados por Nassu *et al.* (2011) (6%) y Mapiye *et al.*, 2013a) (7%) mediante suplementación con linaza en dietas altas en forraje, debido mayormente a que emplearon animales de mayor edad (>30 meses) o superior GIM (5-6%) respectivamente, factores que determinan la preferente deposición de AGS en vez de AGPI (Scollan *et al.*, 2006a; De Smet *et al*., 2004; Sevane *et al.*, 2014). Por eso nuestro valor para la proporción de ΣAGPI fue del orden del observado por Mach *et al.*(17%, 2006), por Albertí *et al.*(17-20%, 2014) y por Conte *et al.*(15%, 2018) en animales jóvenes de bajo contenido graso (≤ 2%), similar al de la raza RG, alimentados mediante la suplementación con linaza en dietas altas en concentrado; y, evidentemente, casi la mitad del observado por Renna *et al.*(32%, 2019) y por Raes *et al.*(25%, 2003), con una suplementación del 10 y 12,5% MS de linaza, respectivamente, en animales de razas extremadamente magras (<1% grasa). Este tipo de razas extremadamente magras se caracterizan por una alta proporción de fosfolípidos en su carne (Scollan *et al.*, 2006a; Fiems, 2012), lo que resulta en una elevada relación AGPI/AGS (Sevane *et al*., 2014), ya que los AGPI, en los rumiantes, se depositan preferentemente en los fosfolípidos (Dugan *et al.*, 2018).

En cuanto al efecto de la dieta sobre la distribución de AGPI, en cambio, sí se observó un aumento en los porcentajes del LNA y de los Σ*n-3*AGPI en el LT con el nivel de linaza, mientras que los de Σ*n-3*AGPI-CL, Σ*n-6*AGPI y los *n-6* individuales, permanecieron inalterados. Está ampliamente documentado y revisado en la bibliografía (Vahmani, 2015a, 2017a; Scollan *et al.*, 2017) que la inclusión de linaza en la dieta animal puede favorecer la deposición de *n-3*AGPI en la carne comparado con otras semillas oleaginosas (Mapiye *et al.*, 2013a) o con dietas control (Albertí, 2014; Conte, 2018; Nassu *et al.*, 2011; Renna *et al.*, 2019). En el trabajo de Mach *et al.* (2006) incluso observaron previamente que a mayor nivel de linaza en la dieta (3,6, 11,2 y 18% MS), mayor proporción de *n-3*AGPI en la carne, sin embargo, en el presente estudio, el incremento del nivel de linaza en la dieta L15 respecto a la L10 no se ha reflejado en una

mayor deposición de LNA y Σ*n-3*AGPI en la carne. Esto pudo deberse, probablemente, a que las diferencias en el aporte de LNA y AGPI entre las dietas L10 y L15 no han sido tan marcadas como entre las dietas L5 y L10, resultando en relaciones de AGPI/AGS más similares entre sí (Tabla 6.2). Además, las dietas del presente estudio tuvieron idéntico EE, mientras que, en las empleadas por Mach *et al.* (2006) se incrementaba su EE con el nivel de linaza.

En todo caso, teniendo en cuenta que según la revisión de Vahmani *et al.* (2015a), en la mayoría de los estudios, incluso mediante la suplementación con linaza, no se ha logrado superar el 2% de LNA en carne de rumiantes, es destacable que, en el presente ensayo, se haya alcanzado una proporción ligeramente superior (~3%) mediante las dietas L10 y L15. Aunque este hecho esté mayormente relacionado con el bajo contenido de GIM de la raza RG, además, el tipo y la calidad de los ingredientes no lipídicos de la dieta han podido tener gran influencia en este valor. Así, la proporción de Σ*n-3* en la dieta L10 es del orden de la documentada por Renna *et al.* (4,67%, 2019) cuando incluyeron linaza al 10% MS en el concentrado de la fase de acabado de animales jóvenes de una raza extremadamente magra (0,5%), aunque observaron un porcentaje de Σ*n-6* (32%) tres veces superior al del presente experimento. En dicho estudio, relacionan esos elevados niveles de Σ*n-6* con el hecho de ser una raza con hiperplasia, lo que determina una elevada proporción de fosfolípidos respecto al total de lípidos e implica una deposición selectiva de AGPI, preferentemente de LA en su carne. Sin embargo, Raes *et al.* (2003), mediante la inclusión de linaza (12-14%) en una dieta alta en concentrado para animales también extremadamente magros (<1%), sí lograron un porcentaje de *n-3*AGPI superior (7%) al observado en el presente experimento, manteniendo un Σ*n-6* (17%) más parecido al observado por nosotros (10%), comparado con Renna *et al.* (32%, 2019). Esto puede ser atribuido, probablemente, a que en el estudio de Raes *et al.* (2003), en vez de heno, emplearon ensilaje de hierba como fuente de forraje, el cual se ha observado interaccionar positivamente con la linaza en cuanto a la proporción de *n-3* se refiere (Mapiye *et al.*, 2013a), y a que las dietas que se suministraron a los animales en los períodos previos a la fase de acabado también fueron suplementadas con linaza. De igual forma, el que los porcentajes de LNA y Σ*n-3* alcanzados por las dietas L10 y L15 (valores promedio para LNA= 2,77% y Σ*n-3*= 4,71%) del presente experimento hayan sido más elevados que los observados por Mach *et al.*(2006; LNA=1,95 y *n-3*=2,25%), en animales con un parecido contenido graso alimentados con un nivel superior de linaza (18%MS) y similar ingesta

de concentrado (7 kg/d), puede deberse a que estos autores emplearon paja de cebada y nosotros heno de hierba, que ha mostrado una interacción positiva con la linaza frente al ensilaje de cebada cuando se trata de aumentar el nivel de *n-3* (Nassu *et al.*, 2011).

En cuanto al sexo, las hembras mostraron menor porcentaje de AGPI, debido a la menor acumulación de Σ*n-6,* principalmente LA, y en menor medida, de LNA. Aunque los *n-3*AGPICL fueron numéricamente mayores en las hembras, sólo el DHA, el menos abundante, fue significativamente mayor, no reflejándose este efecto en el porcentaje de Σ*n-3*, que fue similar en ambos sexos. Estos resultados no coinciden con los de Zea *et al.* (2007), quienes observaron que los AGPI totales permanecieron inalterados cuando compararon el efecto del sexo sobre el perfil lipídico de la carne de animales RG, sin suplementación con oleaginosas. Sin embargo, Barton *et al.* (2011) y Mueller *et al.* (2019) sí documentaron un efecto similar del sexo sobre los AGPI, obteniendo mayores porcentajes en los machos y relacionándolo con el hecho de que las hembras poseen mayor deposición de grasa, con la que se reduce la proporción de fosfolípidos, llevando a niveles menores de AGPI (De Smet *et al.*, 2004; Wood *et al.*, 2008). En el presente experimento, las diferencias en la deposición de GIM entre machos y hembras sólo fueron numéricas, de ahí la baja significancia de las diferencias encontradas por el efecto sexo en la proporción de AGPI en carne.

En general, los porcentajes de ΣAGPI, LNA y Σ*n-3* en el LT de animales que consumieron las presentes dietas experimentales, y más concretamente la dieta L10 (17, 3 y 5%, respectivamente) fueron superiores a los obtenidos previamente en carne de RG mediante la alimentación con un 10% MS de linaza extrusionada (dieta SL) (12, 1 y 3% de AGPI, LNA y Σ*n-3*, respectivamente) en el ensayo expuesto en el Capítulo II de la presente tesis, para un similar contenido de GIM. El que se hayan alcanzado niveles de AGPI más elevados indica que la lipólisis se ha visto reducida en cierta medida, ya sea, por un mayor aporte de AGPI, pues los animales consumieron entre 1 y 2 kg más de concentrado enriquecido al día, cuyo EE (8%MS) además fue superior que en el ensayo del Capítulo II (6% EE), y/o porque estos AGPI han estado más protegidos frente a la BH gracias a que el resto de los ingredientes de la dieta favorecieron las condiciones ruminales adecuadas. Además del mayor EE, la composición de ingredientes no lipídicos en la dieta podría haber influido en gran medida, pues en la formulación de los concentrados del presente estudio, predominó el maíz frente a la cebada, cuyo mayor aporte de almidón (10 unidades superior a la cebada, FEDNA, 2010), y debido también a

la mayor ingesta de concentrado, pudo favorecer un ambiente ruminal propicio (reducción del pH) para limitar la lipólisis de AGPI (etapa limitante en la BH) (Van Nevel y Demeyer, 1996; Jenkins *et al.*, 2007; 2008). En apoyo a esta teoría, otros autores observaron previamente que la naturaleza de la fuente de almidón puede influir en las tasas de BH (Toral *et al.*, 2014; Bernard *et al.*, 2016).

6.4.3.2. Ácido linoleico conjugado (CLA), ácido linolénico conjugado (CLNA) y dienos atípicos no conjugados del ácido linoleico (nCLA)

Los AGPI libres obtenidos en el rumen tras la hidrolización de los lípidos de la dieta, son biohidrogenados por las bacterias ruminales mediante reacciones de isomerización y saturación hasta la obtención del producto final, el 18:0 (Harfoot y Hazlewood, 1997; Jenkins *et al.*, 2008). Cuando la BH resulta incompleta, se puede conseguir la acumulación de AGPI y/o de metabolitos intermedios en el duodeno que incluyen ácidos grasos *trans* monoenos (*t*AGMI), dienos y trienos conjugados y no-conjugados (Shingfield *et al.*., 2013; Toral *et al.,* 2018; Vahmani *et al.*, 2020). En la primera etapa, el LA isomeriza a CLA, principalmente $CLA_{c9,t11}$, que posteriormente es hidrogenado a ácidos *trans* octadecenoicos (*t*18:1), mayoritariamente TVA, hasta la obtención final de 18:0. La biohidrogenación del LNA implica su isomerización a ácido linolénico conjugado (CLNA), principalmente ácido rumelénico (*c*9,*t*11,*c*15-18:3, RLA), seguido de la hidrogenación progresiva a dienos atípicos no conjugados (nCLA), después a TVA y finalmente a 18:0. El proceso de biohidrogenación es muy eficiente, y en general, sobre el 80 y el 92% de LA y LNA, respectivamente, es biohidrogenado en el rumen (Doreau y Chilliard, 1997), logrando incorporarse en los tejidos sólo cantidades residuales de los metabolitos intermedios, donde además pueden ser utilizados por las elongasas y desaturasas en la síntesis de *novo*, obteniendo, por ejemplo, dienos *c*/*t* a partir de los *t*AGMI (excepto los isómeros *t*9 y *t*10) (Shingfield *et al.*, 2013; 2014). En el presente experimento, la BH de los AGPI de la dieta favoreció la acumulación de nCLA en lugar de CLA, lo que es consistente con estudios previos de alimentación con linaza (Nassu *et al.*, 2011; Mapiye *et al.*, 2013a,c) debido a su elevado contenido en LNA y a que sus rutas de BH transcurren mayormente a través de nCLA en vez de CLA (Jenkins *et al.*, 2008).

Los porcentajes de ΣCLA y de su isómero principal, el CLA$_{c9t11}$, no mostraron cambios significativos con el nivel de linaza, mientras que la proporción de isómeros Σ*t*,*t*CLA sí ha aumentado significativamente en las dietas L10 y L15 respecto a la L5. En cuanto a los isómeros *t*,*c*/*c*,*t*, su porcentaje total no se vio alterado por el nivel de linaza, ya que sólo hubo modificaciones en su distribución individual, observando aumentos en aquellos isómeros CLA cuyo primer doble enlace se encuentra en el carbono 11 o superior (*t*11,*c*13, *c*11,*t*13, *c*13,*t*15 y *c*12,*t*14) a la vez que disminuyeron los isómeros mayoritarios *t*7,*c*9 y *t*10,*c*12. Los resultados observados para el perfil de isómeros CLA son similares a los observados por Conte el al. (2018) y por Mapiye *et al.* (2013a) cuando compararon los efectos de la inclusión de linaza en la dieta animal frente a un grupo control o frente a otra fuente oleaginosa, respectivamente. La ausencia de efectos del nivel de linaza sobre la proporción de CLA$_{c9t11}$ y ΣCLA evidencia que el principal precursor de CLA$_{c9t11}$ en la BH ruminal es el LA (Troegeler-Meynadier *et al.*, 2006; Bessa *et al.*, 2007), mientras que el LNA conduce preferiblemente a otros dienos no conjugados (Jenkins *et al.*, 2008). En todo caso, el porcentaje promedio de ΣCLA (0,7%) fue ligeramente superior al observado en los ensayos expuestos anteriormente en los Capítulos I y II (0,5%) mediante la suplementación con aceites libres (González *et al.*, 2014, Capítulo I) o con semillas (Capítulo II). La mejora de la acumulación de CLA, podría deberse mayormente a haber logrado una interrupción en la BH completa de los AGPI de la dieta, causada probablemente por una mayor presencia de AGPI libres cuyos efectos tóxicos/inhibidores sobre los microorganimos ruminales pueden inhibir el último paso de la BH (Lourenço *et al.*, 2010; Dewanckele *et al.*, 2018; Toral *et al.*, 2018).

Como se ha comentado, el nivel de ΣnCLA aumentó significativamente en las dietas L10 y L15 respecto a la dieta L5, debido principalmente al aumento del isómero no conjugado *t*11,*c*15, que pasó a ser el isómero más abundante en esas dietas, por encima del CLA$_{c9,t11}$, y al aumento de otro nCLA minoritario como es el *c*9,*c*15. Que el isómero no conjugado *t*11,*c*15 haya sido el mayoritario en las dietas con mayor nivel de linaza concuerda con los resultados obtenidos por otros autores cuando emplearon linaza en vez de una dieta control (Nassu *et al.*, 2011; Mapiye *et al.*, 2013b) o de una dieta enriquecida con semilla de girasol (Mapiye *et al.*, 2013a), debido a que es generado mediante la reducción del CLNA durante la biohidrogenación del LNA (Alves y Bessa, 2014), la cual transcurre incorporando más nCLA que CLA (Jenkins *et al.*, 2008).

Aunque la proporción de *t*11,*c*15 encontrada en el presente estudio fue menor que la encontrada por los citados autores (~0,9% Nassu *et al.*, 2011 y Mapiye *et al.*, 2013a; 1,65% Mapiye *et al.*, 2013b), las implicaciones en la salud humana de consumir carne enriquecida en nCLA requiere más investigación, ya que, concretamente, sería de particular interés conocer si el *t*11,*c*15 puede desaturarse a *c*9,*t*11,*c*15-18:3 (RLA), el cual podría tener propiedades beneficiosas para la salud similares a las del $CLA_{c9,t11}$ (Hennessy *et al.*, 2011; Bialek *et al.*, 2017). En cambio, la proporción de RLA en el presente estudio no se ha visto significativamente afectada por el nivel de linaza, aunque incrementó numéricamente con este, mostrando un valor ligeramente menor que el observado por otros autores que emplearon la misma fuente de *n-3* (Nassu *et al.*, 2011 y Mapiye *et al.*, 2013a).

El sexo también ha tenido influencia sobre las rutas de biohidrogenación del LNA y, aunque el patrón de mayor acumulación de nCLA que de CLA o CLNA se repite, esta diferencia ha sido más marcada en el caso de los machos. Como resultado, en el LT de las hembras se ha observado una tendencia hacia mayor deposición de ΣCLA y un incremento en la proporción de CLNA respecto al de los machos, lo que ya se ha visto previamente documentado (Barton *et al.*, 2011; Mueller *et al.*, 2019) y relacionado con una mayor expresión del gen de la enzima stearoil-CoA desaturasa (Δ-9-desaturasa) en el tejido adiposo de las hembras.

6.4.3.3. Ácidos Grasos Monoinsaturados (AGMI)

En el presente estudio, la proporción de *t*AGMI, productos intermedios predominantes de la biohidrogenación de AGPI (Jenkins *et al.*, 2008; Lourenço *et al.*, 2010) que se pueden acumular en la carne de rumiantes cuando se trata de enriquecer el contenido en AGPI (Toral *et al.*, 2018; Vahmani *et al.*, 2020), no se vio influenciada por el nivel creciente de linaza añadido a la dieta, indicando similares tasas de BH de los AGPI entre las dietas experimentales, relacionado con el similar aporte de AGPI entre dietas isocalóricas de composición nutricional comparable.

La adición de linaza a la presente dieta base, en cualquier nivel, condujo a una proporción de Σ*t*AGMI (6%) superior a la observada mediante la alimentación con semilla extrusionada de linaza al 10%MS (dieta SL, 3%) en el ensayo del Capítulo II de la presente tesis, llegando a un nivel ligeramente superior al observado mediante la

alimentación con aceite de lino (~4%, González *et al.*, 2014; Capítulo I), cuando es sabido que los aceites son más eficientes que las semillas en la producción de *t*18:1 (Troegeler-Meynadier *et al.*, 2014). El aumento en la proporción de Σ*t*AGMI con respecto a nuestros ensayos previos (Capítulos I y II), podría considerarse como negativo, pero en todo caso, el nivel alcanzado no excedió el rango normalmente observado de *t*AG de origen natural en carne y derivados lácteos (4-6% del total de ácidos grasos), mientras que su proporción en los aceites parcialmente hidrogenados asciende hasta un 60% (Stender *et al.*, 2008).

Nuevamente, estos resultados parecen indicar que en el presente estudio se han alcanzado niveles intermitentes de AGPI en el rumen suficientemente elevados como para inhibir el último paso de la BH (a 18:0 como producto final) y poder acumular intermedios como los *t*AGMI (Lourenço *et al.*, 2010). Teniendo en cuenta que la presente dieta L10 contuvo el mismo nivel de linaza que la dieta SL del ensayo del Capítulo II, todo apunta a que, en el presente estudio, los mayores niveles de AGPI se han alcanzado gracias al mayor consumo de AGPI (los animales consumieron más concentrado y de mayor EE) y/o a que la fracción no lipídica de la dieta ha podido inhibir de alguna manera la lipólisis de los AGPI limitando la última etapa de la BH. Este último fenómeno podría deberse a la inclusión de maíz en el concentrado base, en vez de cebada); lo que implicaría/conduciría a una mayor acidosis ruminal. De hecho, en el presente ensayo es muy probable que sí se haya conseguido reducir el pH ruminal, ya que, se ha observado el "cambio *trans*-10" en la BH de los AGPI (es decir, más *t*10-18:1 que *t*11-18:1), asociado con variaciones en la población microbiana ruminal y resultante de la alimentación mediante dietas ricas en almidón (reductoras del pH) (Klieve *et al.*, 2003; Leheska *et al.*, 2008; Aldai *et al.*, 2013; Mapiye *et al.*, 2015; Zened *et al.*, 2016). En todo caso, las proporciones alcanzadas de *t*AGMI y *t*10-18:1 han sido mucho menores que los preocupantes incrementos observados por Aldai *et al.* (2010) mediante la suplementación con aceite de soja.

Así, aunque el nivel de linaza no ha modificado las tasas de BH, sí parece, en cambio, haber alterado las rutas de BH transcurridas y la distribución individual de los isómeros *t*18:1 en la carne, resultando la dieta L15 en la menor relación *t*10/*t*11 mientras que las dietas L10 y L5 llevaron a un valor intermedio y al más elevado, respectivamente, relacionado con las diferencias dietéticas en la relación *n-6*/*n-3* (Tabla 6.2) y con el mayor "cambio *trans*-10" asociado con la abundancia de LA y no de LNA (Troegeler-

Meynadier *et al.*, 2006). Además, se ha visto que un aumento en el nivel de linaza reduce el porcentaje de los isómeros con el enlace *trans* en las posiciones *t*6 a *t*10, a la vez que aumenta el de los isómeros *t*13+*t*14, *t*15 y *t*16, lo que coincide con el perfil de *t*18:1 obtenido de la biohidrogenación de LNA (Nassu *et al.*, 2011; Mapiye *et al.*, 2013a). Contrariamente, la deposición de TVA, normalmente el *t*18:1 predominante en las grasas de rumiantes (Prates y Bessa, 2009), no ha variado con el nivel de linaza, de acuerdo con lo previamente observado por Mach *et al.* (2006). La proporción alcanzada de TVA es del orden observado en nuestros ensayos previos mediante alimentación con aceite (1,77%, González *et al.*, 2014, Capítulo I) o con semilla de lino (1,29%, dieta SL, Capítulo II). La ausencia de efecto nuevamente concuerda con las rutas de BH de LNA transcurriendo preferentemente a través de los isómeros con el enlace *trans* en posiciones superiores a *t*11. La reducción observada en la relación *t*10/t11 con el aumento de linaza se podría considerar beneficiosa, debido a que el consumo de *t*10-18:1 ha sido asociado con efectos negativos en la salud cardiovascular (Scollan *et al.*, 2017; Vahmani *et al.*, 2020) por inducir cambios en los perfiles lipoproteicos plasmáticos de animales (Bauchart *et al.*, 2007; Roy *et al.*, 2007). Sin embargo, la acumulación de *t*AGMI observada a medida que se incrementa el nivel de linaza en la dieta debido al aumento en las proporciones de otros isómeros distintos al TVA, el único que ha mostrado propiedades beneficiosas (Gebauer *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2012; 2016; Gómez-Cortés *et al.*, 2018), podría no ser deseada, por lo que se requiere mayor investigación sobre los efectos en la salud de muchos isómeros *t*18:1 individuales y otros lípidos de rumiantes (Menaa *et al.*, 2013; 2016; Kuhnt *et al*., 2016; Vahmani *et al.*, 2020).

La ausencia de efecto del nivel de linaza sobre el perfil de los *c*AGMI, es acorde con la similar proporción alcanzada de AGPI y/o de sus intermedios de BH (*t*18:1 principalmente) en el LT, y por tanto, con una actividad delta-9-desaturasas comparable entre las presentes dietas. Las proporciones de OA (27%) y *c*AGMI (33%) fueron menores que en el ensayo anterior con semilla de lino (34 y 41%, respectivamente, en la dieta SL del Capítulo II), sugiriendo que la BH completa a 18:0 y posterior síntesis endógena a OA estuvo más limitada en el presente ensayo, probablemente debido a que se han conseguido niveles más elevados de AGPI y de sus productos de BH (Waters *et al.*, 2009; Jacobs *et al.*, 2011).

El porcentaje de ΣAGMI y su distribución individual en la carne también se han visto sustancialmente afectados por el sexo, ya que la proporción de todos los isómeros

*t*AGMI fue más elevada en los machos, a excepción del TVA, cuya proporción no ha variado; mientras que la mayoría de isómeros *c*AGMI mostraron un mayor porcentaje en las hembras, lo que se tradujo en una mayor proporción de ΣAGMI debido al incremento observado en el OA, el AGMI mayoritario. La mayor proporción de OA y Σ*c*AGMI observada para las hembras en el presente ensayo se ha visto previamente documentada (Barton *et al.*, 2011; Mueller *et al.*, 2019) y se ha relacionado con una mayor expresión del gen de la enzima stearoil-CoA desaturasa (Δ-9-desaturasa) en las hembras. Además, la mayor acumulación de AGPI y/o de sus productos de BH (en este caso, de *t*AGMI y nCLA) en la carne de los machos pudo haber inhibido la actividad de la Δ-9-desaturasa (Waters *et al.*, 2009; Jacobs *et al.*, 2011).

6.4.3.4. Ácidos Grasos Saturados (AGS) y de Cadena Ramificada (AGCR)

Que el incremento en el nivel de linaza añadido en la dieta haya sido inefectivo en la elevación total de AGPI o de sus productos de BH, se ha traducido nuevamente en la ausencia de efectos sobre la proporción de ΣAGS y ΣAGCR, y de la mayoría de AGS y AGCR individuales, aunque la dieta L10 redujo la deposición de 16:0 y 16:0iso sin afectar a la proporción de 18:0. Esto último podría considerarse beneficioso, pues los efectos hipercolesterolémicos del 16:0 son potencialmente más perjudiciales que los del 18:0 (Clandinin *et al.*, 1999; Williams, 2000). La menor proporción de ΣAGS (~43%) y, específicamente de 16:0 (~22%), su constituyente principal y producto de la síntesis endógena en el músculo, encontrada en el LT de animales alimentados con cualquiera de las dietas presentes, comparado con la alimentación con aceites (~49% y 30% respectivamente, González *et al.*, 2014), apunta de nuevo hacia nuestra teoría de que la síntesis de *novo* fue inhibida debido a la mayor proporción alcanzada de AGPI y/o de sus intermedios de BH (*t*18:1 principalmente) (Waters *et al.*, 2009).

En cuanto a los AGCR, Vlaeminck *et al.* (2006a) han sugerido que aquellos con más de 13 carbonos son sintetizados por las bacterias ruminales a partir de los aminoácidos de cadena ramificada, y están presentes en la carne como resultado de la digestión y absorción de lípidos estructurales bacterianos. Estos mismos autores documentaron que su proporción en la carne está muy influenciada por las variaciones en la relación forraje/concentrado, pues los isómeros *iso* se originan principalmente gracias a

las bacterias celulolíticas (cuyo principal sustrato son los forrajes), mientras que los *anteiso* y los AGS de cadena impar, se presentan en más abundancia en las bacterias amilolíticas (que tienen como principal sustrato el almidón). La ausencia de efectos del nivel de linaza sobre los AGCR era por tanto esperada, pues la tasa de forraje/concentrado fue idéntica en las presentes dietas experimentales y los precursores de AGCR (aminoácidos y glucosa) fueron suministrados por igual. En todo caso, la proporción de AGCR observada para cualquiera de las presentes dietas fue del orden normalmente observado en el LT de rumiantes (<2% del total de AG) (Vahmani *et al.*, 2020).

Las diferencias observadas por el efecto sexo en los AGS concuerdan con los resultados obtenidos por Mueller *et al.* (2019), quienes encontraron que las hembras tienen mayores niveles de C14 y C16, mientras que los de C18 son más elevados en machos, sin observar diferencias en el porcentaje total de AGS. Estos resultados sugieren que la síntesis de *novo* ha estado más inhibida en los machos (menos C16:0, que es el producto final), y que la expresión del gen de la enzima Δ-9-desaturasa es mayor en las hembras (Barton *et al.*, 2011), desaturando en mayor medida el C18:0 absorbido en los tejidos para sintetizar endógenamente OA (*c*9-18:1), como se deduce de las proporciones de estos AG en carne, reducidas y elevadas, respectivamente, en comparación con los machos.

6.4.3.5. Índices de calidad lipídica: AGPI/AGS y *n-6*/*n-3*

La ausencia de efectos del nivel de linaza sobre la relación AGPI/AGS es consistente con el hecho de no haber observado variaciones en AGPI y AGS. El valor promedio encontrado para la relación AGPI/AGS en el presente estudio estuvo por encima del rango de 0,1-0,15 normalmente observado en la carne de bovino cuando se usan estrategias de suplementación (Vahmani *et al.*, 2017b), relacionado probablemente con el uso de razas magras, debido a su mayor proporción de fosfolípidos de membrana (donde se depositan preferentemente los AGPI) y menor de triglicéridos (AGS y AGMI) (Wood *et al.*, 2008; Fiems, 2012; Scollan *et al.*, 2014). De hecho, el valor alcanzado para la relación AGPI/AGS fue superior al observado en la raza RG mediante la suplementación con aceite de lino (0,17; González *et al.*, 2014, Capítulo I), debido principalmente al menor contenido de GIM encontrado en el presente ensayo. Sin

embargo, como la relación AGPI/AGS ha sido superior a la observada en el capítulo anterior en animales de la misma raza y similar GIM alimentados con linaza al 10%MS (0,27, dieta SL, Capítulo II), todo parece indicar que en el presente ensayo se ha inhibido la BH completa de los AGPI de la dieta, debido al mayor aporte de AGPI y a unas condiciones ruminales probablemente favorecidas por el resto de ingredientes no lipídicos de la dieta, promoviendo que se superase el valor recomendado por el British Department of Health (BDH, 1994) para esta relación (≥0,45), relevante debido a su uso para evaluar el valor nutricional de las grasas (WHO, 2003).

Aunque en las tres dietas presentes hubo una mayor acumulación de Σ*n-6* (10%) que de Σ*n-3* (4%), la relación *n-6*/*n-3* se redujo significativamente con el nivel de linaza, sin diferencias entre las dietas L10 y L15, con un valor promedio de 2,1. La mejora en esta relación se debió fundamentalmente al incremento en la proporción de *n-3*, ya que la de Σ*n-6* no varió, lo que es común en los estudios que incluyen linaza, pero el valor de la relación fue la mitad que la observada por otros autores en animales de características similares alimentados con linaza a niveles cercanos a los empleados en este estudio (Alberti *et al.*, 2014, 5% linaza; Mach *et al.*, 2006, 12-14% linaza) o incluso superiores (Conte *et al.*, 2018; 20% linaza). Reducir el valor de la relación *n-6*/*n-3* es complejo en animales magros debido a la elevada cantidad de LA que se deposita en la fracción de fosfolípidos, sin embargo, la carne de los animales alimentados con las dietas L10 y L15 ha mostrado un valor de *n-6*/*n-3* por debajo del alcanzado en nuestros ensayos previos con la misma raza mediante la suplementación con aceite (2,7) o semilla de lino (3,0) (Capítulos I y II, respectivamente), confirmándose la mayor efectividad de las dietas del presente ensayo, pues se ha logrado bajar el valor de la relación *n-6*/*n-3* respecto al máximo recomendado para la nutrición humana (<4, Simopoulos, 2011; BDH, 1994). La reducción observada en la relación *n-6*/*n-3* al aumentar el nivel de linaza se puede considerar como beneficiosa, pues Saini y Keum (2019) concluyeron recientemente en una revisión que esta relación, a mayores de las cantidades absolutas individuales de *n-6* y *n-3,* proporciona información como indicador de riesgo de enfermedades crónicas.

Es importante destacar que la carne obtenida mediante la alimentación con las dietas L10 y L15 alcanzó unas relaciones de AGPI/AGS y *n-6*/*n-3* elevadas y bajas, respectivamente, alcanzando valores característicos de la carne producida en sistemas basados en pastoreo (Moreno *et al.*, 2007b; Alfaia *et al.*, 2009; Pestana *et al.*, 2012).

La tendencia observada por el efecto sexo hacia una mayor relación AGPI/AGS en machos se debe a la mayor proporción de PUFA observada en su carne. Del mismo modo, la menor relación *n-6*/*n-3* observada en el LT de hembras está relacionada con la menor acumulación de Σ*n-6*AGPI en su carne. Los resultados observados para el efecto sexo sobre ambas relaciones nutricionales son consistentes con lo observado por Mueller *et al.* (2019), relacionados con el menor contenido en fosfolípidos de la carne de las hembras.

6.4.3.6. Cantidades de AG depositadas en carne

En la Tabla 6.10 se muestran las cantidades acumuladas de ciertos AG en el LT (mg/100g músculo) según la dieta suministrada y el sexo, calculadas para evaluar correctamente (Dugan y Wood, 2018) la contribución que puedan suponer a las necesidades diarias recomendadas o a los requisitos de etiquetado establecidos por las organizaciones internacionales (EFSA, 2009;2010; FAO, 2009).

Incrementar el nivel de linaza en la dieta de terneros RG para favorecer la acumulación de LNA y Σ*n-3*AGPI sólo fue efectivo hasta un nivel del 10%MS (L10) ($P<0,01$ y $P<0,05$, respectivamente), debido probablemente a que entre las dietas L5 y L10 hubo un incremento en el aporte de AGPI, mientras que el de la dieta L15 fue del orden de la dieta L10, incluso numéricamente menor (Tabla 6.2). A mayores, la ligera variación observada en la composición de la dieta L15 en cuanto a la fuente de almidón (menos maíz y presencia de cebada) respecto a las otras (Tabla 6.1), quizás fue menos favorable para alcanzar las condiciones ruminales necesarias para inhibir la lipólisis y favorecer el paso ruminal de AGPI (reducción del pH), como se observa de su menor relación *t*10/*t*11-18:1 en el perfil de *t*AGMI del LT (Tabla 6.8); aunque en esto último, las diferencias en la relación *n-6*/*n-3* entre las dietas ofrecidas (Tabla 6.2), probablemente, hayan tenido mayor influencia (Troegeler-Meynadier *et al.*, 2006).

La carne de los animales que consumieron las dietas L10 y L15 del presente experimento proporcionaría un promedio de 36 mg de LNA y de 60 mg de Σ*n-3* por 100g de carne, y estos valores son casi tres veces más que los observados por Renna *et al.* (14 y 22 mg/100g carne respectivamente, 2019), quienes, a pesar de haber documentado una proporción similar, trabajaron con una raza extremadamente magra (~0,5%grasa). Habría que destacar que el aporte de LNA y Σ*n-3* sería del orden del observado por Raes *et al.*

(2003; 33,2 mg de LNA y 60,2 mg de Σ*n-3* por 100g de carne) quienes suplementaron con linaza también las dietas de los periodos previos al acabado, a diferencia de este estudio. Así, las cantidades de LNA y Σ*n-3* proporcionadas por la carne de animales de raza RG alimentados con las dietas L10 y L15, están dentro del rango de los valores revisados por Vahmani *et al.* (2017b) procedentes de estudios de suplementación con semillas oleaginosas, siendo superadas sólo por aquellos estudios en los que se emplearon razas de mayor contenido en grasa (≥5%), combinando la suplementación de linaza con proporciones elevadas de fuentes de forraje como el heno y el ensilaje de cebada (72 y 68 mg de LNA, 111 y 106 mg de Σ*n-3*, respectivamente Nassu *et al.*, 2011), el ensilaje de trébol violeta (105 y 132 mg de LNA y Σ*n-3*, Mapiye *et al.*, 2013b), o mediante la oferta de heno posterior al concentrado (69 y 88 mg de LNA y Σ*n-3*, Vahmani *et al* 2017a), lo que podría minimizar su efecto tampón.

Aunque incrementar el nivel de linaza en la dieta de terneros RG para enriquecer el contenido de LNA y *n-3* en el LT sólo resultó efectivo hasta cierto nivel (10%MS), algo destacable del presente ensayo, es que la cantidad acumulada en la carne mediante las dietas L10 y L15 fue el doble que la observada para la dieta SL (18 mg LNA/100g carne) (10% MS de linaza) en el ensayo del Capítulo II, resultando también en un incremento en la deposición de *n-3*AGPI, pero sin variación respecto a sus productos de desaturación y elongación (*n-3*AGPICL). Teniendo en cuenta que en ambos ensayos el contenido alcanzado de GIM en el LT fue comparable, las diferencias confirman que se ha logrado un mayor paso ruminal de AGPI, aumentando la acumulación de LNA, gracias a al mayor aporte de grasa en la dieta, al mayor consumo de concentrado (7,7 vs. 6,4 kg/animal y día, en el presente ensayo y en el del Capítulo II, respectivamente) y/o a las variaciones en el aporte y fuente de almidón.

La ineficacia observada en el presente estudio respecto al aumento de *n-3*AGPICL en la carne a través del incremento del nivel de linaza en la dieta, confirma los hallazgos documentados y revisados por Vahmani *et al.*(2017b), quienes concluyeron, que aumentar las concentraciones de estos AG en la carne, es complicado independientemente del contenido de GIM, cuyo incremento sí refleja aumentos en la cantidad de ALA en la carne, y está relacionado con la baja eficiencia de la conversión de ALA a EPA, DPA y DHA (reacciones elongación y desaturación), y que además, puede verse interferida por el gran aporte de LA característico de las dietas basadas en concentrados ricos en cereales (Ponnampalam *et al.*, 2018).

Tabla 6.10. Efecto del nivel de linaza suplementado en el concentrado sobre el contenido de ácidos grasos en el *longissimus thoracis* (mg/100g carne) de terneros de raza Rubia Gallega

	Concentrado					Sexo				C*S
	L5	L10	L15	SEM	P_{value}	F	M	SEM	P_{value}	P_{value}
18:2*n-6* (LA)	113,53	106,03	95,15	5,439	0,070	96,07[b]	113,74[a]	4,441	0,008	0,398
Σ*n-6*	137,42	128,09	116,58	6,352	0,082	120,23[b]	134,50[a]	5,186	0,059	0,393
18:3*n-3* (LNA)	25,03[b]	35,06[a]	37,43[a]	2,756	0,006	30,20	34,81	2,250	0,155	0,927
20:5*n-3* (EPA)	7,27	8,21	8,16	0,547	0,399	8,56	7,20	0,446	0,037	0,990
22:5*n-3* (DPA)	12,63	13,56	12,67	0,799	0,649	13,73	12,18	0,653	0,101	0,904
22:6*n-3* (DHA)	1,29	1,32	1,35	0,129	0,944	1,60[a]	1,03[b]	0,105	0,000	0,261
Σ*n-3*	46,94[b]	59,00[a]	60,52[a]	3,870	0,033	54,92	56,05	3,160	0,802	0,954
*c*9,*t*11-18:2 (RA)	5,85	5,95	5,33	0,651	0,772	6,76[a]	4,66[b]	0,531	0,008	0,350
ΣCLA total	9,97	10,41	9,25	0,964	0,697	11,11[a]	8,65[b]	0,788	0,033	0,257
ΣnCLA	18,52	22,72	23,11	2,490	0,357	21,76	21,14	2,033	0,832	0,644
*c*9,*t*11,*c*15-18:3 (RLA)	0,97	1,20	1,18	0,108	0,239	1,28[a]	0,96[b]	0,088	0,014	0,330
ΣAGPI	213,82	221,42	210,65	12,071	0,811	209,30	221,30	9,856	0,394	0,577
*t*10-18:1	27,20[a]	23,98[a]	16,18[b]	2,169	0,003	20,67	24,23	1,771	0,164	0,566
*t*11-18:1	21,77	24,22	21,86	2,491	0,731	25,22	20,01	2,034	0,078	0,221
Σ*t*AGMI	88,71	93,66	79,38	7,223	0,380	87,23	87,27	5,897	0,997	0,272
*c*9-18:1	408,96	389,22	369,96	42,976	0,817	445,05[a]	333,71[b]	35,090	0,030	0,276
Σ*c*AGMI	489,09	467,43	446,33	50,055	0,836	530,98[a]	404,26[b]	40,870	0,034	0,276
ΣAGMI	577,80	561,09	525,72	56,296	0,804	618,21[a]	491,52[b]	45,966	0,058	0,265
ΣAGS	645,46	602,01	603,76	58,368	0,836	5,87	5,46	0,421	0,491	0,180

L5: concentrado con el 5% de lino; L10: concentrado con el 10% de lino; L15: concentrado con el 15% de lino.

[a.b.c] Las medias dentro de la misma línea con diferentes superíndices difieren significativamente (P≤0,05). SEM= error estándar de la media.

∑*n-6*= 18:2*n-6*, 18:3*n-6*, 20:2*n-6*, 20:3*n-6*, 20:4*n-6* y 22:4*n-6*; ∑*n-3*= 18:3*n-3*, 20:3*n-3*, 20:5*n-3*, 22:5*n-3* y 22:6*n-3*; ΣCLA= Σ*t.t*-CLA (*t*12,*t*14-18:2 + *t*11,*t*13-18:2 + *t*10,*t*12-18:2 + *t*9,*t*11-18:2 + *t*8,*t*10-18:2), Σ*t,c/c,t*-CLA (*t*12,*c*14-18:2 + *c*13,*t*15-18:2 + *c*12,*t*14-18:2 + *t*11,*c*13-18:2 + *c*11,*t*13-18:2 + *t*10,*c*12-18:2 + *t*8,*c*10-18:2 + *t*7,*c*9-18:2 + *c*9,*t*11-18:2 + *t*9,*c*11-18:2); ∑nCLA: *t*11,*t*15-18:2, *t*9,*t*12-18:2; *c*9,*t*13-/*t*8,*c*12-18:2, *t*8,*c*13-18:2, *c*9,*t*12-18:2/*c*16-18:1, *t*9,*c*12-18:2, *t*11,*c*15-18:2, *c*9,*c*15-18:2, *c*12,*c*15-18:2; ∑AGPI= ∑*n-6*, ∑*n-3*, ΣCLA, ΣnCLA y RLA; ∑*t*-AGMI= *t*9-16 :1, *t*6-18:1, *t*9-18:1, *t*10-18:1, *t*11-18:1, *t*12-18:1, *t*13+*t*14, *t*15-18:1 y *t*16-18:1; ∑*c*-AGMI= *c*9-14 :1, *c*9-15 :1, *c*7-16 :1, *c*9-16 :1, *c*9-17 :1, *c*9-18 :1, *c*11-18 :1, *c*12-18 :1, *c*13-18 :1, *c*14-18 :1, *c*15-18 :1, *c*16-18:1, *c*9-20 :1, *c*11-20 :1 y *c*13-22 :1 ; ∑AGMI= ∑*t*-AGMI + ∑*c*-AGMI ; ∑AGS= 14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:0, 20:0, 21:0, 22:0, 23:0 y 24:0.

Hasta el momento, se conoce que para obtener incrementos en *n-3*AGPICL con dietas elevadas en concentrados, se necesita suministrar una fuente rica en *n-3*AGPICL, como es el aceite de pescado o microalgas (Scollan *et al.*, 2001; Dunne *et al.*, 2001). Pues, aunque se requiere información para entender la dinámica de BH de los *n-3*AGPICL, parece que su tasa se ve inhibida por elevadas concentraciones de *n-3*AGPICL durante tiempos prolongados.

Como consecuencia, la cantidad de LNA, *n-3*AGPICL (EPA + DHA) y DPA depositada en el LT cuando se alimenta con las dietas L10 y L15 supondría el 12% del LNA y el 24% de *n-3*AGPICL (9,5 mg EPA + DHA/100g músculo) requerido para ser un producto etiquetado como "fuente de" *n-3*AGPI (300 mg de LNA o 40 mg de EPA + DHA; EFSA, 2009). Dado que el DPA es el *n-3*AGPICL predominante en los animales terrestres y que puede convertirse fácilmente en EPA y DHA, posiblemente compartiendo algunos de sus efectos (Solakivi *et al.*, 2005; Holub *et al.*, 2011), se sugiere ampliamente que se incluya en el sumatorio de *n-3*AGPICL (Howe *et al.*, 2006; 2007; Vahmani *et al.*, 2017b; Ponnampalam *et al.*, 2018). En ese caso, la alimentación con las dietas L10 y L15 llevaría a 23 mg de *n-3*AGPICL + DPA por 100 g de carne, lo que ascendería a la mitad (57%) de la cantidad requerida para el etiquetado. Como se ha comentado, enriquecer la carne en *n-3*AGPICL para alcanzar dichos niveles, hasta la fecha, ha resultado efectivo sólo mediante la adición de aceite de pescado en una dieta de alto contenido en forraje, con un incremento de 32 a 53 mg/100 g carne (Scollan *et al.*, 2001). En todo caso, basándose en una ración de 150 g, la carne de ternera RG alimentada con las dietas L10 y L15 cubriría el 3 y el 6% (14% incluyendo DPA) de las necesidades diarias recomendadas por la EFSA (2009; 2010) para la ingesta de LNA (2 g por día) y *n-3*AGPICL (250 mg EPA + DHA por día).

Las acumulaciones de CLA total en el LT del presente estudio han sido bajas y comparables entre dietas (promedio de 10 mg de CLA total/100 g de carne, P>0,05, Tabla 6.10), pero aún así, estuvo dentro, o por encima, del rango observado para razas magras en diferentes estudios con suplementación de AGPI mediante semillas, revisados por Vahmani *et al.*(2017b). Es destacable que el contenido alcanzado de CLA en el presente estudio, sin embargo, fue mayor que el observado para la dieta SL (10%MS linaza) del Capítulo II (6,6 mg CLA/100g músculo), indicando de nuevo que la BH ruminal fue menos extensiva y que facilitó la acumulación de productos intermedios de la BH de los AGPI. Por tanto, podríamos decir que una porción de 150 g de filete de ternera RG

alimentada con cualquier dieta del presente estudio, proporcionaría una cantidad comparable de CLA total (promedio de 15 mg) que contribuiría en un 10% a la cantidad diaria propuesta por Sofi *et al.* (2010) (145 mg CLA/día) para observar efectos beneficiosos sobre la enfermedad cardiovascular aterosclerótica en humanos.

Lo más destacado de los resultados del perfil de *t*18:1 es que la alimentación mediante la dieta con el nivel superior de linaza (15%MS, L15) evitó la acumulación de *t*10-18:1 en el LT comparado con las otras (1,6 veces menor, P<0,01) (Tabla 6.10). Disminuir la acumulación de *t*10-18:1 podría ser un objetivo importante para obtener un perfil *t*18:1 potencialmente menos dañino y, puesto que las acumulaciones absolutas de TVA, presumiblemente asociado con efectos beneficiosos para la salud (Gebauer *et al.*, 2011; Dilzer y Park, 2012; Gómez-Cortés *et al.*, 2019), fueron similares entre las dietas actuales (un promedio de 23 mg de TVA/100 g de carne fresca), la alimentación con la dieta L15 podría ser la mejor alternativa. Sin embargo, como la cantidad acumulada de Σ*t*AGMI en el LT fue comparable entre dietas, y los efectos específicos de muchos isómeros *t*18:1 individuales sobre la salud son desconocidos o cuestionados, se requiere mayor conocimiento en esta área antes de hacer cualquier recomendación; y más aún si los *t*18:1 procedentes de rumiantes empiezan a considerarse como las fuentes principales de *t*AG en la dieta humana, tras la retirada de los *t*AG de origen industrial de la cadena alimentaria (Aldai *et al.*, 2013; Mapiye *et al.*, 2015; Menaa *et al.*, 2016; Vahmani *et al.*, 2020).

De entre los isómeros *t*18:1, se han realizado numerosos esfuerzos para aumentar el contenido de TVA en la carne de vacuno, por lo que es importante señalar que las acumulaciones de TVA alcanzadas en este experimento, están por debajo del rango de valores revisado por Vahmani *et al.*(2017b), procedente de distintos estudios en los que se agregaron diferentes tipos de semillas oleaginosas a las dietas de animales de diversas razas a niveles similares al empleado en el presente estudio. Lo que indica que, el rasgo genético de la raza RG que limita la deposición de GIM tuvo un gran efecto, puesto que la cantidad promedio de TVA en carne para las presentes dietas experimentales es del orden de la cantidad observada en animales genéticamente magros criados bajo un sistema de producción similar con un 3% de aceite de soja añadido (~4 y ~10 mg de TVA/100 g de carne para animales con doble musculatura y normales, respectivamente; Aldai *et al.*, 2010) o con un 6% de linaza (40 mg de TVA/100 g de carne para animales con doble musculatura; Raes *et al*., 2004c).

En cualquier caso, suplementar las dietas comerciales habituales de acabado de RG con niveles crecientes de linaza no varió el contenido de Σ*t*AGMI en el LT; pero aumentar el contenido graso, sustituir la cebada por el almidón y/o el mayor consumo de concentrado por parte de los animales, ha favorecido de algún modo la acumulación de *t*AGMI (87 mg promedio) respecto a los valores observados para la dieta SL en el ensayo del Capítulo II (42 mg Σ*t*AGMI/100 g de carne fresca); principalmente debido a la mayor acumulación de *t*10-18:1 (20 vs. 7 mg/100g músculo), ya que la de TVA fue similar (23 y 20 mg/100g músculo). En cualquier caso, de acuerdo con lo revisado por Vahmani *et al.* (2017b), la acumulación de Σ*t*AGMI y *t*10-18:1 en el LT a través de las presentes dietas, fue menor que la observada en gran número de ensayos mediante suplementación de dietas altas en concentrado con semillas oleaginos200fecto

El efecto sexo sobre las acumulaciones de AG deseables en el LT, no fue tan marcado como al comparar los perfiles en cuanto a las acumulaciones totales de ΣAGPI y ΣAGMI (P>0,05); sin embargo, habría que destacar que las hembras favorecieron el contenido de los *n-3*AGPICL individuales, EPA (P<0,05) y DHA (P<0,001), $CLA_{c9,t11}$ (P<0,01), ΣCLA (P<0,05) y ΣCLNA (P=0,014) en el LT; mientras que la carne de machos presentó un mayor contenido de LA (P<0,01), y el LNA (P>0,05) no se vio afectado por el sexo. En cuanto a los AGMI, las hembras mostraron una tendencia hacia una mayor acumulación de TVA (P=0,078) y un mayor contenido de OA (P<0,05) (principal *c*AGMI) y Σ*c*AGMI (P<0,05) en su carne.

Los resultados observados para las familias de CLA, nCLA y CLNA podrían estar relacionados con el mayor contenido graso en la carne de las hembras y con una mayor expresión del gen de la enzima stearoil-CoA desaturasa (Δ-9-desaturasa) en su tejido adiposo. Además, la mayor acumulación de *n-3*AGPICL en la carne de las hembras sugiere que presentan una mayor eficiencia de conversión (reacciones de elongación y desaturación), relacionado con algún aspecto hormonal, como se ha visto en estudios con humanos (Childs *et al*., 2008; Walker *et* al., 2014). Sin embargo, Ponnampalam *et al.* (2014a) reportaron un bajo impacto de factores como el sexo o la edad sobre los niveles de EPA y DHA en corderos, los que sí se vieron afectados en gran medida por el sistema de producción (Ponnampalam, 2014b). Esta característica podría ser interesante desde el punto de vista de calidad nutricional de la carne si se pretende una producción animal enfocada a enriquecer su contenido en estos AG deseables, ya que, las potenciales propiedades beneficiosas del $CLA_{c9,t11}$ y los *n-3*AGPICL son conocidas, y el *c*9,*t*11,*c*15-

18:3 (CLNA), por su parte, podría presentar unos beneficios para la salud similares a los del $CLA_{c9,t11}$ (Hennessy *et al.*, 2011; Bialek *et al.*, 2017). Por lo que, si el enriquecimiento de estos AG en la carne de terneras RG repercutiese en un incremento en su precio final, podría compensar la pérdida económica asociada al menor rendimiento productivo (menos peso canal y LT) de las hembras.

6.4.3.7. Implicaciones

La alimentación con niveles crecientes de semilla extrusionada de lino fue efectiva en el aumento de la cantidad de LNA y *n-3* depositada, pero la concentración acumulada fue limitada en cuanto a su contribución respecto a las recomendaciones de ingesta o requisitos de etiquetado. Los resultados concuerdan con nuestros ensayos previos expuestos en los Capítulos I y II y con un gran número de estudios donde la suplementación con semillas fue sustancialmente ineficaz en la modificación del contenido de ácidos grasos de la carne, especialmente el de *n-3*AGPICL (Vahmani *et al.*, 2017b). La clave de las estrategias de alimentación basadas en la inclusión de aceites o semillas oleaginosas (ricos en AGPI) en la dieta animal para mejorar el paso ruminal de AGPI, se debe al aumento del suministro de AGPI y a sus efectos tóxicos sobre los microbios del rumen, lo que a su vez reduce las tasas de los procesos de lipólisis y/o BH ruminal de AGPI, pues a no ser que el proceso se inhiba de alguna manera, la BH de los AGPI de la dieta es muy eficiente (Jenkins y Bridges, 2007; Lourenço *et al.* 2010; Buccioni *et al.* 2012).

Planteamos por tanto la hipótesis de que suplementar con niveles crecientes de LNA una dieta alta en concentrado que, además, a diferencia de nuestros ensayos previos, aportase más grasa (mayor EE) y fuese rica en maíz (en vez de cebada), daría como resultado niveles suficientes para ser inhibidores o tóxicos para las bacterias sensibles y conseguir acumulaciones sustanciales *n-3*AGPI en carne. Con este fin, el incremento en el nivel de linaza resultó efectivo hasta un nivel del 10%MS, observándose un efecto de saturación y la incapacidad de alcanzar los niveles requeridos para un etiquetado especial y/o una ingesta recomendada establecidos por las organizaciones internacionales (EFSA, 2009; FAO, 2009). Este efecto saturación ya fue documentado por Guerreo *et al.* (2018) al comparar el efecto del nivel de linaza (5-10-15 %MS) suplementado y la duración (30, 50, 70d) de la dieta de ovejas de desecho. Sin embargo,

el enriquecimiento observado en el contenido de LNA, *n-3*AGPI y productos intermedios de la BH de AGPI ($CLA_{c9,t11}$ y *t*AGMI) en la carne de RG del presente experimento, respecto a los ensayos de los Capítulos I y II, parece indicar que se ha logrado un ambiente ruminal más propicio para limitar la lipólisis y la BH, como se confirma de las mayores y menores relaciones de AGPI/AGS y *n-6/n-3*, respectivamente. De hecho, en el presente experimento, sí se ha observado el "cambio *trans*-10" (es decir, más *t*10-18:1 que *t*11-18:1) en la BH, asociado con variaciones en la población microbiana ruminal y resultante de la alimentación con dietas de alto contenido en concentrado/reductoras del pH (Klieve *et al.*, 2003; Leheska *et al.*, 2008; Aldai *et al.*, 2013; Mapiye *et al.*, 2015; Zened *et al.*, 2016). Esto se habría visto favorecido por la inclusión de maíz en la formulación de la dieta base en vez de cebada (contenido mejorado de carbohidratos rápidamente fermentables en el concentrado), lo que habría reducido el pH ruminal e inhibido la lipólisis (típicamente, la etapa limitante en las tasas de BH) (Van Nevel y Demeyer, 1996; Jenkins *et al.*, 2007; 2008), de acuerdo con los hallazgos de Bernard *et al.* (2016) en relación con la influencia de la fuente de almidón sobre las tasas de BH. Así, los mayores niveles de AGPI, probablemente alcanzados por un mayor consumo de concentrado, a pesar de no disponer de un sistema de alimentación controlada, habrían sido lo suficientemente altos como para inhibir el último paso de la BH (Lourenço *et al.*, 2010; Dewanckele *et al.*, 2018; Toral *et al.*, 2018) y acumular productos intermedios como *t*AGMI y $CLA_{c9,t11}$ en mayor medida que en los ensayos anteriores.

Sin embargo, una modificación exitosa del perfil de AG en la carne de ternera RG para alcanzar enriquecimientos sustanciales de los AG deseados, requerirá un método de protección más eficaz o formas de controlar las vías y extensión de la BH. Teniendo en cuenta que el método más eficaz hasta la fecha para proteger los AGPI es el tratamiento de semillas oleaginosas con formaldehído (Scott *et al.*, 1971; Jenkins *et al.*, 2008; Scollan *et al.*, 2014; Vahmani *et al.*, 2017b; Dugan *et al.*, 2018), cuya práctica no está permitida por varias legislaciones (Doreau *et al.*, 2010), y que los medios de protección mediante encapsulación o tratamiento químico, además de su elevado coste, están poco explorados en carne, se requiere buscar medios de protección para los AGPI más efectivos y de bajo coste (Vahmani *et al.*, 2017b). Sin perder de vista la necesidad de un período de cebo que permita la producción y comercialización de ternera RG de alta calidad, una de las estrategias más económicas con el fin de obtener enriquecimientos significativos de *n-3*AGPI en su carne, específicamente aquellos de CL y/o de sus productos de BH, podría

ser evaluar el efecto de la suplementación con linaza en combinación con variaciones en la proporción y/o la calidad del forraje, debido a la capacidad que poseen ciertos metabolitos secundarios de las plantas para influir sobre las tasas de lipolisis y BH (Vasta y Bessa, 2012; Morales *et al.*, 2015; Vahmani *et al.*, 2020).

6.5. CONCLUSIONES

El nivel de linaza suplementado en una dieta habitual de acabado de animales de raza RG no tuvo efecto sobre las características de producción animal, la calidad de la canal y la calidad organoléptica de la carne de ternera RG; sobre los que, contrariamente, sí se observó un marcado efecto sexo. Las hembras mostraron unas características de producción animal menos deseadas desde un punto de vista económico por presentar menores GMD y unos rendimientos de la canal más bajos; sin embargo, al tratarse de animales jóvenes de una raza de maduración tardía, no se encontraron diferencias significativas por efecto del sexo sobre la conformación y cobertura de grasa de la canal. Desde el punto de vista organoléptico, se requeriría información complementaria mediante análisis sensorial, pues las determinaciones fisicoquímicas indican que la carne de las hembras resultó más oscura y con mayores pérdidas por goteo (aspectos negativos desde el punto de vista tecnológico), pero unos valores para la terneza más aceptables.

En cuanto a los efectos sobre el perfil lipídico y, por tanto, sobre la calidad nutricional de la carne, el incremento en el nivel de linaza añadido a la dieta no ha modificado las tasas de BH de los AGPI, observándose similares proporciones y cantidades acumuladas de ΣAGS, ΣAGPI y Σ*t*AGM en el LT; alterando en cambio, su distribución individual. Aumentar el nivel de linaza suplementado en las presentes dietas ha sido efectivo para elevar la proporción y cantidad de LNA y Σ*n-3* en el LT hasta un nivel de 10% MS, a partir del cual no se observan mejoras en la acumulación de LNA en la carne ni en su relación *n-6/n-3*. Suplementar la dieta con un nivel de linaza al 15%MS sólo ha sido efectivo para reducir la acumulación de *t*10-18:1 en la carne, siendo la rentabilidad de esta acción, discutible, pues la alimentación con cualquier dieta del presente ensayo ha resultado en un contenido de *t*10-18:1 inferior al promedio observado en numerosos estudios de suplementación con dietas altas en concentrado. Se ha observado que elevar el nivel de linaza en la dieta altera las rutas de BH, causando incrementos en la deposición de intermedios propios de la BH del LNA, como son los nCLA (respecto a

CLA) y los isómeros *t*18:1 con el enlace *trans* más allá del carbono 11 (respecto al TVA y *t*10-18:1).

Debido al efecto sexo observado sobre el perfil de AG, y al numéricamente mayor contenido en GIM del LT de las hembras, su carne ha mostrado una mayor acumulación de EPA, DHA, $CLA_{c9,t11}$ y ΣCLNA, lo que puede ser interesante desde el punto de vista de calidad nutricional de la carne; pues sugiere que las hembras muestran mayor predisposición genética para la acumulación de estos AG.

Algo destacable de este estudio, es que se ha conseguido mejorar el contenido de LNA y *n-3*AGPI en el LT de animales de raza RG respecto a nuestro ensayo anterior (Capítulo II), logrando un mayor paso ruminal de AGPI y obteniéndose una carne magra con unas relaciones de AGPI/AGS y de *n-6/n-3* mejoradas, características de la carne producida en sistemas basados en pastoreo. La mejora lograda en el presente estudio en la acumulación de LNA y *n-3*AGPI en carne, puede contribuir a las recomendaciones diarias de ingesta, pero no ha sido suficiente para lograr incrementos en el contenido de *n-3*AGPICL y alcanzar los niveles establecidos por las organizaciones internacionales para obtener un etiquetado especial.

Consecuentemente, con el fin de conseguir enriquecimientos sustanciales de estos AG o de productos deseables de su BH (TVA y $CLA_{c9,t11}$) en los tejidos de animales RG, una acción futura de bajo coste, podría ser evaluar el efecto de suplementar con linaza una dieta típica de RG que permita la comercialización de carne de calidad, en combinación con variaciones en la proporción y/o la calidad del forraje, debido a la influencia que poseen algunos de sus metabolitos secundarios sobre las tasas de lipolisis y BH, favoreciendo el paso ruminal de AGPI.

CAPÍTULO IV

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

7. CAPÍTULO IV

EFECTO DEL CONSUMO DE PASTO EN LA FASE DE ACABADO DE TERNEROS DE RAZA RUBIA GALLEGA, SUPLEMENTADOS CON PIENSO ENRIQUECIDO EN LINAZA, SOBRE EL PERFIL LIPÍDICO DE SU CARNE, LAS CARACTERÍSTICAS DE PRODUCCIÓN ANIMAL, CALIDAD DE LA CANAL Y CALIDAD ORGANOLÉPTICA DE LA CARNE

7.1. INTRODUCCIÓN

El sistema de alimentación, además de influir sobre las características de producción animal y calidad de la canal, es uno de los factores determinantes a la hora de modificar el contenido graso y perfil lipídico de la carne, teniendo una influencia menor el género y genotipo (Scollan *et al.*., 2001; De Smet *et al.*., 2004; Raes *et al*., 2004a; Wood *et al.*, 2008; Woods, 2009; Shingfield *et al.*, 2013). Alimentar a los terneros con dietas altas en concentrados produce canales con mayor cobertura grasa e incrementos en el contenido de grasa intramuscular, un atributo valorado en el consumidor por la palatabilidad que aporta a la carne. Sin embargo, las dietas basadas en forrajes reducen el engrasamiento de la canal y la deposición de GIM, incrementando la proporción de fosfolípidos ricos en AGPI relativa a la proporción de lípidos neutros ricos en AGS (Wood *et al.*, 2008), por lo que la alimentación a base de forraje conduce a lo que se percibe como un perfil de AG más saludable.

Los consumidores perciben el sabor y el valor nutricional de la carne como aspectos importantes de su calidad organoléptica, pudiendo influir además en la decisión de compra. La calidad y el precio son factores clave que se tienen en cuenta cuando los consumidores compran carne de bovino; actualmente un segmento creciente de consumidores informados está más concienciado con el origen de los productos que

consume, no sólo desde el punto de vista de calidad nutricional sino también por aspectos relacionados con el bienestar animal. La tendencia es hacia la búsqueda de sistemas de manejo que sean más respetuosos con el medio ambiente y se está produciendo un cambio hacia la producción ecológica. Todo esto, además, está relacionado con el mayor conocimiento por parte del consumidor final por la transferencia realizada por la comunidad científica. En las últimas décadas, modificar el contenido graso y perfil lipídico de la carne ha sido objeto de varios estudios debido a la creciente preocupación del consumidor que considera muy relevante las implicaciones para la salud del consumo de carne de bovino, no sólo por el contenido sino por la calidad de la grasa que consume. Teniendo en cuenta que los productos de origen animal son la mayor fuente de lípidos en la dieta humana, se demandan, cada vez más, aquellos que poseen elevados niveles de AG con importantes funciones biológicas como los *n-3*AGPICL y determinados productos intermedios de la BH de los AGPI de la dieta, como son el TVA y el CLA. Con el fin de alcanzar de manera natural un producto percibido como más saludable, se han evaluado diversas estrategias para incrementar el contenido de estos AG y reducir el nivel de AGS, AG *trans* totales y colesterol en carne, considerándose la carne roja de rumiante enriquecida en *n-3*AGPICL una importante fuente de estos AG para las poblaciones que hacen un menor consumo de pescado y mariscos (Givens *et al*., 2006a, b; Dewhurst y Moloney, 2013; Ponnampalam *et al.*, 2018;).

Se han realizado diversos estudios comparando los efectos del sistema de alimentación animal sobre la composición de ácidos grasos de la carne, concluyéndose de manera general en varias revisiones, que las iniciativas para mejorar la deposición de *n-3*AGPICL se basan en sistemas de alimentación en pastoreo y/o dietas con un alto contenido en forrajes (Noci *et al.*, 2005; Alfaia *et al.*, 2009; Daley *et al.*, 2010; Pestana *et al.*, 2012). La mejora en el perfil lipídico mediante el pastoreo/dietas altas forrajes se ha asociado principalmente con la capacidad que poseen ciertos metabolitos presentes en el forraje para inhibir la primera etapa de la BH de los AGPI y/o modular la BH inhibiendo el último paso a 18:0 (Toral *et al.*, 2018; Vasta *et al.*, 2019); mostrando, además, una reducción favorable en la relación *n-6*/*n-3* y una menor deposición de grasa intramuscular. Similares resultados se han observado en terneros de raza RG al estudiar los efectos de la extensificación sobre el perfil lipídico de su carne, confirmándose la mejora en la composición de la GIM del LT en comparación con los sistemas intensivos o semiextensivos (Varela, 2002; Moreno, 2004; Moreno *et al.*, 2007b). Contrariamente, la

finalización en intensivo mediante dietas basadas en concentrados de granos de cereales, empleada para mejorar el rendimiento animal y la calidad de la canal, es de especial importancia en razas genéticamente magras como es la RG, favoreciendo la cobertura de grasa y la infiltración en el tejido muscular, para alcanzar los estándares del mercado; produciéndose, en cambio, una merma en la calidad lipídica de la carne debido al aumento en la proporción de AGS y al efecto desfavorable de las elevadas proporciones de LA en los piensos sobre el aumento en la relación *n-6/n-3* (Varela *et al.*, 2004; Ponnampalam *et al.*, 2006). A través de la inclusión de oleaginosas en la dieta animal, especialmente aquellas ricas en LNA, se podría contrarrestar esa disminución en la calidad del perfil lipídico de la carne. La eficacia de la suplementación con oleaginosas ricas en AGPI sobre la mejora en la acumulación de AGPI carne, estaría relacionada con el aumento de AGPI libres intactos y sus efectos tóxicos en los microbios del rumen, (Jenkins 2008) y a su vez reduce las tasas de lipólisis y/o BH ruminal de AGPI, proporcionando la deposición de precursores (LNA y TVA) para la posterior elongación y/o desaturación en *n-3*AGPICL y $CLA_{c9,t11}$. Mediante esta estrategia, sólo algunos autores han observado aumentos sustanciales de AGPI en la carne, particularmente de LNA (LaBrune *et al.*, 2008; Juárez *et al.*, 2011) al incluir semillas de lino extrusionado en dietas con altas cantidades en concentrado (conteniendo >70% granos de cereales) que ocasionan una reducción del pH ruminal, inhibiendo la lipólisis, que es la etapa limitante de la BH (Van Nevel y Demeyer, 1996; Jenkins *et al.*2007; 2008). Por otro lado, Noci *et al.* (2007) y Vahmani *et al.* (2017a) lograron aumentos en el contenido de LNA y productos intermedios de la BH de AGPI, como el TVA y el CLA al suministrar los concentrados suplementados con AGPI a elevados niveles (15% MS) antes del forraje en dietas basadas en una elevada proporción de forraje (pasto y heno, respectivamente), alcanzando así cantidades de AGPI suficientes para interrumpir la BH completa de AGPI, el último paso de la cual es sensible a la presencia de niveles elevados de AGPI (Lourenço *et al.*, 2010; Dewanckele *et al.*, 2018; Toral *et al.*, 2018).

Con el objetivo de estudiar el efecto de la inclusión semillas oleaginosas en el pienso suplementado a los terneros RG, manejados en semiextensivo, sobre el contenido de *n-3* y CLA, se planteó el proyecto de investigación que engloba los tres primeros Capítulos de la presente Tesis. De los resultados obtenidos, se concluye que la proporción de *n-3*AGPI en la carne de RG y su relación *n-6*/*n-3*, es mejorada mediante el uso de linaza (fuente rica en LNA), suponiendo un aporte a las cantidades diarias recomendadas, pero las

acumulaciones observadas han sido limitadas en cuanto a un posible requerimiento para un etiquetado distintivo, especialmente las de *n-3*AGPICL (Capítulos I, II y III). Estos resultados coinciden con los obtenidos en la mayoría de los estudios recientemente revisados que emplean estrategias de suplementación con oleaginosas (Vahmani *et al.*, 2017b; 2020), incluso empleando distintos métodos de protección ruminal (semillas enteras, extrusión, encapsulación o protección química) (Jenkins y Bridges, 2007; Dugan *et al.*, 2018). Los efectos de la protección química y la encapsulación han sido menos explorados en la producción de carne que en la de leche debido a sus elevados costes y a la baja recompensa económica en la producción de carne enriquecida con *n-3*AGPI.

La alimentación con dietas basadas en pastos y forrajes presentan numerosas ventajas, siendo sistemas de producción en base a fuentes de AGPI de bajo coste, más sostenibles y de contribución positiva a la seguridad alimentaria, permitiendo obtener alimentos de origen animal con un alto valor biológico para la salud humana, gracias a la capacidad de los rumiantes de transformar alimentos que no compiten con la alimentación humana como sí lo hacen los cereales (Mottet *et al.*, 2017).

Los forrajes producidos en las explotaciones constituyen la fuente de alimentos más barata (Beauchemin y Rode, 2012; Guyader *et al*., 2016; Tabacco *et al*., 2018). En cambio, la desventaja que supone la etapa de finalización en base a forrajes es el requerimiento de un periodo de tiempo mayor para alcanzar una canal y una carne de calidad aceptable para su comercialización, además de la necesidad de disponer de conocimientos y de superficie para la producción de pastos y forrajes de calidad en la explotación (Zea y Díaz, 1990).

El pasto es una fuente de LNA, uno de los principales AG del forraje fresco, pero existen factores que condicionan la composición de AG como son o el tipo de especie pratense, el estado de madurez y/o factores climáticos, y por tanto influirá en el perfil lipídico de los productos obtenidos. Por tanto, la calidad de éste influye notablemente sobre la composición de AG depositados en la carne, relacionado con la influencia que tiene la dieta sobre el ecosistema ruminal, no sólo en cuanto a las diferencias entre dietas basadas en granos o en forrajes frescos (Fernando et al., 2010; Grilli *et al.*, 2016) sino en cuanto a la presencia de ciertos metabolitos secundarios en las plantas (Vasta *et al.*, 2019), las cuales pueden causar alteraciones en la microbiota ruminal responsable de la lipólisis y BH ruminal de los AGPI de la dieta. Además, la forma de conservación de los forrajes afecta a la variación en el perfil de AG del forraje en estado fresco. El

aprovechamiento del forraje mediante ensilado ocasiona una reducción en la concentración de AGPI (Dewhurst *et al.*, 2003), igualmente, el proceso de secado para la obtención de heno reduce su contenido (Doreau y Poncet, 2000), siendo atribuidos a los procesos oxidativos que suceden durante los procesos de conservación.

Son numerosos los estudios que indican que el contenido en *n-3*, especialmente *n-3*AGPICL, y, en compuestos intermedios de la BH de AGPI como el CLA y el TVA, en la carne de rumiantes, incrementa con el tiempo en pastoreo, con la proporción de forraje en la dieta y con la calidad de la fuente de forraje (Scollan *et al.*, 2014; Vahmani *et al.*, 2017b; Ponnampalam *et al.*, 2018).

Con la finalidad de aprovechar la alta capacidad de producir pastos y forrajes que le confieren las características agroclimáticas a Galicia, es necesario avanzar en el conocimiento acerca de la productividad animal y el efecto de su consumo, sobre las características de la carne alimentados en sistemas que incluyen pastos. Con el objetivo de complementar la información obtenida en los ensayos realizados mediante suplementación con semillas oleaginosas de la dieta típica de acabado de terneros RG, manejados en semiextensivo, cuyos resultados se expusieron en los Capítulos anteriores, se planteó un último ensayo para estudiar el efecto del consumo de pasto en la fase de acabado.

7.2. MATERIAL Y MÉTODOS

7.2.1. Diseño experimental y manejo animal

El presente experimento se desarrolló en el Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (CIAM, A Coruña, España) siguiendo rigurosamente la normativa europea en relación con el bienestar de los animales de experimentación (DOUE, 2010). Se emplearon 24 terneros machos de raza RG del rebaño experimental del CIAM. Los partos fueron concentrados en el otoño, de modo que los terneros permanecieron con sus madres aprovechando el pasto de primavera, siendo amamantados libremente y manejados en pastoreo rotacional en avance, divididos en subparcelas sembradas previamente en otoño, con una mezcla de raigrás inglés (*Lolium perenne*), trébol blanco (*Trifolium repens*) y violeta (*Trifolium pratense*), siguiendo las prácticas agronómicas habituales en el CIAM (Met. Gral., 3.2.1.1). Al alcanzar los 7 meses de edad, los animales fueron bloqueados por su peso (PN) y fecha al nacimiento, clasificándolos aleatoriamente en tres grupos (8

animales/grupo) según el sistema de manejo empleado para el acabado de los terneros hasta su sacrificio (300 d): i) extensivo, P: pastoreo con lactancia materna sin ningún tipo de suplemento hasta el sacrificio, ii) semiextensivo en pastoreo, LP: pastoreo con lactancia materna y suplementación con pienso enriquecido con semilla de linaza durante 90 d, y iii) semiextensivo en cebadero, LC: destetados y llevados a cebadero donde se suplementaron con pienso enriquecido con semilla de linaza y heno durante 90d (Fig. 7.1). Los terneros fueron pesados al nacimiento y quincenalmente durante todo el ensayo para calcular las ganancias medias durante las etapas de pastoreo (GMD_P), de acabado (GMD_A) y del periodo total de ensayo GMD_T).

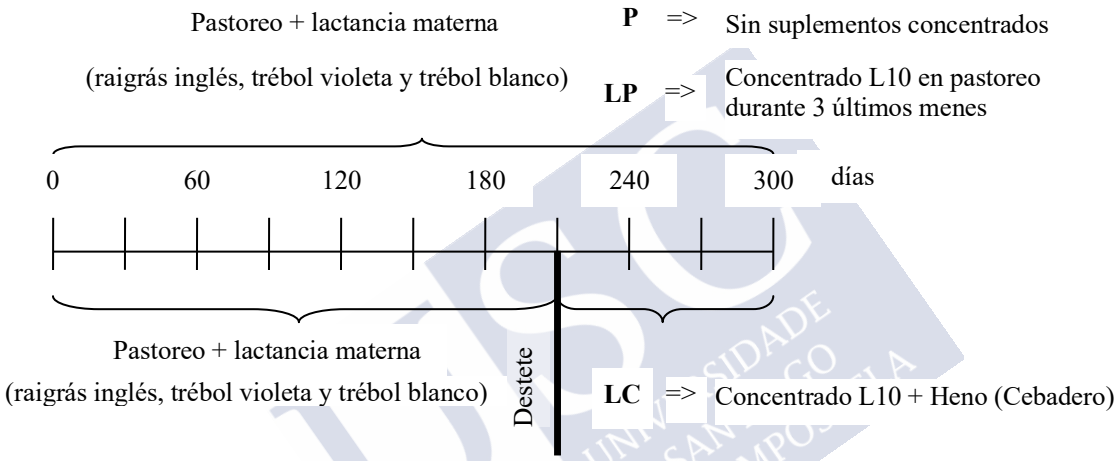


Figura 7.1. Diagrama del diseño y duración del experimento con terneros de raza Rubia Gallega manejados bajo un sistema extensivo (P) o en dos modalidades del semiextensivo mediante la suplementación de un concentrado enriquecido en linaza (10%MS) durante la fase de acabado en la propia parcela de pastoreo (manteniendo lactancia materna) (LP) o en el establo (LC)

7.2.2. Dietas

Durante los 90 días previos al sacrificio, los terneros de los grupos P y LP permanecieron en el pasto (raigrás inglés con trébol blanco y violeta) manteniendo la lactancia materna. La carga ganadera utilizada en la primera rotación del pastoreo de primavera fue de 3 animales/ha, descendiendo progresivamente en las sucesivas rotaciones hasta 1 animal/ha en el último pastoreo de otoño. Las subparcelas de pastoreo se diseñaron para que en todas ellas los terneros tuviesen acceso a zona arbolada y agua fresca. La superficie de cada subparcela tuvo un promedio de 1257±471 m^2, con un tiempo de ocupación entre 2-4 días. Los animales entraban en cada subparcela cuando la altura del pasto era de 15 cm, abandonándola cuando la altura era de 8 cm. La altura del

pasto y su biomasa pre- y post-pastoreo fueron medidas y estimadas, respectivamente, como se indica en la sección de metodología general. La ingesta diaria de hierba (MS) se estimó como la diferencia entre la biomasa de hierba en pre- y post-pastoreo. Los terneros del grupo P no consumieron ningún tipo de suplemento concentrado, recibiendo ensilaje de hierba *ad libitum* de manera complementaria cuando la disponibilidad de pasto fue limitada; mientras que los del grupo LP recibieron un suplemento de pienso enriquecido en linaza extrusionada (100 g/kg MS), ofrecido *ad libitum* diariamente, a primera hora de la mañana, en la parcela de pastoreo mediante un comedero de campo (el pienso era consumido, casi sin rechazos, a los 15-30 min). La ingesta de concentrado se estimó como la diferencia entre la cantidad ofrecida y la rechazada por cada grupo experimental.

Los terneros del grupo LC, fueron destetados de sus madres y posteriormente estabulados durante 90 d en cebadero, el cual estaba constituido por suelos duros, camas de paja, buena ventilación y espacio suficiente para que todos los animales tuviesen acceso libre a los alimentos y al agua fresca, al mismo tiempo. El concentrado fue el mismo que el consumido por los terneros del grupo LP y ofrecido *ad libitum* diariamente con el heno, estimándose la ingesta como la diferencia entre la oferta y el rechazo diario del grupo. El pienso concentrado empleado en este experimento fue proporcionado por Progando S.L. (A Coruña, España), conteniendo el producto comercial *Extrulin* 70 (E_{70}) (con el 70% de semilla extrusionada de lino y un contenido graso del 28%) en un nivel del 15% (MS), lo que supuso un aporte de 40g/kg (MS) de grasa y un contenido de 100 g/kg (MS) de linaza extrusionada en el concentrado final.

7.2.3. Análisis de alimentos

La composición química de las muestras de concentrado enriquecido, heno y hierba fresca, recogidas quincenalmente, fue analizada por el Laboratorio Agrario y Fitopatológico de Galicia. Los contenidos de materia seca y orgánica se obtuvieron mediante gravimetría, y se empleó la metodología ISO correspondiente a alimentos animales para las determinaciones de: calcio, fósforo total, proteína bruta (PB), fibra bruta (FB), extracto etéreo (EE), cenizas, fibra ácido detergente (FAD), lignina ácido detergente (LAD) y fibra neutro detergente (FND) (Met. Gral., 3.4.1 y 3.4.2). La energía metabolizable y energía neta se calcularon de acuerdo con las fórmulas indicadas por el NRC (2000).

El perfil de ácidos grasos de los alimentos ofertados a los terneros se determinó como se describe en la sección de Metodología General de la presente Tesis (3.4.3.1 y 3.4.3.2.2). De forma breve el procedimiento de análisis de los AG de los alimentos consistió en la determinaron en muestras secas, molidas (1mm), envasadas al vacío (99%) (Tecnotrip EV-15-1CD, Terrasa, España) que permanecieron congeladas (-20ªC) hasta el día de su análisis. Los lípidos totales se extrajeron transformando los AG en sus ésteres metílicos (AGME) mediante una sola etapa, siguiendo la metodología propuesta por Sukhija y Palmquist (1988) y modificada por Alves *et al.* (2008), para realizar la posterior separación, identificación y cuantificación de los AGME mediante cromatografía de gases (GC) (Met. Gral., 3.4.3.3).

7.2.4. Sacrificio y toma de muestra

Los animales fueron trasladados a un matadero comercial a 4 km del CIAM y ambos procedimientos de sacrificio y toma de muestras del *longissimus thoracis* (LT) y la grasa subcutánea (GSC), se llevaron a cabo bajo las condiciones descritas en la sección de Metodología General de la presente Tesis (3.5). Se registraron en matadero los siguientes parámetros: el peso vivo del animal (PV), el peso de la canal en caliente (PCC), el rendimiento canal y su clasificación SEUROP para la conformación (CS) y cobertura de grasa (FC) (DOUE, 2006). A las 24 horas post sacrificio, se extrajo el lomo entre la 5ª y 10ª costilla de la canal, y de esta pieza se diseccionó el LT para realizar las determinaciones analíticas.

7.2.5. Análisis fisicoquímico del *Longissimus thoracis*

Los atributos de calidad organoléptica de la carne se analizaron según se describe en la sección de Metodología General de la presente Tesis, mediante la evaluación de los parámetros fisicoquímicos (3.6.1) y de textura (3.6.2) del LT.

Para la determinación de la composición química (humedad, cenizas, grasa y proteína) se siguió la metodología indicada por Moreno *et al.* (2007a) utilizando un espectrofotómetro de infrarrojo cercano (NIRS) (Foss Tecator NIRS Neotec 6500, Denmark). Las mediciones del $pH_{24h,pm}$, los parámetros instrumentales de color (luminosidad, índice de rojo, índice de amarillo, croma y tonalidad), los pigmentos

hemínicos (mioglobina y hematina), la capacidad de retención de agua (CRA), medida mediante las pérdidas por presión (PP), por goteo (PG) y por cocción (PC), así como los análisis de textura, mediante el test Warner-Bratzler (WB) y el perfil de textura (TPA), se realizaron de acuerdo con la metodología descrita por Franco *et al.*(2009).

7.2.6. Análisis de los ácidos grasos del *longissimus thoracis*

Los métodos de extracción, derivatización, purificación y análisis cromatográfico de los AG del LT se describen en la sección de Metodología General de la presente Tesis (3.7.1.2, 3.7.2.2, 3.7.3 y 3.7.4.2). La grasa intramuscular (GIM) del LT se extrajo con una mezcla 2:1 chloroformo:metanol, siguiendo el método de Folch *et al.* (1975). Los ácidos grasos metilados (AGME) se obtuvieron mediante reacciones separadas catalizadas por un ácido (MeOHCl, 3N) y por una base ($NaOCH_3$, 0,5N), de acuerdo con la metodología indicada por Kramer *et al.* (1997; 2008). La metilación básica separada se llevó a cabo para evitar/corregir la isomerización del ácido linoleico conjugado (CLA) (Cruz-Hernández *et al.*, 2004; De la Fuente *et al.*, 2006).

La identificación y cuantificación de los AGME se realizó mediante patrones comerciales y el método de área de pico y patrón interno (Met. Gral., 3.7.5). Los resultados de AG se expresaron como porcentaje del total de AG identificados y, en algún caso específico, se han calculado las cantidades acumuladas en el LT (mg/100g músculo) (Tabla 7.10).

7.2.7. Análisis estadístico

Los datos se analizaron usando el procedimiento PROCMIXED de SAS (versión 9.2, SAS 2009) y el modelo estadístico incluyó la dieta como efecto principal. Los terneros fueron alimentados en grupo, por tanto, la ingesta de alimento no se analizó estadísticamente. El resto de los parámetros evaluados (rendimiento animal y de canal, calidad de carne y AG) se analizaron considerando el animal individual como la unidad experimental. El método de Kenward-Rodgers se usó para calcular los grados de libertad del denominador, y las medias se separaron usando la opción PDIFF de SAS. Las diferencias se consideraron significativas para $P<0,05$.

7.3. RESULTADOS

7.3.1. Composición de los alimentos

La composición química y nutricional de los alimentos consumidos por los animales durante el período de acabado se resume en la Tabla 7.1. La formulación del concentrado contuvo ~ 43% de granos pequeños de cereales (cebada, trigo) y ~ 17% de subproductos como fuentes de fibra (nota a pie de Tabla 7.1).

Los valores medios (en %MS) de las muestras de pasto mostraron un contenido de 89,95 para MO, de 15,75 para PB, de 20,20 para FB, de 24,24 de FAD y de 48,72 para FND, conjuntamente, con un valor de energía metabolizable de 9,84 MJ/kgMS, lo cual evidencia un moderado-alto valor proteico y energético. El heno mostró un valor medio (en %MS) de 10,43 PB, 31,70 FB, 37,70 FAD y 79,25 FND y un contenido energético de 7,53 MJ/kgMS, mostrando un valor proteico alto para este tipo de forraje.

Tabla 7.1. Composición química (% MS) media de las fuentes de alimento suministradas a los terneros de raza Rubia Gallega en los diferentes sistemas de manejo experimental

	Concentrado	Heno	Pasto fresco
Composición química (% MS)			
MS (g/100 g materia fresca)	89,30	90,79	14,75
MO	-	91,77	89,85
PB	15,63	10,43	15,75
FB	6,95	31,70	20,20
EE	6,08	2,19	4,32
FAD	9,59	37,90	24,24
FND	20,77	79,25	48,72
ME (MJ/kg MS)	12,32	7,53	9,84
ENg (MJ/kg MS)	5,58	1,72	3,71
ENm (MJ/kg MS)	8,31	4,01	6,19

MS: materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; FB: fibra bruta; EE: extracto etéreo; FAD: fibra ácido detergente; FND: fibra neutro detergente; EM: energía metabolizable; ENg: energía neta para ganancia; ENm: energía neta para mantenimiento.

[a] Cuya composición de ingredientes (%MS): 33,1 cebada, 15,9 de *Extrulin 70* (producto comercial 100% extrusionado que incluye el 70% de granos de lino Tradilin®, 33% de otros cereales y posee un 28% de contenido graso), 10,7 harina de extracción de soja tostada (44% proteína cruda), 10,2 trigo, 7,5 pulpa de remolacha, 4,9 cascarilla de soja, 4,9 salvado, 4,2 harina de maíz, 3 glicerol, 1,5 carbonato cálcico, 1,0 bicarbonato de sodio, 0,96 fosfato bicálcico, 0,7 cloruro de sodio y 0,8 fungicida/bactericida. Esta ración fue suplementada con 1,1% de un mix vitamínico conteniendo (en base alimentada): vitamina A (12060 UI/Kg), vitamina D3 (2500 UI/Kg), vitamina E (12 ppm).

El concentrado ofrecido a los terneros de los grupos LP y LC contuvo un mayor EE (6,08%) y un elevado aporte energético (12,32, 5,58 y 8,31 MJ/kg MS de EM, ENg y

ENm, respectivamente), superior a cualquier fuente de forraje, mostrando el pasto fresco (EE=4,32%MS; Em=9,84, ENg=3,71 y ENm=6,19 MJ/kg MS) unos valores superiores a los del heno (EE=2,19%; Em=7,53, ENg=1,72 y ENm=4,10 MJ/kg MS). Sin embargo, teniendo en cuenta que se esperaba una ingesta variable de los alimentos ofrecidos entre los terneros de los distintos sistemas de acabado (Tabla 7.3), el aporte de energía metabolizable en la ración final diaria fue similar entre grupos, aunque ligeramente menor para los animales que sólo consumieron pasto fresco (~ 97, 108 y 104 MJ/animal-día para P, LP y LC, respectivamente). El aporte de grasa diario, en cambio, fue mayor en la ración de los animales suplementados con pienso respecto a los manejados en extensivo (P, ~424 g lípidos/animal-día), siendo algo inferior en los que estuvieron estabulados (LC, ~492 g lípidos/animal-día) con relación a los suplementados en el campo (LP, ~514 g lípidos/animal-día).

En cuanto al contenido total de AG (AG_T) y su composición en las fuentes de alimento ofertadas, cuyos valores medios se muestran en la Tabla 7.2, se observa que el concentrado es el alimento de mayor contenido en AG_T, seguido del pasto fresco y por último el heno (4,75 vs. 2,21 vs. 0,55 %MS, respectivamente).

Tabla 7.2. Composición promedio de ácidos grasos (% de AG totales) media de las fuentes de alimento suministradas a los terneros de raza Rubia Gallega en los diferentes sistemas de manejo experimental

	Concentrado	Heno	Pasto fresco
AG_T (g/100g MS alimento)	4,75	0,55	2,21
Composición de ácidos grasos (% de AG totales)			
16:0	18,83	36,17	14,61
18:0	4,22	6,00	0,98
*c*9-18:1	26,66	15,20	1,33
18:2*n-6* (LA)	25,75	21,87	19,54
18:3*n-3* (LNA)	23,51	14,69	58,43
AGS	23,05	44,88	19,50
AGMI	27,03	16,26	1,76
AGPI	50,29	36,84	78,73
AGPI/AGS	2,18	0,82	4,10
n-6/*n-3*	1,14	1,44	0,33

LA: ácido linoleico; LNA: ácido α-linolénico; ∑AGS (ácidos grasos saturados)= 14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:0, 20:0, 22:0 y 24:0 ; ∑AGMI (ácidos grasos monoinsaturados)= *c*9-16:1, *c*9-17:1, *c*9-18:1 y *c*11-20:1; ∑AGPI (ácidos grasos poliinsaturados)= 18:2*n-6*, 18:3*n-3*, 20:2*n-2* y 20:3*n-3*.

En cuanto a las fuentes de forraje, el pasto fresco consumido por los terneros manejados en extensivo y en semiextensivo con suplementación durante el pastoreo, contuvo mayor proporción de AGPI que el heno consumido por los animales estabulados (78 vs. 37%, respectivamente). Sin embargo, el concentrado suplementado en ambos sistemas semiextensivos mostró una proporción intermedia de AGPI (50%), relacionado con la inclusión de linaza extrusionada en el pienso base, una fuente oleaginosa rica en AGPI y, especialmente, en LNA. Debido a los otros ingredientes del concentrado, la composición de AGPI se distribuyó casi al 50% entre el LA (26%) y LNA (24%), mientras que la proporción de LNA en el pasto fresco fue superior, llegando a ser el AG principal (58%). El heno consumido por los animales del grupo LC fue el alimento con mayor proporción de AGS, siendo el 16:0 su constituyente principal y AG mayoritario (36%).

Teniendo en cuenta la ingesta realizada por los terneros de cada grupo experimental de cada uno de los alimentos ofertados (Tabla 7.3), la ración final diaria de los animales en extensivo aportó cantidades de AGPI (~172 g AGPI/animal-día para P) ligeramente menores que las de los animales de semiextensivo en cebadero (~185 g AGPI/animal-día para LC), siendo las de aquellos suplementados durante el pastoreo, las de mayor aporte (~204 g AGPI/animal-día para LP). El consumo diario de LNA, en cambio, fue superior en los animales manejados en extensivo (~127 g LNA/animal-día para P), aunque con menor diferencia respecto al sistema semiextensivo suplementado en campo (~113 g LNA/animal-día para LP) que al suplementado en cebadero (~86 g LNA/animal-día para LC).

7.3.2. Características de producción animal y calidad de la canal

Los valores medios de los parámetros medidos para evaluar el efecto del sistema de acabado sobre las características de producción animal y calidad de la canal se muestran en la Tabla 7.3. Durante la fase de pastoreo, común a los tres sistemas de manejo hasta los 7 meses de edad, las diferencias en la GMD_P mostraron una baja significación (P=0,043), observándose pesos similares al comienzo de la fase de acabado (P7meses= 265 ± 32 kg) entre los terneros de los diferentes grupos experimentales. Durante el período de acabado, los terneros manejados en extensivo (P) consumieron pasto fresco exclusivamente (9,87 kg MS/animal-día), mientras que aquellos con libre acceso al concentrado enriquecido en linaza mediante comederos en campo (LP)

consumieron aproximadamente 2 kg menos de concentrado al día (5,71 kg MS/animal-d) y mayor cantidad de forraje (3,81 kg MS/animal-d de pasto fresco) respecto a los suplementados en cebadero (LC, 7,61 y 1,34 kg MS/animal/-d de concentrado y heno, respectivamente). Por tanto, aunque los animales de los sistemas semiextensivos (LP y LC) fueron finalizados con dietas altas en concentrado, su proporción respecto al forraje fue menor en la dieta de los terneros suplementados en campo (LP~60:40 %MS) en comparación con los finalizados en cebadero (LC~85:15 %MS).

Tabla 7.3. Efecto del tipo de acabado sobre las características de producción animal y calidad de la canal de terneros de raza Rubia Gallega

	Sistema de acabado				
	P	LP	LC	SEM	P*value*
Características de producción animal					
PN (kg)	44,39	47,79	46,64	1,816	0,414
GMD_P (kg/d)	0,99^{b}	1,17^{a}	1,10^{ab}	0,056	0,043
P7meses (kg)	255,25	267,58	265,13	6,876	0,198
IP (kg MS/animal/d)	9,87	3,81	-		
IC (kg MS/animal/d)	-	5,75	7,61		
IH (kg MS/animal/d)	-	-	1,34		
GMD_A (kg/d)	1,02^{b}	1,33^{a}	1,35^{a}	0,077	0,007
GMD_{TOTAL}	1,01^{b}	1,27^{a}	1,22^{a}	0,063	0,003
PV (kg)	342,86^{b}	396,14^{a}	407,93^{a}	10,32	0,000
Calidad de la canal					
PCC (kg)	175,71^{b}	214,29^{a}	208,43^{a}	6,337	0,000
Rdto.Canal (%)	50,08^{b}	52,95^{a}	49,72^{b}	0,686	0,004
SEUROP-CS	7,57	8,00	7,14	0,247	0,062
SEUROP-FC	4,57^{b}	6,79^{a}	7,14^{a}	0,321	<,0001
PesoLomo (kg)	3,80^{b}	5,49^{a}	4,47^{b}	0,380	0,017
Rdto.Chuletero (%)	73,41^{b}	74,67^{a}	73,44^{b}	0,600	0,039
LT (5-10^{a} costilla) (g)	1154,36^{c}	1558,86^{a}	1340,14^{b}	76,222	0,003

P: extensivo (pastoreo); LP: semiextensivo con suplementación de concentrado (linaza extrusionada al 10% MS) durante el pastoreo; LC: semiextensivo con suplementación de concentrado (linaza extrusionada al 10% MS) en cebadero.

$^{a.b.c}$ Las medias dentro de la misma línea con diferentes superíndices difieren significativamente (P≤0,05). SEM= error estándar de la media.

PN: peso al nacimiento, GMD_P: ganancia media diaria para el periodo de pastoreo; P7meses: peso al inicio del período de cebo; IC: Ingesta de concentrado; IH: Ingesta de heno; GMD_A: ganancia media diaria para el periodo de acabado; GMD_{TOTAL}: ganancia media diaria total; PV: peso vivo al sacrificio; PCC: peso canal en caliente.

[1]Rendimiento canal, calculado como RC = PCF/(PV x100), siendo PCF= peso canal en frío (PCF=PCCalientex0,98).

SEUROP-CS (escala conformación de canal)= 15 para E^{+} hasta 1 para P^{-}; 6=O^{+}; 8=R

SEUROP-FC (escala cobertura de grasa de la canal)= 1-15; 7= 3^{-}; 8=3.

Finalmente, los terneros que permanecieron en extensivo sin suplementación de pienso (P), mostraron valores inferiores de ganancia media diaria durante el período de

acabado (GMD_A= 1,02 kg/animal-día, P<0,01) y, por tanto, durante el período total (GMD_T= 1,01, kg/animal-día, P<0,01), alcanzando los pesos al sacrificio más bajos (PV= 343 kg; P<0,001) en comparación con los animales suplementados con pienso durante los 90 d previos a su sacrificio (valores promedio de GMD_A= 1,34 y GMD_{TOTAL}= 1,24 kg/animal-día, y de PV= 402 kg, para los grupos LP y LC, respectivamente).

Este efecto se tradujo parcialmente a las características de calidad de la canal, ya que los terneros de pastoreo que sólo consumieron hierba fresca (P) alcanzaron también los menores pesos de la canal (PCC= 176 kg; P<0,001) y las puntuaciones más bajas para su cobertura de grasa (SEUROP-FC= 4,57; P<0,001) respecto a los animales manejados en semiextensivo (valores promedio de PCC= 211 kg y FC= 6,77, para LP y LC). Sin embargo, el rendimiento canal, el peso del lomo y el rendimiento chuletero de los terneros manejados en extensivo (P) fueron comparables a los de aquellos animales que consumieron pienso en el cebadero (LC) (valores promedio de Rdto.Canal= 50%, PesoLomo= 4,13 kg y Rdto.Chuletero= 73%, para P y LC) y significativamente menores que los de los terneros suplementados en campo (LP) (Rdto.Canal= 53%, P<0,01; PesoLomo= 5,49 kg, P<0,05; Rdto.Chuletero= 74,67%, P<0,05); mostrando éstos además, el mayor peso del músculo LT frente a LC y LP (1558,86, 1340,14 y 1154,36 g para LP, LC y P, respectivamente; P<0,01). Los terneros manejados en extensivo (P) y en semiextensivo con suplementación de pienso durante el pastoreo (LP) mostraron una clasificación comparable en cuanto a la conformación de sus canales (CS= 7,78, valor promedio para P y LP), y superior a la de los animales que fueron suplementados en el cebadero (dieta LC) (CS=7,14), pero sin observarse diferencias significativas entre ellos (P=0,062).

7.3.3. Características fisicoquímicas del *Longissimus thoracis*: calidad organoléptica

Los resultados de las determinaciones de composición química, $pH_{24h,pm}$, color y CRA del LT, obtenidos por efecto del sistema de manejo, se muestran en la Tabla 7.4. El tipo de acabado de los terneros RG mostró efectos significativos sobre la composición química del LT y afectó ligeramente a algunos parámetros de la medida instrumental de color. Así, la carne procedente de los terneros manejados en extensivo (P) mostró una mayor proporción de agua (78%; P<0,001) y menor de grasa (0,98%; P<0,01) que la de los animales suplementados con pienso, independientemente de si el concentrado se

ofreció en la parcela de pastoreo (LP) o en el cebadero (LC), y sin diferencias entre estos últimos grupos (76,5 % de humedad y 2,01% de grasa, valores promedio para las dietas LP y LC); presentando además, la carne de terneros en extensivo, valores ligeramente menores para el índice de amarillo (7 para P frente a 8,4, valor medio para LP y LC) y el croma (17 para P frente a 19, valor medio para LP y LC) (P<0,05). Contrariamente, los valores observados en el LT del $pH_{24h,pm}$, el contenido en pigmentos y las pérdidas determinadas para evaluar la CRA no han mostrado diferencias significativas por efecto del sistema de manejo empleado (P>0,05).

Tabla 7.4. Efecto del tipo de acabado sobre las características fisicoquímicas del *longissimus thoracis* de terneros de raza Rubia Gallega

	Sistema de acabado				
	P	LP	LC	SEM	P*value*
Composición química (%)					
Humedad	77,77[a]	76,84[b]	76,36[c]	0,198	<,0001
Cenizas	1,18	1,16	1,20	0,021	0,532
Grasa	0,98[b]	1,77[a]	2,14[a]	0,199	0,002
Proteína	21,94	22,15	22,09	0,162	0,639
$pH_{24h,\ pm}$	5,68	5,59	5,56	0,289	0,848
Color del LT					
Luminosidad (L)	36,55	37,78	38,78	2,659	0,357
Índice de rojo (a*)	15,01	16,89	16,90	3,681	0,717
Índice de amarillo (b*)	6,99[b]	8,57[a]	8,25[a]	0,445	0,040
Croma ($\sqrt{(a^{*2} + b^{*2})}$)	16,63[b]	19,07[a]	18,98[a]	0,629	0,014
Tono (tan-1(b*/a*))	24,45	26,69	25,37	0,746	0,117
Mioglobina (mg/g músculo)	3,89	3,74	3,45	0,166	0,602
Hematina (µg/g músculo)	151,15	145,11	133,83	6,458	0,602
Capacidad de retención de agua (%)					
Pérdidas por presión (PP)	26,62	27,16	26,64	0,631	0,156
Pérdidas por goteo (PG)	3,70	3,56	3,27	0,170	0,203
Pérdidas por cocción (PC)	22,19	21,13	22,75	0,723	0,286

P: extensivo (pastoreo); LP: semiextensivo con suplementación de concentrado (linaza extrusionada al 10% MS) durante el pastoreo; LC: semiextensivo con suplementación de concentrado (linaza extrusionada al 10% MS) en cebadero.
[a.b.c] Las medias dentro de la misma línea con diferentes superíndices difieren significativamente (P≤0,05). SEM= error estándar de la media.

Los valores medios de los parámetros de textura del LT, obtenidos para cada tratamiento experimental mediante los test WB y TPA, se muestran en la Tabla 7.5. La terneza objetiva (fuerza máxima de corte WB) resultó ligeramente afectada por el sistema

de manejo empleado para la finalización de los teneros RG (P=0,025). Los sistemas semiextensivos mostraron valores numéricamente menores para la fuerza de corte WB en el LT comparado con el sistema extensivo (47N para P), pero sólo la suplementación del pienso en cebadero resultó en un valor estadísticamente más bajo (38N para LC), mostrando la suplementación en campo, un valor intermedio (43N para LP). Sin embargo, ninguno de los atributos de textura medidos por el TPA (P>0,05) se vio afectado por el sistema de manejo empleado.

Tabla 7.5. Efecto del tipo de acabado sobre los parámetros de textura del *longissimus thoracis* de terneros de raza Rubia Gallega

	Sistema de acabado				
	P	LP	LC	SEM	P*value*
Test Warner-Braztler					
Fuerza máxima de corte (N)	46,61[a]	42,86[ab]	37,71[b]	3,272	0,025
Test TPA					
Elasticidad (cm)	0,45	0,44	0,43	0,005	0,052
Gomosidad (N)	105,84	106,34	98,09	4,960	0,321
Cohesividad	0,56	0,55	0,55	0,007	0,061
Masticabilidad (N-cm)	47,98	47,19	42,77	2,327	0,165

P: extensivo (pastoreo); LP: semiextensivo con suplementación de concentrado (linaza extrusionada al 10% MS) durante el pastoreo; LC: semiextensivo con suplementación de concentrado (linaza extrusionada al 10% MS) en cebadero.
[a.b.c] Las medias dentro de la misma línea con diferentes superíndices difieren significativamente (P≤0,05). SEM= error estándar de la media.
WB: Warner-Bratzler; TPA: análisis del perfil de textura.

7.3.4. Composición de ácidos grasos del *longissimus thoracis*: calidad lipídica

7.3.4.1. Contenido total de grasa y Ácidos Grasos Poliinsaturados (AGPI)

En la Tabla 7.6 se muestran los valores medios del contenido total de lípidos y AG totales (AG_T) para cada sistema de manejo, así como del perfil de AGPI. La cantidad de lípidos depositados en el LT se vio significativamente afectada por la dieta de acabado, mostrando un contenido más bajo de grasa intramuscular (GIM) (P<0,01) y AG_T (P=0,014) la carne de los terneros criados en extensivo (GIM= 1,4% y AG_T= 0,81% para P) comparado con la procedente de animales que consumieron pienso enriquecido (valores promedio de GIM= 2% y AG_T= 1,3%, para LP y LC).

En cuanto a la composición de AGPI en el LT, la suplementación proporcionada a los terneros manejados en semiextensivo (LP y LC) mediante un concentrado enriquecido en linaza, respecto a los de extensivo (P), disminuyó significativamente la proporción de los *n-6* individuales de cadena larga, el 20:3*n-6* (0,44%, valor promedio para LP y LC vs. 0,66% para P; P<0,001) y el 20:4*n-6* (1,82%, valor promedio para LP y LC vs. 3,08% para P; P<0,001). En cambio, la ligera reducción observada en la proporción de Σ*n-6* (P<0,05) de los grupos con pienso (LC y LP) respecto al sistema extensivo (P), sólo fue significativa para los terneros que consumieron concentrado en cebadero (LC) (12 vs. 9% de Σ*n-6*); manteniéndose la proporción del LA, el *n-6* mayoritario, inalterada por el efecto del sistema de manejo (valor promedio de 7,59%; P>0,05).

Tabla 7.6. Efecto del tipo de acabado sobre la composición de ácidos grasos poliinsaturados (%del total de AG) del *longissimus thoracis* de terneros de raza Rubia Gallega

	Sistema de acabado				
	P	LP	LC	SEM	P*value*
GIM (g/100g carne)	1,36[b]	1,99[a]	2,07[a]	0,170	0,003
AG$_T$ (g/100g carne)	0,81[b]	1,22[a]	1,44[a]	0,133	0,014
Ácidos grasos poliinsaturados (AGPI)					
C18:2*n-6* (LA)	7,90	8,21	6,67	0,593	0,167
C20:3*n-6*	0,66[a]	0,48[b]	0,40[b]	0,042	0,000
C20:4*n-6* (ARA)	3,08[a]	1,99[b]	1,64[b]	0,176	<,0001
C22:4*n-6*	0,12	0,10	0,10	0,009	0,137
Σ*n-6*	11,91[a]	10,91[ab]	8,92[b]	0,777	0,031
C18:3*n-3* (LNA)	3,96[a]	3,41[a]	2,06[b]	0,198	<,0001
C20:5*n-3* (EPA)	1,74[a]	1,09[b]	0,76[c]	0,115	<,0001
C22:5*n-3* (DPA)	1,78[a]	1,36[b]	1,02[b]	0,118	0,000
C22:6*n-3* (DHA)	0,20[a]	0,15[b]	0,12[b]	0,017	0,009
Σ*n-3*	7,76[a]	6,09[b]	4,02[c]	0,420	<,0001
ΣAGPI	21,45[a]	19,11[a]	14,61[b]	1,178	0,001

P: extensivo (pastoreo); LP: semiextensivo con suplementación de concentrado (linaza extrusionada al 10% MS) durante el pastoreo; LC: semiextensivo con suplementación de concentrado (linaza extrusionada al 10% MS) en cebadero.
[a.b.c] Las medias dentro de la misma línea con diferentes superíndices difieren significativamente (P≤0,05). SEM= error estándar de la media. ∑*n-6*= 18:2*n-6*, 18:3*n-6*, 20:2*n-6*, 20:3*n-6*, 20:4*n-6* y 22:4*n-6*; ∑*n-3*= 18:3*n-3*, 20:3*n-3*, 20:5*n-3*, 22:5*n-3* y 22:6*n-3*; *n-3*AGPICL= EPA+DHA; ∑AGPI= ∑*n-6*, ∑*n-3*, ΣCLA, ΣnCLA y RLA.

Del mismo modo, la suplementación con pienso durante los últimos 90 d previos al sacrificio, mediante los sistemas semiextensivos (LP y LC), redujo en el LT la proporción de los *n-3*AGPICL individuales docosapentaenoico (DPA) (1,19%, valor

promedio; P<0,001) y docosahexaenoico (DHA) (0,13%, valor promedio; P<0,01), respecto al manejo en extensivo (P) (1,78 y 0,20% de DPA y DHA, respectivamente); siendo significativa la reducción en la proporción del *n-3* principal, el LNA, respecto al extensivo (P) (3,96%), sólo mediante el manejo semiextensivo en cebadero (LC) (2,06; P<0,001). La presencia de concentrado en la dieta, así como el aumento en su proporción y la disminución en la calidad del forraje consumido, tuvo un gran efecto sobre las proporciones de eicosapentaenoico (EPA; P<0,001) y Σ*n-3* (P<0,001) en el LT, disminuyendo desde los valores más altos observados mediante el manejo en extensivo (1,74% EPA y 7,76% Σ*n-3* para P) hasta los más bajos para el sistema semiextensivo en cebadero (0,76% EPA y 4,02% Σ*n-3* para LC); mostrando unos valores intermedios la carne de los terneros acabados en semiextensivo durante el pastoreo (1,09% EPA y 6,09% Σ*n-3* para LP).

Finalmente, de igual modo que lo comentado para el LNA, la reducción observada en la proporción de ΣAGPI en la carne de terneros suplementados con pienso, respecto a los manejados en extensivo (21% de ΣAGPI para P), sólo fue significativa mediante el consumo del concentrado en cebadero (15% de ΣAGPI para LC; P<0,001).

7.3.4.2. Ácido linoleico conjugado (CLA), ácido linolénico conjugado (CLNA) y dienos atípicos no conjugados del ácido linoleico (nCLA)

Los valores medios observados en el LT de terneros RG, según el sistema de manejo, para las proporciones de los isómeros CLA, dienos no conjugados del LA (nCLA) y CLNA se muestran en la Tabla 7.7. En general, independientemente del sistema de manejo, se ha observado mayor deposición de ΣnCLA (0,75-1,17%) seguido de ΣCLA (0,60-0,74%) y finalmente de ΣCLNA (0,17-0,31%).

El sistema de manejo ha mostrado un ligero efecto sobre la deposición de ΣCLA en el LT, observándose una proporción comparable de este grupo de AG en la carne de los terneros que consumieron hierba fresca, ya fuese, la única fuente de alimento además de la leche materna (P), o en combinación con el pienso enriquecido en linaza (LP) (0,73% ΣCLA, valor promedio para P y LP); alcanzado un valor significativamente más elevado que el observado mediante la suplementación en cebadero con el mismo pienso y con heno (0,60% ΣCLA para LC; P<0,05).

Tabla 7.7. Efecto del tipo de acabado sobre la composición de isómeros del ácido linoleico conjugado, de dienos no conjugados y del ácido linolénico conjugado (% del total de AG) del *longissimus thoracis* de terneros de raza Rubia Gallega

	Sistema de acabado				
	P	LP	LC	SEM	P_{value}
*t*9,*t*11	0,017	0,017	0,015	0,001	0,095
*t*10,*t*12	0,003[b]	0,006[a]	0,005[a]	0,000	0,000
*t*11,*t*13	0,043[a]	0,034[b]	0,027[c]	0,002	<,0001
*t*12,*t*14	0,024[a]	0,027[a]	0,018[b]	0,002	0,002
Σ*t,t*CLA	0,094[a]	0,087[a]	0,071[b]	0,004	0,000
*t*7,*c*9	0,024[b]	0,043[a]	0,045[a]	0,002	<,0001
*t*9,*c*11-18:2	0,016	0,016	0,015	0,001	0,870
*c*9,*t*11-18:2 (CLA$_{c9,t11}$; RA)	0,523[ab]	0,532[a]	0,422[b]	0,035	0,063
*t*10,*c*12	0,002[b]	0,006[a]	0,008[a]	0,001	0,011
*t*11,*c*13	0,036[a]	0,035[a]	0,023[b]	0,003	0,009
*c*11,*t*13	0,009[a]	0,008[ab]	0,007[b]	0,000	0,015
Σ*t,c/c,t*CLA	0,628[ab]	0,653[a]	0,531[b]	0,037	0,061
ΣCLA	0,722[a]	0,740[a]	0,602[b]	0,036	0,022
*c*9,*t*11,*t*15-18:3	0,077	0,085	0,074	0,007	0,488
*c*9,*t*11,*c*15-18:3 (RLA)	0,228[a]	0,118[b]	0,099[b]	0,011	<,0001
ΣCLNA	0,305[a]	0,203[b]	0,173[b]	0,014	<,0001
*t*11,*t*15-18:2	0,04	0,05	0,05	0,006	0,713
*t*9,*t*12-18:2	0,03[b]	0,03[ab]	0,05[a]	0,004	0,008
*c*9,*t*13-/*t*8,*c*12-18:2	0,22[b]	0,31[a]	0,28[a]	0,014	0,000
*t*8,*c*13-18:2	0,09	0,11	0,09	0,006	0,110
*c*9,*t*12-18:2	0,05[c]	0,07[a]	0,06[b]	0,003	0,001
*t*9,*c*12-18:2	0,02	0,02	0,02	0,005	0,964
*t*11,*c*15-18:2	0,22[b]	0,44[a]	0,27[b]	0,042	0,002
*c*9,*c*15-18:2	0,03	0,03	0,04	0,004	0,344
*c*12,*c*15-18:2	0,05[b]	0,11[a]	0,04[b]	0,020	0,026
ΣnCLA	0,75[b]	1,17[a]	0,89[b]	0,071	0,001

P: extensivo (pastoreo); LP: semiextensivo con suplementación de concentrado (linaza extrusionada al 10% MS) durante el pastoreo; LC: semiextensivo con suplementación de concentrado (linaza extrusionada al 10% MS) en cebadero.

[a.b.c] Las medias dentro de la misma línea con diferentes superíndices difieren significativamente (P≤0,05). SEM= error estándar de la media.

Σ*t,t*-CLA: *t*12,*t*14-18:2 + *t*11,*t*13-18:2 + *t*10,*t*12-18:2 + *t*9,*t*11-18:2 + *t*8,*t*10-18:2; Σ*t,c/c,t*-CLA: *t*12,*c*14-18:2 + *c*13,*t*15-18:2 + *c*12,*t*14-18:2 + *t*11,*c*13-18:2 + *c*11,*t*13-18:2 + *t*10,*c*12-18:2 + *t*8,*c*10-18:2 + *t*7,*c*9-18:2 + *c*9,*t*11-18:2 + *t*9,*c*11-18:2; ΣCLA: Σ*t,t*-CLA + Σ*t,c/c,t*-CLA; ∑CLNA = *c*9,*t*11,*t*15-18:3, *c*9,*t*11,*c*15-18:3; ∑nCLA: *t*11,*t*15-18:2, *t*9,*t*12-18:2; *c*9,*t*13-/*t*8,*c*12-18:2, *t*8,*c*13-18:2, *c*9,*t*12-18:2/*c*16-18:1, *t*9,*c*12-18:2, *t*11,*c*15-18:2, *c*9,*c*15-18:2, *c*12,*c*15-18:2.

Este aumento en la proporción de ΣCLA se debe principalmente al incremento en la deposición de isómeros Σ*t,t*-CLA mediante el consumo de hierba fresca

(0,09%, valor promedio para P y LP) respecto al consumo de heno y de mayor proporción de concentrado (0,071% para LC; P=0,001), y, probablemente, debido a la tendencia observada también hacia una mayor proporción de isómeros Σ*t,c*+*c,t*-CLA (P=0,061), incluida la del $CLA_{c9,t11}$ (P=0,063), el isómero CLA mayoritario independientemente del sistema de manejo (72% del total de isómeros CLA, valor promedio).

En cuanto a la distribución individual de otros isómeros minoritarios del CLA, mediante la alimentación en base a pastoreo con las dietas basadas en hierba fresca (P) y hierba fresca con suplementación de pienso (LP), se ha observado una proporción mayor de *t*11,*t*13 (P<0,001), *t*12,*t*14 (P<0,01), *t*11,*c*13 (P<0,01) y *c*11,*t*13 (P<0,05) en el LT, respecto al manejo en cebadero con heno y pienso (LC). Contrariamente, la proporción de los isómeros *t*10,*t*12 (P<0,001), *t*7*c*9 (P<0,001) y *t*10*c*12 (P<0,05) fue menor en la carne de los terneros que consumieron sólo hierba fresca (P) en comparación con la procedente de animales suplementados con pienso, independientemente de si el suministro fue en campo (LP) o en cebadero (LC).

Las proporciones de ΣCLNA y su isómero principal, el *c*9*t*11*c*15-18:3 (RLA), fueron significativamente más elevadas en el LT de los terneros finalizados sólo con hierba fresca (0,30% ΣCLNA y 0,23% RLA para P; P<0,001) respecto a los que consumieron diferentes cantidades de pienso enriquecido en linaza (0,19% de ΣCLNA y 0,11% de RLA, valores promedio para LP y LC).

Se ha observado que el sistema semiextensivo con suplementación de pienso durante el pastoreo (LP) favorece la acumulación de dienos atípicos no conjugados del LA (nCLA) en el LT respecto a las otras dietas (ΣnCLA= 1,17% para LP frente a 0,82%, valor promedio para P y LC; P>0,001), debido a la mayor proporción de los isómeros principales: el mayoritario *t*11,*c*15 (0,44 en LP frente a 0,24%, valor promedio para P y LC; P<0,01) y el grupo *c*9*t*13/*t*8*c*12 (0,31 en LP frente a 0,25%, valor promedio para P y LC; P<0,001), así como a la de algunos isómeros minoritarios como el *t*9,*t*12 (P<0,01), *c*9,*t*12 (P<0,001) y *c*12,*c*15 (P>0,05).

7.3.4.3. Ácidos Grasos *trans* Monoinstarurados (*t*AGMI)

Los valores medios obtenidos de la proporción individual y total de los *t*AGMI en el LT se muestran en la Tabla 7.8 para cada grupo experimental. Como se puede observar, el sistema de manejo empleado tuvo un marcado efecto significativo

sobre las proporciones de Σ*t*AGMI y Σ*t*18:1, así como sobre su distribución individual en el LT; resultando superior, en general, la proporción de casi todos los isómeros *trans* individuales mediante los sistemas de manejo en semiextensivo (suplementación con pienso en campo o en cebadero), en comparación con el manejo extensivo (pasto fresco).

Tabla 7.8. Efecto del tipo de acabado sobre la composición de ácidos grasos monoinsaturados del *longissimus thoracis* de terneros de raza Rubia Gallega

	Sistema de acabado				
	P	LP	LC	SEM	P_{value}
Ácidos Grasos trans Monoinsaturados (tAGMI)					
*t*9-16:1	0,25[a]	0,31[a]	0,15[b]	0,034	0,007
*t*6-18:1	0,06[b]	0,18[a]	0,18[a]	0,015	<,0001
*t*9-18:1	0,12[b]	0,23[a]	0,23[a]	0,011	<,0001
*t*10-18:1	0,20[b]	0,84[a]	0,81[a]	0,124	0,001
*t*11-18:1	1,60[b]	2,36[a]	1,77[b]	0,150	0,003
*t*12-18:1	0,22[c]	0,45[a]	0,39[b]	0,017	<,0001
*t*13+*t*14-18:1[1]	0,59[c]	0,91[a]	0,75[b]	0,048	0,000
*t*15-18:1	0,34	0,40	0,42	0,090	0,813
*t*16-18:1	0,25[b]	0,31[a]	0,27[b]	0,015	0,012
*t*10/-18:1*t*11-18:1	0,11[b]	0,38[a]	0,49[a]	0,076	0,003
Σ*trans*-AGMI	3,85[c]	6,24[a]	5,15[b]	0,296	<,0001
Σ*t*-18:1 AGMI	3,37[c]	5,68[a]	4,81[b]	0,276	<,0001
Ácidos Grasos cis Monoinsaturados (cAGMI)					
*c*9-15:1	0,15[a]	0,10[b]	0,07[c]	0,011	<,0001
*c*7-16:1	0,29[a]	0,19[b]	0,17[b]	0,008	<,0001
*c*9-16:1	1,62	1,78	1,79	0,103	0,434
*c*10-16:1	0,12[a]	0,08[b]	0,07[b]	0,006	<,0001
*c*9-17:1	0,85[a]	0,67[b]	0,64[b]	0,030	<,0001
*c*9-18:1 (OA)	25,16[b]	25,62[b]	30,98[a]	0,809	<,0001
*c*11-18:1	1,49	1,48	1,37	0,094	0,599
*c*12-18:1	0,32[b]	0,72[a]	0,47[b]	0,063	0,000
*c*13-18:1	0,17[b]	0,22[a]	0,23[a]	0,010	0,003
*c*15-18:1	0,17[b]	0,36[a]	0,25[ab]	0,044	0,015
Σ*cis*-AGMI	31,26[b]	32,08[b]	36,74[a]	0,823	<,0001
Σ*c*-18:1 AGMI	27,41[b]	28,53[b]	33,40[a]	0,734	<,0001
ΣAGMI	35,11[c]	38,33[b]	41,89[a]	0,728	<,0001

P: extensivo (pastoreo); LP: semiextensivo con suplementación de concentrado (linaza extrusionada al 10% MS) durante el pastoreo; LC: semiextensivo con suplementación de concentrado (linaza extrusionada al 10% MS) en cebadero.

[a,b,c] Las medias dentro de la misma línea con diferentes superíndices difieren significativamente (P≤0,05). SEM= error estándar de la med ia.

∑*t*-18:1= *t*6-18:1, *t*9-18:1, *t*10-18:1, *t*11-18:1, *t*12-18:1, *t*13+*t*14-18:1, *t*15-18:1 y *t*16-18:1; ∑*t*-AG MI *t*10-15: 1, *t*10-16 :1, *t*9-16:1 y ∑*t*-18:1; ∑*c*-AG MI= *c*9-14 :1, *c*9-15 :1, *c*7-16 :1, *c*9-16: 1, *c*10-16 :1, *c*9-17 :1, *c*9-18: 1, *c*11-18: 1, *c*12-18: 1, *c*13-18: 1, *c*14-18: 1, *c*15-18:1, *c*16-18 :1, *c*9-20: 1, *c*11-20: 1, *c*13-22:1 y *c*15-24 :1; ∑AGMI= ∑*c*-AGMI + ∑*t*-AGMI.

[1]coeluciónn con *c*6-/*c*8-18:1.

Las proporciones de los isómeros *t*18:1 individuales con el doble enlace en una posición >11 (*t*12-18:1, P<0,001; *t*13+*t*14-18:1, P<0,001; *t*16-18:1, P<0,05; excepto *t*15-18:1, P>0,05), las de Σ*t*18:1 (P<0,001) y las de Σ*t*AGMI (P<0,001), se han visto incluso incrementadas mediante la suplementación del concentrado durante el pastoreo de hierba fresca (LP) respecto a la suplementación en cebadero con pienso y heno (LC); siendo las del *t*16-18:1 significativamente superiores respecto al consumo de pasto sólo mediante la suplementación en pastoreo (0,31% para LP vs. 0,26%, valor promedio para P y LC).

Aunque la proporción de *t*10-18:1 en carne se vio aumentada mediante los sistemas semiextensivos (0,82% valor promedio para LP y LC) respecto al extensivo (0,20% para P; P<0,001), la de TVA sólo fue significativamente superior mediante el consumo de pienso durante el pastoreo (2,36% para P vs. 1,68% valor promedio para P y LC; P<0,01). Aun así, mediante los sistemas semiextensivos evaluados en las presentes condiciones experimentales, no se observó el "cambio *t*10" asociado a dietas altas en concentrados, manteniéndose una relación *t*10/*t*11 <1; aunque con un valor significativamente superior (0,43 valor promedio para LP y LC) al observado mediante la alimentación en extensivo (0,11 para P; P<0,001).

7.3.4.4. Ácidos Grasos *cis* Monoinstarurados (*c*AGMI)

En la Tabla 7.8 se resumen los valores medios de la proporción total e individual de los *c*AGMI en el LT para cada grupo experimental. El perfil de los *c*AGMI ha sido también significativamente afectado por el sistema de manejo empleado, pues en general, la carne de los terneros que consumieron pasto hasta su sacrificio, sin suplementación de concentrado (P), mostró mayores proporciones de los isómeros individuales del 15:1, 16:1 y 17:1, y menores de los del *c*18:1 en comparación con la procedente de los terneros que consumieron pienso (LP y LC). En cambio, la proporción del ácido oleico (OA, *c*9-18:1), el isómero *cis* mayoritario independientemente del sistema de manejo empleado (82% de Σ*c*AGMI), fue comparable en la carne de los terneros manejados en extensivo y en semiextensivo durante el pastoreo (*c*9-18:1= 25,39%, valor promedio para P y LP) pero significativamente inferior a la observada mediante la suplementación en cebadero (30,98% para LC; P<0,001); extendiéndose este efecto a las proporciones de los sumatorios Σ*c*18:1 (27,97% valor promedio para P y LP frente a 33,40% para LC; P<0,001) y Σ*c*AGMI (31,67% valor promedio para P y LP

frente a 36,74% para LC; P<0,001).

Finalmente, debido a los efectos del sistema de manejo sobre las deposiciones de Σ*c*AGMI y Σ*t*AGMI, la proporción total de AGMI (P<0,001) se vio aumentada con el incremento del nivel de concentrado en la ración de los terneros, desde los niveles más bajos observados mediante un sistema extensivo (ΣAGMI= 35,11% para P) hasta los más altos del sistema semiextensivo en cebadero (ΣAGMI= 41,89% para LC), mostrando una proporción intermedia la suplementación de pienso durante el pastoreo (ΣAGMI= 38,33% para LP).

7.3.4.5. Ácidos Grasos Saturados (AGS) y de Cadena Ramificada (AGCR)

Los resultados del perfil de AGS y de AGCR, obtenidos en el LT para cada grupo experimental, se resumen en la Tabla 7.9 (pág. siguiente). El sistema de manejo empleado mostró un efecto significativo sobre los porcentajes individuales de los AGS principales, 14:0 (P<0,05), 16:0 (P<0,05) y 18:0 (P<0,01), sin embargo, la proporción total de AGS permaneció inalterada (ΣAGS, P>0,05). La carne de los terneros que permanecieron en cebadero con consumo de heno y pienso mostró una menor proporción de 14:0 respecto a la de los que consumieron hierba fresca, independientemente de si fueron suplementados o no con pienso (1,41% para LC frente a 1,82%, valor promedio de P y LP). El consumo de concentrado aumentó la proporción de 16:0 en la carne (21,57%, valor promedio de LP y LC) respecto al consumo de hierba fresca mediante pastoreo extensivo (20,01% para P; P<0,05). La proporción del 18:0 en cambio, se redujo significativamente mediante la suplementación del pienso durante el pastoreo (15,93%, valor para P; P<0,01), respecto al consumo único de hierba (P) o al suministro de pienso en el cebadero con el heno (LC) (17,60%, valor promedio de P y LC).

Con la excepción del 17:0aiso, las proporciones del resto de AGCR individuales y del total de AGCR en el LT se han visto fuertemente afectadas por el sistema de manejo, reduciéndose con el aumento del nivel de concentrado en la dieta y/o la disminución en la calidad del forraje. Para todos ellos, se han observado los mayores y menores valores, respectivamente, en el LT de los terneros criados en extensivo (P) y en semiextensivo con estabulación (LC), mostrando un valor intermedio los animales suplementados con el pienso durante el pastoreo (P<0,001).

Tabla 7.9. Efecto del tipo de acabado sobre la composición de ácidos grasos saturados (AGS) y de cadena ramificada (AGCR) del *longissimus thoracis* de terneros de raza Rubia Gallega

	Sistema de acabado				
	P	LP	LC	SEM	P_{value}
Ácidos Grasos Saturados (AGS)					
14:0	1,76[a]	1,89[a]	1,41[b]	0,109	0,011
15:0	0,45[a]	0,36[b]	0,27[c]	0,015	<,0001
16:0	20,01[b]	21,48[a]	21,67[a]	0,424	0,017
17:0	0,91	0,83	0,83	0,031	0,118
18:0	17,69[a]	15,93[b]	17,52[a]	0,394	0,005
ΣAGS	41,26	40,87	42,01	0,655	0,465
Ácidos Grasos de Cadena Ramificada (AGCR)					
15:0iso	0,16[a]	0,11[b]	0,09[b]	0,007	<,0001
15:0aiso	0,16[a]	0,13[b]	0,11[c]	0,007	<,0001
16:0iso	0,77[a]	0,49[b]	0,36[c]	0,036	<,0001
17:0iso	0,46[a]	0,35[b]	0,31[c]	0,013	<,0001
17:0aiso	0,45	0,45	0,46	0,014	0,819
ΣAGCR	2,11[a]	1,63[b]	1,43[c]	0,041	<,0001
AGPI/AGS	0,54[a]	0,48[a]	0,35[b]	0,036	0,002
n-6/n-3	1,53[c]	1,76[b]	2,40[a]	0,068	<,0001

P: extensivo (pastoreo); LP: semiextensivo con suplementación de concentrado (linaza extrusionada al 10% MS) durante el pastoreo; LC: semiextensivo con suplementación de concentrado (linaza extrusionada al 10% MS) en cebadero.
[a.b.c] Las medias dentro de la misma línea con diferentes superíndices difieren significativamente (P≤0,05). SEM= error estándar de la media.
∑AGS= 14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:0, 20:0, 21:0, 22:0, 23:0 y 24:0; ∑AGCR= $15:0_{iso}$, $15:0_{aiso}$, $16:0_{iso}$, $17:0_{iso}$ y $17:0_{aiso}$; *n-6*/*n-3*=∑*n-6*/∑*n-3*; AGPI/AGS= ∑AGPI/∑AGS

7.3.4.6. Relaciones AGPI/AGS y *n-6*/*n-3*

La relación AGPI/AGS se vio afectada por el sistema de manejo empleado, observándose un valor más elevado en el LT de los terneros alimentados con las dietas que incluyeron hierba fresca (0,51, valor promedio para P y LP) en comparación con la dieta suplementada con pienso en el cebadero y con heno como fuente de forraje (0,35 para LC) (P<0,01; Tabla 7.9), relacionado con la mayor proporción total de AGPI observada en la carne de los terneros que consumieron hierba fresca (P y LP) y con la ausencia de efectos del sistema de manejo sobre la proporción total de AGS.

La relación entre las dos familias, *n-6*/*n-3* AGPI (Tabla 7.9), también se ha visto alterada por efecto del sistema de manejo, observándose un incremento a medida

que aumenta la proporción de concentrado y/o que disminuye la calidad de forraje en la dieta. La carne de los terneros que consumieron sólo hierba fresca mostró los valores significativamente más bajos de la relación *n-6*/*n-3* (1,53 para P), seguida de la carne procedente de los animales suplementados con el pienso en la parcela de pastoreo (1,76 para LP) y, por último, por la carne de aquellos finalizados en cebadero (2,40 para LC) (P<0,001).

7.4. DISCUSIÓN

7.4.1. Características de producción animal y calidad de la canal

Los resultados observados relativos al menor rendimiento de crecimiento (menores GMD_T y PV) en los animales del sistema extensivo (P) en comparación con los animales suplementados con concentrado durante el pastoreo (LP) o en cebadero (LC), a pesar de tratarse de animales de la misma raza y sacrificados a edad similar (301±1,0d), concuerda con los hallazgos de varios estudios previos en los cuales se señala que los animales finalizados con dietas altas en concentrados muestran mayores GMD totales y pesos al sacrificio frente a los animales finalizados en pasto (Moreno, 2004; Nuernberg *et al*., 2005; Humada *et al.*, 2012; Duckett *et al.*, 2013). Varios autores han documentado que un periodo intensivo de acabado, después de un período extensivo, puede resultar en un marcado incremento del peso vivo al sacrificio y de la eficiencia de conversión alimenticia, un fenómeno conocido como crecimiento compensatorio (Wright y Russel, 1986). La ausencia de efectos observada por otros autores al comparar el efecto del sistema de acabado (extensivos y basados en forraje frente a intensivos o semiextensivos) sobre el rendimiento productivo animal (GMD y PV), podría estar relacionada con haber adoptado medidas como fijar un peso de sacrificio determinado, prolongando si es necesario el periodo de finalización para los animales de pastoreo (Razminowick *et al.*, 2008; Morales *et al.*, 2015; Peripolli *et al.*, 2017; Ferrinho *et al.*, 2019), o comparando sistemas menos extremos mediante un similar aporte nutritivo y energético entre las dietas experimentales, suplementando con ensilajes las dietas de los animales en pastoreo (Varela *et al.*, 2004; Horcada *et al.*, 2016), limitando la cantidad de concentrado suministrado a los animales de intensivo (3kg/d, Razminowickz *et al.*, 2008) o

suplementando pequeñas cantidades de concentrado durante la fase de crecimiento previa al acabado (Daza *et al.*, 2014).

La combinación de un menor nivel de energía en la dieta, el período de pastoreo y el mayor gasto energético debido a la actividad física de los terneros manejados en el campo comparado con los semiintensivos o de engorde, resulta en canales de menor peso que, normalmente, llevan asociados unos atributos inferiores como son, su menor rendimiento de canal y sus estados de conformación y cobertura de grasa más bajos (Realini *et al.*, 2004; Duckett *et al.,* 2013). En el presente estudio, el PCC, la FS y el peso del LT también fueron menores para los animales manejados en extensivo sin suplementación (P) respecto a los que consumieron concentrado, ya fuese en la parcela de campo (LP) o en el cebadero (LC); sin embargo, la conformación de la canal resultó similar entre todos los tratamientos. En la misma línea, otros autores tampoco encontraron diferencias en la conformación de las canales procedentes de animales manejados en intensivo frente a extensivo, a pesar de haber hallado diferencias en la GMD (Humada *et al.*, 2012), o sólo una tendencia hacia mayores puntuaciones para aquellos finalizados en intensivo (Razminowick *et al.*, 2008). Además, lo destacable de este estudio, es que, respecto a los animales que consumieron hierba únicamente (P), los atributos de canal como el peso del lomo y los rendimientos de la canal y del chuletero, sólo fueron superiores mediante la suplementación del pienso en la parcela (LP) y no mediante estabulación en el cebadero (LC). Estos resultados sugieren que las mejoras observadas por los terneros del grupo LP frente a los del LC, se deben al consumo de forraje de mayor calidad (Zea y Díaz, 1990) y a los hallazgos documentados previamente por Bispo *et al.* (2010a), quienes observaron que prolongar la lactancia materna frente al destete, bajo un sistema semiextensivo con suplementación de pienso durante el mismo tiempo (150d), conlleva beneficios en las características de producción animal y calidad de la canal de terneros de raza RG.

7.4.2. Calidad organoléptica de la carne

El efecto del sistema de manejo sobre las características fisicoquímicas que determinan la calidad de la carne tuvo una modesta influencia, ya que sólo los contenidos de humedad y grasa, así como algún parámetro del color del LT, resultaron ligeramente afectados.

La disminución del contenido acuoso de la carne está relacionada con el incremento en su proporción de grasa a medida que se aumenta el nivel de concentrado en la dieta, en comparación con sistemas extensivos o basados en forrajes, debido al mayor nivel energético de los alimentos que componen las dietas basadas en granos de cereales (Smith *et al.*, 2009b; Daley *et al.*, 2010). Esto justifica las diferencias encontradas en el presente estudio, y concuerda con los resultados observados por Varela (2002) y por Moreno *et al.* (2002) en animales de raza RG, quienes confirmaron previamente que, debido a las diferencias energéticas entre los alimentos disponibles para el ganado, los sistemas de manejo influyen en la composición química de la carne, especialmente en el porcentaje de grasa. Sin embargo, Moreno *et al.* (2007b) no observaron disminución en el contenido de humedad de la carne con el incremento de grasa, resultado del manejo de los terneros RG mediante sistemas intensivos (0,9% de grasa) o semiextensivos con período de estabulación (0,8% de grasa) frente a un sistema extensivo (0,4% de grasa), probablemente debido al menor contenido de grasa que el del presente estudio, no fue suficiente para causar ese efecto.

En general, el pH de la carne y los parámetros de color no son afectados por el sistema de producción (extensivo frente a intensivo) (Leheska *et al.*, 2008; Torrescano, *et al.*, 2010). Debido a que, normalmente, las variaciones observadas en el pH relacionadas con el diferente manejo animal (Kamihiro *et al.*, 2015; Ferrinho *et al.*, 2019), se deben a la diferente cantidad de glucógeno en el músculo, parámetro inversamente relacionado con el pH (Vestergaard *et al.*, 2000), siendo provocadas por factores que causan estrés al animal previo al sacrificio (temperaturas elevadas, tiempos prolongados de transporte, inadecuadas instalaciones, etc.). De hecho, Muir *et al.* (1998) formularon la hipótesis de que los animales manejados en extensivo eran más susceptibles al estrés pre-sacrificio que los manejados en intensivo, debido a que estos últimos están más habituados al manejo, agrupamiento y estabulación. Algunos autores han indicado también que la mayor cobertura de grasa alcanzada por los animales manejados en intensivo puede facilitar un descenso más rápido del pH (et.). En el presente estudio, los valores de pH reflejan la influencia de ambos factores, pues, aunque no fue significativa, los menores valores observados en la carne de los animales del grupo LP respecto al P, pueden deberse al consumo concentrado y a la similar cobertura de grasa alcanzada respecto a los animales de LC. En todo caso, la ausencia de efectos significativos del sistema de manejo sobre el $pH_{24h,pm}$ es consistente con lo observado por otros autores que compararon

sistemas de producción en extensivo frente a intensivo (Fench *et al.*, 2000a; Varela *et al*., 2004; Realini *et al.*, 2004; Razminowick *et al.*, 2008; Morales *et al.*, 2015) y, relacionado con el poco tiempo que transcurrió desde que los animales se retiraron del campo para ser sacrificados, minimizando el impacto de esta importante causa de estrés sobre la caída de los depósitos de glucógeno (Monserrat *et al*., 1998). El valor promedio de $pH_{24h,pm}$ observado para la carne producida bajo cualquier sistema de acabado de los evaluados en el presente estudio está dentro del valor esperado (pH<6) para carne de bovinos, encontrándose dentro del rango establecido para carne de alta calidad (5,4 a 5,6; Hedrick *et al.*, 1989; Weglarz, 2010a).

El color de la carne está muy relacionado con el pH final (Torrescano *et al.*, 2010), y la ausencia de efectos del sistema de manejo sobre éste suele explicar las similitudes encontradas por otros autores en el color de la carne producida en sistemas extensivos o intensivos (Albertí *et al.*, 1992; French *et al.*, 2000a; Varela *et al.*, 2004; Cerdeño *et al.*, 2006; Zea y Díaz, 2008; Razminowicz *et al.*, 2008; Daza *et al.*, 2014; Bautista-Martínez *et al.*, 2020). Sin embargo, también se ha documentado que las dietas ricas en forrajes, en comparación con aquellas basadas en concentrados, aportan coloraciones más oscuras a la carne, debido a la acumulación en sus fibras de los cromóforos vegetales (carotenoides) que contienen los pastos frescos normalmente en alta concentración (Sanz Egaña, 1967). Otras teorías indican que después de un período de pastoreo, los terneros tienden a incrementar su contenido en fibras rojas (Ozutsumi y Okada, 1981), relacionado con su menor tasa de crecimiento (Młynek y Guliński, 2007), y que presentan un mayor contenido de pigmentos hemínicos debido a la mayor actividad física de los animales en campo (Varnan y Sutherland, 1995), lo que resulta en una carne más oscura (menor L*) (Vestergaard *et al.*, 2000; Dios, 2000; Monserrat *et al.* 2002b; Moreno, 2004; Realini *et al.*, 2004; Morales *et al*, 2015) y más roja (mayor a*) (Priolo *et al.*, 2001). En el presente estudio, la carne de los animales manejados en extensivo sin suplementación de concentrado (P) presentó unos valores más bajos para todos los parámetros instrumentales de color y un contenido superior en pigmentos respecto a la obtenida mediante los otros sistemas. Estos resultados sugieren que la carne de pasto resultó más oscura (menor L) y con un color menos brillante (menor tono) y menos intenso (menor saturación e índices de rojo y amarillo más bajos). Sin embargo, sólo el índice de amarillo y la cromaticidad resultaron significativamente más bajos en la carne de pasto (P), relacionado con el mayor contenido graso observado en los animales

suplementados con concentrado (LP y LC), a pesar de que la coloración de la grasa se ha encontrado más amarilla en animales manejados en sistemas de pastoreo respecto a los de manejo en cebadero (Monserrat *et al.*, 2002b; Varela *et al.*, 2002). La baja significancia de estas diferencias y el hecho de que el resto de los parámetros relacionados con el contendido en fibras musculares y la apreciación final del color ($pH_{24h,pm}$, pigmentos hemínicos y CRA), han permanecido inalterados con el sistema de manejo, sugieren que el sistema de manejo no tuvo un impacto relevante en las características cromáticas de la carne de terneros RG, como se concluye en la mayoría de los estudios comentados.

La ausencia de efecto del sistema de manejo sobre la CRA concuerda con las reseñadas por Dufrasne *et al.* (1995 a) y por Hornick *et al.* (1995), ya que, además, el nivel de suplementación con concentrado no parece ser un criterio de variación importante sobre la CRA (Albertí *et al.*, 1988; Carballo *et al.,* 2001). De manera similar, tampoco Varela *et al.* (2004) encontraron diferencias en la CRA al comparar los sistemas extensivo y semiextensivo en animales RG de mayor edad (>1 año), pero en ese caso, al igual que en los estudios de French *et al.* (2000a) y Daza *et al.* (2014), la ausencia de efectos pudo deberse al similar GIM alcanzado entre los animales de los distintos sistemas. Sin embargo, la teoría de que la grasa actúa como protectora minimizando las pérdidas de humedad (Hornstein *et al.*, 1960), no se vio reflejada en el presente ensayo, lo que concuerda con lo observado por Bautista-Martínez *et al.* (2020). Estos autores, al comparar el efecto del sistema de manejo animal, incluso hallaron aumentos en el contenido de grasa de la carne de los animales estabulados respecto a los suplementados con pienso en pastoreo, pero no observaron variación en sus pérdidas de agua por goteo. Por otra parte, el manejo de terneros de raza RG mediante cualquiera de los sistemas evaluados en el presente estudio condujo a unas pérdidas de agua por goteo y por cocción en la carne, en el rango de los valores normalmente observados (1,8 - 3,4% para las PG, Morón-Fuenmayor y Zamorano, 2004; y 20 - 22% para las PC, Hwang y Joo, 2017).

Con respecto a la terneza, la menor fuerza de corte WB encontrada en el LT al incluir un pienso en la dieta de acabado de terneros raza RG, en comparación con el manejo extensivo y, específicamente, para los animales que estuvieron estabulados, es consistente con los resultados observados por Moreno (2004) en animales de raza RG y por otros autores con diferentes razas (Vestegaard *et al.*, 2000; Nuernberg, 2005), señalando un efecto negativo de la finalización en pasto sobre la terneza objetiva de la carne. Sin embargo, el efecto del sistema de acabado sobre la terneza de la carne ha sido

ampliamente estudiado, arrojando resultados contradictorios (Kerth *et al.* 2007; Moholisa *et al.* 2017). Así, algunos autores observaron menores fuerzas de corte WB en la carne de animales acabados en dietas basadas en forraje frente a los sistemas intensivos (Realini *et al.*, 2004; Morales *et al.*, 2015; Ferrinho *et al.*, 2019), mientras que otros autores no encontraron diferencias significativas en la terneza de la carne respecto al sistema de manejo, tanto en animales de raza RG (Dios, 2000; Calvo, 2001; Oliete, 2003; Varela *et al.*, 2004), como en otras razas (Albertí *et al.*, 1998; French *et al.* 2000a). La ausencia de efectos en estos últimos estudios mencionados, probablemente se haya debido a que las diferencias en la calidad y/o cantidad de los alimentos no han sido lo suficientemente grandes como para afectar a las tasas de crecimiento, cobertura de grasa y GIM, algo que sí ha sucedido en el presente experimento. La asociación de que los sistemas de manejo basados en la finalización de los terneros con piensos concentrados mejoran la terneza objetiva de su carne, se debe a la mayor infiltración de grasa que suelen alcanzar los animales suplementados con pienso (Calkins y Sullivan, 2007), la cual está asociada con la textura de la carne (Christensen *et al.* 2011), su jugosidad y aceptación general (Jeremiah *et al.*, 2003; Drey y O'Quinn, 2017) proporcionando mayor lubricación entre las fibras musculares (Juárez *et al.*, 2012). El sistema semiextensivo con suplementación del pienso en la parcela no fue tan efectivo en la mejora de la terneza de la carne como el sistema de estabulación en cebadero. A pesar de haber alcanzado un similar porcentaje de grasa mediante los dos sistemas semiextensivos, el hecho de que los animales estuviesen pastando libremente, en vez de estabulados, ha podido contribuir al desarrollo de fibras musculares más firmes por la mayor actividad física, resultando en una terneza en la carne intermedia entre la alcanzada por los dos sistemas extremos. De hecho, Bruce *et al.* (2004) confirmaron que la estructura del colágeno del LT de animales finalizados en dietas basadas en pastos tenían mayor estabilidad frente a las de animales finalizados en intensivo. En todo caso, las dietas suplementadas con concentrado, ya fuese mediante comederos en la parcela de pastoreo, o estabulados en el cebadero, lograron alcanzar el umbral mínimo de 43N para la carne tierna de calidad (Wheeler *et al.*, 2004; Platter *et al.*, 2005), mejorando la dureza observada en la carne de los animales manejados en extensivo. Quizás, mediante un periodo de maduración más prolongado, se consiguiesen minimizar las diferencias observadas entre sistemas de acabado, como observaron Ducket *et al.* (2013) al emplear tiempos de maduración de 14 y 28d en la carne de animales de mayor edad. De acuerdo con los hallazgos del trabajo previo de Oliete *et al.* (2006) al evaluar el efecto del tiempo de maduración sobre el LT de terneros RG, aumentar a un

período de 14d conseguiría mejorar la terneza de la carne sin el efecto observado sobre las pérdidas de agua por presión con períodos más prolongados (21d), pues se ha observado que la mayor tenderización de la carne del LT se produce durante los 12 primeros días (Eilers *et al.*, 1996). Los resultados del análisis de TPA, aunque no fueron significativos, concuerda con los resultados del test WB y sugieren que la carne de animales manejados en extensivo o en semiextensivo con suplementación en la parcela, resulta más gomosa y requiere mayor masticabilidad, posiblemente relacionado con una mayor resistencia de sus fibras reticulares, lo que está inversamente correlacionado con la terneza en la carne cruda.

La realización de un análisis sensorial, mediante la apreciación final de la carne por el consumidor, hubiese ayudado a una mejor evaluación. Probablemente las diferencias alcanzas entre los parámetros de textura de la carne del presente ensayo por efecto del sistema de acabado, no hayan sido suficientes para poder ser percibidas por el consumidor, pues, además, de la modesta significancia en la terneza objetiva, Aalhus *et al.* (2004) documentaron que se requeriría un mínimo de diferencia de 19N, en los valores de la fuerza de corte de WB, para ser apreciadas por el consumidor.

7.4.3. Calidad lipídica del *longissimus thoracis*

En el presente estudio, el sistema de manejo modificó significativamente tanto el contenido de GIM y AG_T en la carne, como su perfil lipídico. El mayor contenido de lípidos y AG_T (mg/100g músculo) observado en la carne de terneros acabados mediante suplementación con pienso (LP y LC) respecto al sistema extensivo (P), concuerda con lo mostrado en la mayoría de los estudios que comparan los efectos del sistema de manejo sobre la deposición de grasa intramuscular (Realini *et al.*, 2004; Leheska *et al.*, 2008; Alfaia *et al.*, 2009; Sami, 2014; Rosa *et al.*, 2014; Morales *et al.*, 2015; Ferrinho *et al.*, 2019). Además, la mayor ingesta de LNA mediante las dietas basadas en forrajes, se relaciona con la reducción de la expresión de la SCD, inhibiendo la síntesis endógena de lípidos en los tejidos de rumiantes (Daniel *et al.*, 2004; Smith *et al.*, 2009b). Sin embargo, otros autores no encontraron diferencias probablemente debido a la comparación entre dietas más equilibradas en cuanto al aporte nutritivo y energético, o debido a la comparación entre animales con similar tasa de crecimiento (French *et al.*, 2000a; Varela *et al.*, 2004; Zea y Díaz, 2008; Daza *et al.*, 2014). La deposición de GIM en la carne de

bovino suele depender del tiempo que los animales consumen dietas altas en concentrado, pues estas dietas conducen a un crecimiento rápido de los terneros (Wood *et al.*, 2008), quienes, además, en condiciones de estabulación, tienen menos requerimientos energéticos que los animales que están pastando libremente (NRC, 2000). Además, los resultados del presente ensayo confirman lo observado previamente por Moreno *et al.* (2007b) al comparar un sistema de manejo extensivo y dos sistemas semiextensivos con diferentes periodos de pastoreo (197 vs. 57d) y acabado en cebadero (50 y 165d), quienes concluyeron que 50d de acabado en dietas altas en concentrados eran suficientes para observar un aumento en el contenido en GIM del LT de terneros RG respecto al manejo en extensivo, llegando a valores comparables a los obtenidos mediante el periodo prolongado; observando además, que la GIM aumenta con el incremento en la cobertura de grasa de la canal (FS). Estos hallazgos también fueron documentados por otros autores que compararon el manejo extensivo con sistemas semiextensivos incluyendo un periodo de acabado con piensos en cebadero de duración variable (0d vs. 1 vs. 2 meses, Aldai *et al.*, 2011), o de acabado en pastoreo de duración fija con diferente cantidad de concentrado (0d vs. 85d con 4kg/d-animal vs. 85d con 8kg/d-animal de pienso suplementado en pastoreo, Rosa *et al.*, 2014); quienes tampoco encontraron diferencias entre los dos sistemas de acabado que incluían concentrado.

Los valores observados para el contenido de GIM en el presente estudio son del orden observado en animales jóvenes (<1año) de raza RG, para los que destaca el bajo contenido medio de grasa (<2,5%), aún mediante sistemas de manejo intensivos o semiextensivos que incluyen períodos de acabado iguales o más prolongados a los del presente ensayo (90d), con dietas altas en concentrados con/sin lactancia materna y con suplementación de pienso convencional (Moreno *et al.*, 2006; 2007b; Bispo *et al.*, 2010a,b; 2011) o enriquecido con semillas oleaginosas (ver resultados Capítulos I, II y III). Por tanto, como ya se ha comentado en los anteriores Capítulos, los animales jóvenes de raza RG producen una carne magra, mostrando, los animales manejados en sistemas extensivos, un contenido de grasa extremadamente bajo (<1%) como previamente observaron Moreno *et al*, (2007b) en terneros de raza RG (0,4%), siendo similares a las observaciones de otros trabajos realizados con razas genéticamente magras (Indurain *et al.*, 2006; Alfaia *et al.*, 2009; Aldai *et al.*, 2011; Horcada *et al.*, 2016).

7.4.3.1. Ácidos Grasos Poliinsaturados (AGPI)

Durante las últimas dos décadas, se han llevado a cabo diversos estudios en los que se compara el efecto del sistema de manejo sobre la composición de AG y, concretamente, sobre la acumulación y distribución de AGPI y productos intermedios de su BH (CLA y *t*18:1), mostrando la carne de los animales acabados en un sistema intensivo unos niveles más bajos de AGPI, específicamente de *n-3* y *n-3*AGPICL, que la de aquellos animales acabados en extensivo (pastoreo sin suplementación de piensos) (French *et al.*, 2000b; Varela *et al.*, 2004; Realini *et al.*, 2004; Moreno *et al.*, 2007b; Razminowick *et al.*, 2008; Alfaia *et al.*, 2009; Aldai *et al.*, 2011; Duckett 2013; Morales *et al.*, 2015) o en dietas basadas en forraje (Aharoni *et al.*, 2004; Dannenberger *et al.*, 2004, 2005; Nuernberg *et al.*, 2005, Leheska *et al.*, 2008; Ferrinho *et al.*, 2019; Bautista-Martínez *et al.*, 2020). Este efecto es todavía más acentuado mediante los sistemas intensivos de larga duración o de mayor proporción de concentrado en la dieta animal, lo que concuerda con los resultados observados en el presente ensayo y está relacionado con la composición de AG en la dieta, pues los forrajes son fuente de LNA mientras que los granos de cereales y las semillas oleaginosas lo son de OA y LA (Schroeder *et al.*, 2004; Wood *et al.*, 2004; 2008). Lo destacable de los resultados del presente estudio es que la suplementación con pienso en las dietas de acabado de los terneros RG durante el pastoreo, y no en el cebadero, mantiene las elevadas proporciones de LNA y AGPI observadas en la carne de los terneros manejados en extensivo. Además, la suplementación durante el pastoreo no reduce la proporción de *n-6* y disminuye las de *n-3* y EPA en menor medida que la suplementación con concentrado y heno en el cebadero; lo que podría estar justificado por la combinación de varios factores que se discuten a continuación.

Por una parte, los terneros suplementados con pienso durante el pastoreo consumieron una menor proporción de éste en la ración final (respecto a los del cebadero), estando, además, enriquecido con linaza (10% MS) seleccionada por su elevado contenido en LNA y su eficacia, frente a los concentrados convencionales, para mantener los elevados niveles de *n-3* en la carne de animales manejados en extensivo al pasar a las dietas de acabado (Razminowicz *et al.*, 2008). Además, mediante los ensayos de los Capítulos previos de esta Tesis, se han confirmado estos efectos en la carne de terneros RG al comparar la inclusión de linaza en el pienso de las dietas típicas de acabado de los sistemas semiextensivos, siendo añadida a diferentes niveles en un pienso

base o frente a un pienso convencional o enriquecido al mismo nivel con otras fuentes oleaginosas en forma de aceite o semilla (ver resultados Capítulos I, II y III). Esto explicaría, además, la ausencia de incrementos en los niveles de LA y *n-6* observada en el presente ensayo, acorde con los hallazgos de Razminowickz *et al.* (2008) al incluir linaza en la ración de acabado, pero sí documentados por otros autores y, normalmente, asociados al incremento de concentrado (rico en cereales de elevada proporción de LA) en la ración o a un mayor tiempo de consumo (0 vs. 80 vs. 200d, Ponnampalam *et al.*, 2006; 0 vs. 50 vs. 165d, Moreno *et al.*, 2007b). En todo caso, el efecto observado sobre *n-6* en el presente ensayo fue de baja significancia, acorde con la ausencia de efectos observada por otros autores con períodos de cebo similares o superiores, en animales de razas magras (Alfaia *et al.*, 2009, 4 meses; Nuernberg *et al.*, 2005, 3 meses; Aldai *et al.*, 2011, 2 meses).

Por otro lado, la alta calidad de la fuente de forraje consumida por los terneros suplementados durante el pastoreo, mejorada respecto al grupo suplementado en el cebadero (pastos frescos frente a heno) y, a su vez, mediante la presencia, en el pasto consumido, de especies leguminosas forrajeras como los tréboles violeta y blanco, lo cual se señala que presenta una gran influencia, tal como se recoge en varias revisiones que estudian el impacto de incrementar la proporción de forraje en la dieta animal y de la especie forrajera, sobre el perfil lipídico de su carne (Moloney *et al.*, 2008; Daley *et al.*, 2010). Se han encontrado mayores deposiciones de AGPI y *n-3* mediante la alimentación con pastos frescos frente a los conservados, aumentando con la cantidad de pasto consumido y la extensión del tiempo en pastoreo (Scollan *et al.*, 2006b); siendo las deposiciones de estos AG, en general, mayores con los forrajes ensilados que con el heno (French *et al.*, 2000b) debido a la mayor pérdida de AGPI que se produce durante el henificado (altas temperaturas) respecto a un ensilado adecuadamente elaborado (Gagliostro y Chilliard, 1992; Glasser *et al*, 2013). En todo caso, las diferencias estarían relacionadas con la diferente composición botánica del forraje, ya sea fresco, ensilado o henificado. Las leguminosas forrajeras son una fuente importante de proteína para los rumiantes, la presencia de estas especies en el pasto puede reducir la dependencia de fuentes proteicas importadas, por otra parte, el menor contenido en pared celular que presentan las especies de leguminosas modifica la velocidad de paso de las partículas del forraje por el rumen, con un incremento de la tasa de paso, en comparación con las

gramíneas, lo que deriva en una menor intensidad de la biohidrogenación de los AGPI (Dewhurst *et al.*, 2003) promoviendo una alta tasa de transferencia del forraje a la carne.

Numerosos estudios señalan incrementos en la deposición de *n-3* mediante el uso de alfalfa frente a mijo o a una mezcla de pastos (Duckett *et al.*, 2013), mediante heno de hierba frente a ensilaje de cebada (Nassu *et al.*, 2011) y mediante trébol violeta frente a heno de hierba (Mapiye *et al.*, 2013a). Scollan *et al.* (2014) señala la existencia de estudios *in vivo* indicando que la GIM de terneros y corderos pastoreando trébol violeta muestra una mayor concentración de LNA que la de aquellos pastoreando raigrás, pero similar a los que consumen pastos con trébol blanco. A una similar conclusión llegan Lee *et al.* (2009) que, comparando la alimentación de vacas de leche de deshecho, mediante ensilaje con mezcla de gramíneas y trébol violeta frente a un ensilaje sólo de gramíneas, sobre la composición de AG del LT. Las observaciones de que la extensión general de la BH ruminal de los AGPI de la dieta disminuye, promoviendo su transferencia a los tejidos al incluir leguminosas forrajeras, particularmente trébol violeta, consumidas tanto ensiladas como en fresco, se han atribuido inicialmente a su elevado contenido de metabolitos secundarios como los compuestos polifenólicos (PP) y a la actividad de la enzima polifenol-oxidasa (PPO) (Van Ranst, 2011), que reduce el alcance de los procesos proteolíticos (Hatfield y Muck, 1999) y lipolíticos (Dewhurst *et al*., 2006) en la planta tras su recolección y en el rumen. La capacidad de la PPO para aumentar la protección de los lípidos de la dieta mediante inhibición de la lipólisis de AGPI y de la BH general, se habría justificado mediante la formación de los complejos proteína-fenol y/o lípido-fenol, protegiendo a los lípidos (AGPI) del metabolismo ruminal inicial (lipólisis) al hacerlos inaccesibles por las enzimas lipolíticas (Lee *et al.*, 2010; Buccioni *et al.*, 2012; Lee, 2014). Moloney *et al.* (2008) documentaron, en una revisión inicial de varios estudios *in vivo*, que parecía existir una tendencia general para los terneros que consumen pastos botánicamente diversos (aportando variedad de compuestos secundarios), hacia mayores niveles de AGPI en la GIM de su carne comparado con los que pastorean pastos de raigrás, a pesar de que ambos pastos tengan un perfil lipídico similar. Las revisiones posteriores de Vasta y Bessa, (2012) y Toral *et al.* (2018) sobre la modulación del metabolismo lipídico ruminal para mejorar el perfil lipídico de los productos de rumiantes, confirman que efectivamente, los hallazgos de los estudios realizados hasta la fecha apuntan hacia la capacidad de ciertos compuestos secundarios presentes en concentración variable entre las especies vegetales, como son los taninos

(Vasta *et al*., 2009a,b; Morales y Ungerfeld, 2015) y las saponinas (Brogna *et al.*, 2011), para modular favorablemente la BH ruminal y favorecer el aumento de AGPI en el fluido ruminal y en la carne, eso sí, con ciertas inconsistencias debido a la diversidad de componentes activos, dosis empleadas, condiciones experimentales (*in vivo in vitro*), metodología empleada y especies de rumiantes estudiadas. La respuesta a la mayoría de estos compuestos PP (taninos, saponinas y aceites esenciales) distintos a la PPO podría estar fuertemente mediada por su impacto en la población microbiana, observándose efectos aditivos o sinérgicos de su uso combinado (forrajes ricos en PPO y taninos) (Campidonico *et al.*, 2016). Para aumentar el conocimiento de este proceso y entender a qué se deben los diferentes efectos entre distintos taninos, gracias al avance de la metodología analítica, se han realizado diversos trabajos *in vitro* e in *vivo* durante la última década en los que se evaluaron los efectos de la inclusión de PP en la dieta de rumiantes sobre la población microbiana ruminal responsable de la BH de los AGPI, recientemente revisados por Vasta *et al.* (2019). Estos autores concluyen que, en general, los PP son capaces de inhibir o modular la BH de los AGPI mediante perturbación de la población microbiana, observando consistentemente una disminución de 18:0 en el fluido ruminal y una acumulación de TVA y RA, independientemente del tipo de PP considerado, mostrando los taninos condensados y ciertos PP no tanínicos una acción inhibitoria mayor sobre la población microbiana que los taninos hidrolizados, resultando en una inhibición general y acumulación de AGPI (disminución del metabolismo ruminal inicial de AGPI, inhibición lipólisis) (Campidonico *et al.*, 2016; Alves *et al.*, 2017; Doreau *et al.*, 2017), mientras que los taninos hidrolizados mostraron capacidad para modular la BH mediante inhibición específica de la última etapa (reducción de t18:1 a 18:0) (Khiaosa-Ard *et al.*, 2009; Vasta *et al.*, 2009a,b), incrementando la acumulación de TVA y RA en el rumen. A pesar de las diferencias encontradas según la cantidad añadida y naturaleza de los PP, su inclusión en las dietas de rumiantes parece ser efectivo en la inhibición de la BH completa, resultando en un enriquecimiento de AGPI, RA y TVA en la carne y la leche de aquellos animales cuyas dietas contienen una elevada proporción de forrajes de calidad.

Por último, mantener la lactancia materna durante el período de acabado, mediante la suplementación de pienso en la propia parcela de pastoreo (LP), también pudo contribuir a la deposición de *n-3* en el LT de los terneros, pues el destete supone un cambio importante en el metabolismo digestivo de los terneros y tiene gran influencia en

las características del producto final. En esta línea, los estudios realizados con terneros de raza RG para evaluar los efectos del destete durante la fase de acabado sobre la calidad nutricional de la GIM de su carne, indican que el consumo de leche materna, cuyo perfil lipídico está mejorado por el pastoreo de las vacas, favorece la deposición de *n-3*, LNA y/o AGPI aún estando los terneros estabulados y sin consumo de pasto fresco, como confirman los resultados de Moreno *et al.* (2006) y Bispo *et al.* (2010b; 2011) al comparar el efecto destete y distintas edades de destete, respectivamente, en los sistemas intensivos y semiextensivos con acabado en cebadero típicamente empleados con animales RG.

Del mismo modo que se ha encontrado la menor proporción de AGPI en la carne de los animales estabulados, sugiriendo una BH más extensa de los AGPI de la dieta (mayor % de 18:0 y OA en su carne, Tablas 7.9 y 7.8, respectivamente), las proporciones alcanzadas de AGPI, LNA y *n-3* mediante el manejo extensivo y el semiextensivo con suplementación en pastoreo (AGPI= 20% y LNA= 3,7%, valores promedio para P y LP; *n-3*= 7,8% para P y 6,1% para LP), han sido superiores a las observadas mediante los sistemas semiextensivos evaluados en los ensayos de los Capítulos previos (AGPI= 9%, LNA= 1,6% y *n-3*= 2,5%, con aceite de linaza (5%MS) en el Capítulo I; AGPI= 12%, LNA= 1,2% y *n-3*=2,9% con linaza extrusionada (10%MS) en el Capítulo II y AGPI= 17%, LNA= 2,6% y *n-3*= 4,5% con linaza extrusionada (10%MS) en el Capítulo III), confirmando que la presencia y abundancia de pasto fresco de calidad en la dieta de acabado contribuye de alguna manera a facilitar las condiciones ruminales adecuadas que conducen a la deposición de AGPI. El manejo semiextensivo con suplementación de pienso durante el pastoreo muestra, en cambio, la misma limitación que la suplementación en cebadero respecto a mantener las elevadas proporciones de *n-3*AGPICL encontradas en el LT de los terneros en extensivo, a pesar de haber alcanzado similar nivel de LNA en carne, precursor de la serie *n-3* (Daley *et al.,* 2010; Scollan *et al.*, 2014). Noci *et al.* (2005) observaron incrementos en la deposición de LNA y *n-3*AGPICL al aumentar el tiempo en pastoreo, pero en la mayoría de estudios que evalúan el efecto de la alimentación con fuentes oleaginosas ricas en LNA no se observaron incrementos de EPA y DHA en la carne de rumiantes (Vahmani *et al.*, 2017b), siendo más eficiente la suplementación directa con *n-3*AGPICL mediante aceites de pescado (Noci *et al.*, 2007; Dunne, 2011; Parvar *et al.*, 2017) y algas (Hopkins *et al.*, 2014; Phelps *et al.*, 2016). Esto confirma la baja eficiencia de conversión de LNA a EPA, DPA y DHA (Pawlosky *et al.*,

2001), compitiendo, además, con los *n-6*AGPI por la absorción y uso de enzimas de elongación y desaturación (Raes *et al.*, 2004a).

7.4.3.2. Ácido linoleico conjugado (CLA), ácido linolénico conjugado (CLNA) y dienos atípicos no conjugados del ácido linoleico (nCLA)

La BH incompleta de los AGPI libres obtenidos en el rumen tras la hidrolización de los lípidos de la dieta (Harfoot y Hazlewood, 1997; Jenkins *et al.*, 2008), resulta en la acumulación de AGPI y/o de metabolitos intermedios en el duodeno que incluyen i) ácidos grasos *trans* monoenos (*t*AGMI), *t*18:1 mayoritariamente y TVA específicamente, ii) dienos y trienos conjugados del LA (CLA, principalmente $CLA_{c9,t11}$) y del LNA (CLNA, principalmente RLA), y iii) dienos atípicos no-conjugados (nCLA) (Shingfield, 2013). Las cantidades de estos productos intermedios que logran incorporarse a los lípidos de los tejidos son residuales (Vahmani *et al.*, 2020), pero pueden ser utilizados por las elongasas y desaturasas en la síntesis de *novo*, obteniendo, por ejemplo, dienos *c*/*t* de los *t*AGMI (excepto los isómeros *t*9 y *t*10) (Shingfield, 2013).

En el presente experimento se observó una mayor acumulación de ΣnCLA (0,75-1,17% del total de AG) que de ΣCLA (0,60-0,74%), lo que es consistente con estudios previos de alimentación con linaza o forraje, fuentes ricas en LNA (Nassu *et al.*, 2011; Mapiye *et al.*, 2013a; b). Existe evidencia de que el principal precursor de CLA_{c9t11} de origen ruminal es el LA (Troegeler-Meynadier *et al.*, 2006; Bessa *et al.*, 2007; Jenkins *et al.*, 2008), conduciendo, las rutas de BH del LNA, preferiblemente hacia CLNA en vez de CLA (Lee y Jenkins, 2011), como se refleja de la mayor proporción de ΣCLNA observada con el sistema extensivo del presente ensayo. Además, se ha confirmado que las rutas de BH del LNA también transcurren con acumulación de múltiples isómeros CLA y dienos no conjugados (nCLA) mediante la alteración de las condiciones ruminales (pH, población microbiana), afectadas tanto por la proporción de la fracción no lipídica en la dieta como por la suplementación con fuentes oleaginosas, como se confirma de estudios *in vitro* y con vacas de leche (Sterk *et al*., 2010; Lee, 2013; Vargas *et al*., 2017). De hecho, la mayor acumulación de ΣnCLA observada mediante el sistema semiextensivo con suplementación de pienso durante el pastoreo respecto a los otros dos sistemas, podría deberse a la contribución de i) un mayor aporte de LNA, respecto a LC, relacionado con la mayor proporción de forraje consumido, y de ii) una inhibición mayor

en la última etapa de BH; debido, por un lado, al mayor aporte graso y mayor presencia de AGPI libres en el rumen, respecto a P, pues la enzima PPO y los compuestos PP parecen proteger de la lipólisis exclusivamente los AGPI del forraje, no a todos los AGPI de la dieta (); y por otro lado, a la capacidad de la PPO y los PP del pasto fresco para modular la BH, respecto a LC; resultando en una mayor acumulación de los intermedios de la BH de los AGPI de la dieta. La mayor acumulación de dienos y trienos alcanzada mediante la suplementación del concentrado durante el pastoreo (ΣnCLA+ ΣCLNA+ ΣCLA= 2,11 vs. 1,72% valor promedio para P y LC), confirmaría esta teoría.

Que la proporción del isómero no conjugado *t*11,*c*15 mediante la dieta LP haya sido casi del mismo orden que la del CLA_{c9t11}, concuerda con los resultados obtenidos por otros autores mediante dietas basadas en forraje en comparación con granos de cereales (Faucitano *et al.*, 2008), o mediante la inclusión de linaza en dietas altas en forraje (Nassu *et al.*, 2011; Mapiye *et al.*, 2013a,b), señalando que este isómero se produce mediante la reducción del CLNA durante la biohidrogenación del LNA (Alves y Bessa, 2014). La proporción de *t*11,*c*15 (0,4) fue menor que la mostrada por otros autores que incluyen linaza en dietas altas en forraje (~0,9% Nassu *et al.*, 2011 y Mapiye *et al.*, 2013a; 1,65% Mapiye *et al.*, 2013b), y aunque las implicaciones en la salud humana de consumir carne enriquecida en nCLA requiere más investigación, el incremento de su proporción en carne respecto a los otros dos sistemas, sería de particular interés, pues el *t*11,*c*15 podría desaturarse a RLA, con propiedades potencialmente beneficiosas para la salud similares a las del $CLA_{c9,t11}$ (Hennessy *et al.*, 2011; Bialek *et al.*, 2017). Precisamente, la proporción de ΣCLNA y de RLA, su isómero principal, fue significativamente mayor para los terneros manejados en extensivo (P, 0,305 y 0,228%) respecto a los suplementados con pienso (0,188 y 0,108% valores promedios de CLNA y RLA, respectivamente, para LP y LC) y del orden observado por otros autores que emplearon la misma fuente de *n-3* en dietas altas en forraje (0,22-0,27% de CLNA y 0,17-0,22% de RLA; Nassu *et al.*, 2011 y Mapiye *et al.*, 2013a, respectivamente). Las diferencias respecto a LC se explicarían por el mayor aporte de LNA de las dietas en extensivo pero su mayor nivel respecto a LP indica nuevamente q las rutas y/o tasas de BH mediante extensivo no se vieron alteradas como con los sistemas con pienso que transcurren hacia mayor acumulación de nCLA (alteración condiciones ruminales), señalando que una mayor presencia de forraje de elevada calidad en la dieta resulta en mayores acumulaciones de intermedios iniciales de la BH del LNA.

Las proporciones de ΣCLA fueron ligeramente más elevadas en la carne de los animales que consumieron hierba fresca, mediante los sistemas extensivo (P) y semiextensivo con suplementación de pienso durante el pastoreo (LP), respecto a los animales estabulados (L); mostrando, la suplementación en pastoreo, una tendencia hacia deposiciones superiores del isómero principal, el CLA_{c9t11}. Existen varios estudios en los que se concluye que la carne de sistemas extensivos o de dietas basadas en forraje tiene mayor proporción de CLA_{c9t11} en su GIM que la carne de animales finalizados en sistemas intensivos (French *et al.*, 2000b; Realini *et al.*,2004; Dannenberger *et al.*, 2005; Alfaia, 2009; Daley *et al.*, 2010; Ferrinho *et al.*, 2019; Bautista-Martínez *et al.*, 2020), relacionado con el mayor contenido de AGPI (LA y LNA) en los forrajes (Boufaïed *et al.*, 2003), respecto a los piensos convencionales, y con su capacidad (PPO y metabolitos secundarios de las plantas) para inducir las condiciones ruminales adecuadas (pH, carbohidratos) que contribuyen a aumentar la producción de TVA como precursor de CLA_{c9t11}. Mediante la suplementación con piensos enriquecidos en semillas oleaginosas se puede igualar el aporte de AGPI (LA y LNA) de las dietas en pastoreo, resultando en incrementos de CLA_{c9t11} y TVA en carne respecto a piensos convencionales, con cierta especificidad, siendo las semillas oleaginosas ricas en ácido linoleico la estrategia empleada por ser su principal precursor ruminal (Bessa *et al.*, 2009). En nuestro caso, el pienso estaba enriquecido en linaza, por lo que el aporte dietético de LA fue similar entre sistemas (reflejado en su similar deposición en carne), de modo que su contribución al CLA_{c9t11} de origen ruminal debiera ser similar, sugiriendo que, mediante los sistemas extensivo y semiextensivo en pastoreo, la mayor formación de CLA_{c9t11} estaría favorecida por el mayor aporte dietético de AGPI, específicamente de LNA, debido a la mayor proporción de forraje en la dieta y al incremento de su calidad (pasto fresco vs. heno) respecto al sistema intensivo. De hecho, aunque la BH del LNA no incluye CLA_{c9t11} como intermediario principal (Lee, 2013), la mayor parte del CLA_{c9t11} en rumiantes deriva de su síntesis endógena a partir del TVA mediante la enzima Δ9-desaturasa, ampliamente distribuida en bacterias ruminales como *Butirivibrio fibrisolvens*, las glándulas mamarias y los tejidos muscular y graso (Griinari *et al.*, 2000), siendo el TVA un intermediario común en la BH del LNA y LA (Harfoot y Hazelwood, 1997). Con el aumento de la proporción de forraje en la dieta y la mejora de su calidad, se estaría contribuyendo por un lado con un aporte extra de AGPI, en cuanto a la fracción lipídica, y por otro, con la presencia de compuestos como la PPO y los PP; de modo que, debido a los posibles efectos de estos compuestos sobre los microorganimos ruminales

involucrados en la etapa final de la BH (Lourenço *et al.*, 2010; Toral *et al.*, 2018; Vasta *et al.*, 2019), se lograría una mayor acumulación de TVA que, una vez absorbido, estaría disponible para la síntesis endógena de CLA mediante la SCD9 (Griinari *et al.*, 2000). El sistema de manejo tuvo un impacto todavía mayor sobre la distribución de isómeros CLA que sobre la proporción ΣCLA, pues aunque el CLA_{c9t11} fue el isómero más abundante mediante alimentación con todas las dietas, con el consumo de hierba fresca, se observaron aumentos en aquellos isómeros CLA cuyo primer doble enlace se encuentra en el carbono 11 o superior (*t*11,*t*13; *t*12,*t*14; *t*11,*c*13; *c*11,*t*13) y disminución en los *t*7,*c*9 y *t*10,*c*12. Así, el isómero *t*7,*c*9 paso a ser el segundo isómero CLA más abundante en la carne de terneros que consumieron concentrado (6,64% del total de isómeros CLA, valor promedio para LP y LC), ocupando ese lugar el isómero *t*11,*t*13 en la carne procedente del sistema extensivo (6% del total de CLA para P). Este patrón observado en el perfil de isómeros CLA coincide con los resultados documentados por varios autores cuando compararon el efecto del sistema de manejo sobre el perfil de CLA (Dannenberger *et al.*, 2005; Alfaia *et al.*, 2009; Aldai *et al.*, 2011), sugiriendo que las variaciones encontradas en el perfil lipídico del CLA estarían relacionadas con las diferentes ingestas de pasto fresco o forrajes y que se podría pensar en esos isómeros como indicadores sensibles a la ingesta de hierba, pero, los incrementos en la proporción de isómeros con doble enlace más allá del carbono 11 están relacionados con la ingesta de LNA, no específicamente con forraje, pues Nassu *et al.*(2011) y Mapiye *et al.* (2013a) encontraron incrementos en estos isómeros al incluir linaza en dietas con un contenido elevado en forraje.

En todo caso, el porcentaje promedio de CLA total observado en la carne de los terneros que consumieron pasto (P y LP) (0,73%) fue del orden observado en el capítulo anterior (III, 0,7%) y ligeramente superior al observado en los ensayos de los Capítulos I y II (0,5%) mediante la suplementación con aceites libres o con semillas, respectivamente; situándose en el nivel superior del rango de CLA total normalmente observado en la carne de vacuno (3,4–8,2 mg/g de grasa) (Vahmani *et al.*, 2020). Concretamente, el valor promedio de $CLA_{c9,t11}$ (RA) para P y LP (0,53%), el isómero de CLA generalmente más abundante y de propiedades específicas, fue superior al observado en el ensayo del capítulo anterior independientemente del nivel de linaza suplementado en el concentrado ($CLA_{c9,t11}$ = 0,4%, valor promedio, Cap. III), situándose de nuevo en el rango alto de los valores documentados para $CLA_{c9,t11}$ en carne de rumiantes (2,3 y 6,2 mg/g de grasa; Vahmani *et al.*, 2020).

7.4.3.3. Ácidos Grasos *trans* Monoinsaturados (*t*AGMI)

La producción de *t*18:1 en rumiantes ocurre a partir de la BH microbiana de los AGPI en el rumen (Lee y Jenkins, 2011), siendo los principales productos intermedios (Jenkins *et al.*, 2008), con mayor presencia que los dienos y trienos conjugados. La proporción de *t*18:1 que consigue pasar al duodeno y ser posteriormente depositada en la carne, depende principalmente de los niveles de sus precursores (AGPI) en la dieta y de las condiciones de BH en el rumen (Lee y Jenkins, 2011). Si los AGPI no están protegidos ni presentes en cantidades suficientes para promover su paso ruminal, se biohidrogenan extensivamente para formar ácido esteárico (18:0) como producto final (Jenkins *et al.*, 2008). En este sentido, se han diseñado varias estrategias para proteger a los AGPI de la BH completa y/o incrementar su paso al duodeno y consecuentemente incrementar la proporción de sus productos intermedios, especialmente TVA, en la carne de rumiantes (Dugan *et al.*, 2011). El mayor aporte de AGPI mediante una mayor proporción de pasto fresco (LNA) en la dieta, o mediante suplementos dietéticos como los aceites vegetales/semillas oleaginosas (*ricos en OA: canola y cártamo; ricos en LA: girasol, soja y maíz; ricos en LNA: linaza*) y los aceites de pescado y algas (ricos en DHA y EPA), se ha visto que aumenta las proporciones de AGPI y TVA en carne (Mapiye *et al.*, 2012a; Shingfield *et al.*, 2013; Scollan *et al.*, 2014), variando este incremento y, favoreciendo la deposición de AGPI o intermedios de la BH, según las características de la dieta; afectando, en general, negativamente a la eficacia de la BH (acumulación de t18:1), por ejemplo: el mayor consumo de grasa, específicamente de AGPI, el mayor consumo de concentrado o menor de forraje, el menor tamaño de partícula y la ausencia de compuestos con capacidad tampón (Dugan *et al.*, 2011). Los aumentos en la acumulación de *t*18:1 totales e individuales se han atribuido a la inhibición de la reducción final de *t*18:1 a 18:0 propiciada por la presencia en el rumen de metabolitos vegetales presentes en los forrajes de calidad (Vasta *et al.*, 2019) y por los propios AGPI libres en el rumen, específicamente, por aquellos de mayor grado de insaturación, debido a sus efectos tóxicos sobre las bacterias que llevan a cabo esta etapa final de la BH (Lourenço *et al.*, 2010).

En el presente experimento, el nivel de AGPI consumido diariamente por los animales suplementados con el pienso enriquecido, especialmente los del grupo suplementado durante el pastoreo (204 g AGPI/animal-día), fue ligeramente superior al de los animales manejados en extensivo (172 g AGPI/animal-día) y al de los estabulados

(184 g AGPI/animal-día), pero, quizás insuficiente para justificar el efecto observado en la acumulación de *t*18:1 y, especialmente, de TVA. Estos resultados reflejan, como ya se ha comentado, que la influencia de los AGPI es muy dependiente de la composición de la dieta base, especialmente de la cantidad y tipo de forrajes y granos, influyendo en gran medida sobre la protección frente a la lipólisis y la BH en general. De hecho, se ha observado que el tipo de forraje y la inclusión de semillas oleaginosas pueden tener efectos sinérgicos sobre la acumulación de *t*18:1, siendo mayor la respuesta a la inclusión de AGPI que al tipo de forraje (Nassu *et al.*, 2011; Mapiye *et al.*, 2013a). Acorde con esta teoría, la mayor acumulación de *t*18:1 observada en el presente ensayo mediante las dietas suplementados con pienso, respecto al sistema extensivo, podría deberse a la combinación de una menor proporción de forraje en la dieta (diferente ecosistema ruminal y AGPI menos protegidos de la lipólisis) y a la inclusión de linaza en el pienso (aporte extra de AGPI poco protegidos, acumulando *t*18:1 y saturando última etapa). El aumento en la proporción *t*18:1 mediante el consumo del pienso durante el pastoreo, respecto al consumo en cebadero, y, especialmente sobre las proporciones de TVA y de la suma *t*13+*t*14, sugiere que las diferencias se deben a la mayor proporción de forraje consumida y a la mayor presencia, en el pasto fresco respecto al conservado, de metabolitos vegetales secundarios y de la enzima PPO, capaces de alterar y modular las tasas de BH de AGPI en el rumen (Lourenço *et al.*, 2010; Vasta *et al.*, 2019).

En cuanto a las variaciones en las deposiciones individuales de *t*18:1, aunque los mecanismos que originan los cambios en el patrón de BH y la regulación de la distribución de isómeros *t*18:1 en el músculo de la carne de bovino y otros tejidos adiposos siguen sin estar claros, se ha observado que las proporciones de los *t*18:1 más abundantes, *t*10 y *t*11, están profundamente relacionadas con la composición de la dieta; aquellas ricas en almidón fácilmente degradable reducen el número de bacterias celulolíticas en el rumen, aumentando el número de especies que fermentan almidón y desplazando la BH de LA a *t*11-18:1 hacia *t*10-18:1 (Chilliard *et al.*, 2007; Lourenço *et al.*, 2010; Dugan *et al.*, 2011; Buccioni *et al.*, 2012). Así, en la revisión de Mapiye *et al.* (2015) sobre el perfil *trans*-18:1 de la carne, se documenta que, al comparar sistemas de alimentación extremos (Alfaia 2009; Aldai 2011), este "cambio *t*10" es mayor cuanto mayor es la disponibilidad de almidón en el rumen; favoreciéndose, en cambio, la deposición de TVA, respecto a la de *t*10-18:1, mediante la finalización en dietas basadas en forrajes, y mediante forrajes frescos o ensilados frente a los henificados (Mapiye *et al.*,

2013a). La ingesta de pasto fresco parece mitigar el "cambio *t*10" y, aunque se conoce poco acerca del proceso, se han asociado menores concentraciones de *t*10 en la digesta con la ingesta de taninos en la dieta (presentes en el pasto fresco) y su capacidad para modular las desviaciones de las rutas de BH (Khiaosa-Ard *et al.*, 2009). Las diferencias observadas entre diferentes tipos de forrajes no están claras, documentándose que se podrían atribuir a las variaciones en los carbohidratos disponibles, en los microorganismos transmitidos o en las tasas de paso ruminal y duodenal (Kong *et al.*, 2010; Petri *et al.*, 2014; Vasta *et al.*, 2019).

En concordancia con las observaciones de otros trabajos citadas anteriormente, en el presente ensayo, el sistema de acabado tuvo también un gran efecto sobre la distribución individual de *t*18:1. Aunque el TVA se mantuvo como el isómero *t*18:1 mayoritario en carne mediante la alimentación con cualquiera de los sistemas estudiados (47, 41 y 37% del total de *t*18:1 para P, LP y LC, respectivamente), su abundancia disminuyó a medida que incrementó la proporción de concentrado en la dieta, pasando a ser, el isómero *t*10-18:1, el segundo y el tercer isómero *t*18:1 más abundante, respectivamente, en la carne de los terneros alimentados con pienso en cebadero (LC, 17 % respecto al Σ*t*18:1) y durante el pastoreo (LP, 15 % respecto al Σ*t*18:1). En cambio, su presencia es baja en la carne de aquellos terneros criados sin suplementación con pienso (*t*10-18:1= 6% del Σ*t*18:1, dieta P), ocupando el sexto lugar en abundancia; siendo, el isómero *t*13*t*14 el segundo más abundante en el caso de los sistemas con consumo de hierba fresca (17% respecto al Σ*t*18:1, para P y LP). El que no se haya alcanzado totalmente el "cambio *t*10" (*t*10/*t*11 >1) en las rutas de BH, asociado a dietas altas en concentrado, es algo positivo, pues el isómero *t*10 es uno de los potencialmente negativos para la salud humana (Wang *et al.*, 2012) y se han investigado diversas estrategias para mitigar este efecto en las dietas altas en concentrado, incluyendo el uso de promotores de crecimiento y tampones o antioxidantes a la dieta base, sin mostrar ninguna modificación exitosa sobre el perfil de los intermedios de BH en rumiantes (Mapiye *et al.*, 2015; Scollan *et al.*, 2017; Chikwanha *et al.*, 2018). La atenuación observada para este efecto en el presente ensayo en los sistemas con dietas altas en concentrados (LP y LC) estaría más bien relacionada con la fuente de AGPI, la linaza (rica en LNA), pues otros autores han señalado cierta especificad de los suplementos ricos en OA, LA y LNA para alterar la distribución de los *t*18:1, dando como resultado el enriquecimiento específico de *t*6-*t*9-, *t*10-*t*12 y *t*11-*t*16, respectivamente (Duckett y Gillis, 2010; Mapiye *et al.*, 2013a;

Shingfield *et al.*, 2013). La fracción no lipídica de la dieta seguramente haya tenido gran influencia también, pues el concentrado contenía baja proporción de granos de cereales y una elevada presencia de subproductos ricos en fibra, como suelen ser las dietas típicas de acabado de terneros RG, sin descartar la posibilidad de atribuirse al mayor contenido de vitamina E en el rumen, asociado con la ingesta de pasto fresco (Pottier *et al.*, 2006) (como en P y LP) o con su adición en la dieta (Juárez *et al.*, 2010), como es el caso de las evaluadas en este estudio.

Finalmente, mediante el incremento observado en la acumulación de Σ*t*AGMI en carne al suplementar con el concentrado enriquecido en linaza durante el pastoreo, se alcanzó una proporción superior de Σ*t*18:1 (~6%) a la observada mediante el sistema semiextensivo con acabado en cebadero y suplementación con semilla extrusionada de linaza (10%MS) en el ensayo del Capítulo II de la presente Tesis (dieta SL, ~3% de Σ*t*18:1), llegando a un nivel similar, aunque ligeramente inferior, al observado en el ensayo del Capítulo III (dieta L10, ~7% de Σ*t*18:1) mediante la inclusión de linaza en dietas reductoras del pH (alta proporción de maíz). El aumento en la proporción de Σ*t*18:1 con respecto a nuestros previos ensayos podría considerarse como negativo, pero en todo caso, el nivel alcanzado no excedió el rango normalmente observado de *t*AG de origen natural en carne mediante estrategias de suplementación que combinan forrajes y oleaginosas (2,65–11,0 % del total de AG, Mapiye *et al.*, 2015); mientras que su proporción en los aceites parcialmente hidrogenados asciende hasta un 60% del total de ácidos grasos (Stender *et al.*, 2008). Destacando, además, por encima de todo, que el aumento en *t*18:1, mediante la combinación del consumo de pienso enriquecido en linaza y pasto fresco, se debió principalmente al incremento en el TVA, resultando en una proporción superior (2,36%) a la observada en cualquiera de nuestros ensayos previos mediante suplementación con aceite de lino (1,77% de TVA, Cap. I) o linaza extrusionada incluida al mismo nivel (10% MS) en el concentrado (1,29 y 1,77% de TVA en los Cap. II y III, respectivamente) llegando a niveles comparables a los observados con aceite de soja (2,30%, Cap. I). Debido al conocimiento de las propiedades del TVA y al creciente interés de enriquecer la carne en compuestos más saludables, la alimentación mediante el sistema semiextensivo con pasto fresco y linaza, sería, bajo estas condiciones experimentales, mejor opción que el sistema extensivo y el semiextensivo en cebadero. En todo caso, sería necesario investigar y comprender los efectos de otros isómeros *t*18:1

como los *t*13 y *t*14, pues su proporción se vio incrementada también mediante la suplementación del pienso durante el pastoreo.

7.4.3.4. Ácidos Grasos *cis* Monoinsaturados (*c*AGMI)

La proporción total de *c*AGMI, compuesta principalmente de ácido oleico (*c*9-18:1) (80-84% respecto al total de *c*AGMI) independientemente del sistema de acabado, fue superior para la carne del sistema semiextensivo con suplementación en cebadero, mediante el que los animales consumieron una mayor proporción de concentrado y una fuente de forraje de menor calidad, acorde con lo previamente observado al comparar sistemas de alimentación basados en forrajes o en concentrados como se indica en la revisión de Daley *et al.*(2010). La proporción de *c*AGMI en carne está asociada positivamente con el contenido de GIM (Duckett *et al.*, 1993), derivando la mayoría de OA de la síntesis endógena a partir de AGS (18:0) vía SCD. La actividad de esta enzima, además, se ha visto incrementada a medida que se acumula la GIM (Smith *et al.,* 2009a; Brooks *et al.,* 2011), lo que podría explicar unas proporciones de OA superiores en los sistemas semiextensivos con suplementación respecto al extensivo. Sin embargo, dado que la alimentación mediante ambos sistemas semiextensivos resultó en una deposición de GIM comparable, la menor proporción de OA observada mediante la suplementación en pastoreo respecto al cebadero, podría estar relacionada con la mayor calidad (mayor aporte AGPI) y proporción de forraje consumido, pues una mayor ingesta de LNA mediante dietas basadas en forrajes, se ha asociado con una posible depresión de la actividad SCD (Smith, 2009a), aunque los datos *in vivo* de la actividad SCD son poco concluyentes (Faulconnier *et al.*, 2018). La mayor inhibición de la última etapa de la BH, observada mediante la suplementación de pienso en pastoreo y causando una menor acumulación del producto final, el 18:0, podría haber contribuido a la menor formación de OA, pues habría menos sustrato disponible para su síntesis en los tejidos. Además, si la combinación de suplementar el pienso enriquecido en LNA y consumir una proporción superior de forraje de mayor calidad en la dieta, causó alteraciones en la población microbiana resultando en una modulación de la BH por inhibición de la etapa final y acumulación de TVA (Vasta *et al.*, 2019), éste, una vez depositado en los tejidos, podría haber competido con el 18:0 por la SCD para la síntesis endógena de CLA.

7.4.3.5. Ácidos Grasos Saturados (AGS) y de Cadena Ramificada (AGCR)

El porcentaje total de AGS permaneció inalterado por efecto del sistema de manejo, viéndose afectada, en cambio, su composición, modificando las proporciones de los AGS principales, el 16:0 y el 18:0 (48-52% y 39-43% del total de AGS, respectivamente). La proporción de 16:0 se ha visto incrementada mediante la suplementación con pienso, acorde con la revisión de Daley *et al.*(2010) y con la mayoría de los trabajos recientes que comparan el efecto del sistema de acabado sobre el perfil de AG (Rosa *et al*, 2014; Ferrinho *et al.*, 2019); relacionado, probablemente, con el mayor aporte de este AG en los concentrados respecto al pasto fresco (Tabla 7.2) y con la mayor síntesis endógena de AG, favorecida mediante dietas basadas en granos de cereales y concentrados (Daley *et al.*, 2010). Estas dietas son particularmente efectivas elevando la disponibilidad metabólica de glucosa, resultando en una actividad incrementada de las rutas enzimáticas lipogénicas, particularmente las catalizadas por la ácido graso sintasa y la SCD (Smith *et al.*, 2009). Por otro lado, se ha documento que la carne procedente de sistemas extensivos posee una elevada proporción de 18:0, disminuyendo con el nivel de concentrado (Rosa, 2014). Similares resultados fueron documentados por Horcada *et al.* (2016) al comparar, en tres razas genéticamente magras, la alimentación mediante una ración mixta (de forraje y concentrado) o una ración concentrada, mientras otros autores no encontraron diferencias en la proporción de 18:0 en la carne al prolongar el periodo de acabado en cebadero (Aldai *et al.*, 2011) o al comparar carne de sistemas ecológicos frente a los convencionales (Turner, 2015). Sin embargo, en el trabajo de Daley *et al.* (2010), la mayoría de los estudios revisados, muestran proporciones de 18:0 superiores en la carne de terneros alimentados a base de forraje frente a aquellos que consumieron pienso, resultado de una BH ruminal más completa de los AGPI de la dieta (Buccioni *et al.*, 2012), presentes en mayor proporción generalmente, en las dietas basadas en forrajes. Teniendo esto en cuenta, se podría decir que los animales acabados en pastoreo tienden a producir una composición de AGS más favorable, pues se ha visto que el 18:0 posee efectos neutros sobre el colesterol sérico, siendo los 14:0 y 16:0 más perjudiciales en este aspecto (Williams, 2000; Givens, 2005). Lo destacable del presente ensayo, es que los dos sistemas extremos (extensivo frente a semiextensivo en cebadero), mostraron proporciones similares de 18:0. Por un lado, las dos dietas aportaron similar AGPI, pero los de la dieta P estarían más protegidos frente a la lipólisis (y primeras etapas del

metabolismo ruminal, acumulándose más AGPI y CLA en carne), pero con un efecto menor sobre la modulación de la BH, por lo que aquellos AGPI que se hayan hidrolizado, una vez libres, hidrogenarán hasta el 18:0, acumulándose menos *t*AGMI en su carne. En cambio, las elevadas proporciones de 18:0 observadas para el sistema semiextensivo en cebadero, serían mayormente resultado de la menor protección de los AGPI de la dieta frente a la lipólisis y primeras etapas, quedando probablemente mayor cantidad de AGPI libres en el rumen susceptibles a la BH, pues, a pesar de haberse observado inhibición de la última etapa mediante acumulación de *t*AGMI, la deposición de 18:0 en los tejidos ha sido elevada; como se confirma de la mayor proporción de OA (producto de la síntesis endógena a partir del 18:0 depositado) (Tabla 7.8). La significativa reducción en la proporción de 18:0 observada mediante la suplementación de pienso durante el pastoreo, mayor que el incremento en la de 16:0 respecto al extensivo, no se debe a que éste (18:0) haya sido sustrato para la síntesis de OA vía SCD, pues la proporción de OA ha sido del orden observado para el sistema extensivo y menor respecto al semiextensivo en cebadero. Todo apunta de nuevo a la teoría de que la calidad del forraje en la dieta y el aumento en su proporción favoreció la protección de los lípidos (AGPI del forraje) frente a la lipólisis, y que, además, se produjo una inhibición de la etapa final de la BH (por efecto de los AGPI de la dieta que no forman parte del forraje), obteniéndose menos 18:0 como producto final y una mayor acumulación de *t*AGMI.

Las proporciones de ΣAGCR en la carne del presente ensayo han mostrado relación directa con la proporción de forraje en la dieta, relacionado con la proliferación de bacterias celulolíticas ruminales, promovida por la presencia de forraje, y aumentando la salida de AGCR y AG de cadena impar (C15:0) (Vlaeminck *et al.*, 2006a, b). Los sistemas de producción que mejoran el contenido de AGCR pueden ser más deseados debido a sus posibles efectos anticancerígenos (Wongtangtintharn *et al.*, 2004).

7.4.3.6. Índices de calidad lipídica: AGPI/AGS y n-6/*n-3*

El aumento de la relación AGPI/AGS en la carne, respecto al sistema semiextensivo en cebadero, fue comparable entre los sistemas extensivo y semiextensivo durante el pastoreo; debido, exclusivamente, a los correspondientes aumentos en la proporción de ΣAGPI, pues el sistema de acabado no ha mostrado influencia significativa sobre la proporción total de ΣAGS. Estos resultados sugieren que las diferencias entre el

sistema extensivo y el de acabado en cebadero podrían estar relacionadas con los efectos de la menor deposición de GIM alcanzada por los animales acabados en pastoreo, mostrando ésta, una mayor proporción de fosfolípidos (ricos en AGPI). En cambio, el contenido de GIM del LT resultó comparable entre los dos sistemas semiextensivos con suplementación de pienso, confirmándose que las dietas que incluyen más proporción de forraje de mayor calidad propician las condiciones ruminales adecuadas (mayor protección de los AGPI del forraje por su compuestos bioactivos e inhibición de la lipólisis previa a la BH) para facilitar un mayor paso ruminal de los AGPI de la dieta. El valor promedio de la relación AGPI/AGS (0,51), observado mediante P y LP, fue bastante superior al rango normalmente observado en carne de bovino (0,10-0,15) mediante estrategias de suplementación con semillas oleaginosas (Vahmani *et al.*2017b), pero del orden observado en sistemas basados en pastoreo, y específicamente, con razas magras (0,38-0,74, Alfaia *et al.*, 2009; 0,41-0,70, Adai *et al.*, 2011) debido a su mayor proporción de fosfolípidos de membrana (donde se depositan preferentemente los AGPI) y menor de triglicéridos (AGS y AGMI) (Scollan *et al.*, 2014). Sin embargo, el valor alcanzado con estas dietas fue superior al observado en los ensayos de los Capítulos II y III en animales de la misma raza y similar GIM alimentados con linaza al 10%MS (0,27, dieta SL, Cap. II) o con niveles crecientes de linaza (5, 10 y 15%MS) (valor promedio 0,4%, Cap. III), indicando que bajo las presentes condiciones experimentales, se ha logrado inhibir la BH completa de los AGPI en mayor medida, relacionado con unas condiciones ruminales probablemente favorecidas por el consumo de pasto fresco en vez de heno, lográndose un valor superior al recomendado por el *British Department of Health* (BDH, 1994) (≥0,45).

A pesar de la controversia surgida la última década, Saini y Kerum, (2019) concluyen en una reciente revisión que la relación *n-6/n-3* tiene gran relevancia, junto con las ingestas absolutas individuales, para evaluar la relación entre la ingesta de AGPI y el riesgo de enfermedades crónicas. En general, la carne de rumiantes alimentados a base de forrajes, pastos o sistemas ecológicos posee una proporción de *n-3* superior a la de aquellos finalizados en cebadero o con dietas convencionales ricas en granos de cereales, resultando, normalmente, en una relación *n-6/n-3* más favorable en carne (Daley *et al.*, 2010; Kamihiro *et al.*, 2015; Turner *et al.*, 2015), lo que concuerda con los resultados observados en el presente ensayo. Aunque mediante los tres sistemas de acabado evaluados, hubo una mayor acumulación de Σ*n-6* (55-60% del total AGPI) que de Σ*n-3*

(36-27% del total de AGPI), la relación *n-6*/*n-3* se redujo significativamente con el aumento de la proporción y de la calidad del forraje consumido, debido, principalmente, al marcado incremento en la deposición de *n-3* (paso ruminal de AGPI favorecido). Esta reducción en la relación *n-6*/*n-3* es algo deseado y favorable, pues ayudaría a mantener el equilibrio entre las respuestas inflamatoria y antiinflamatoria que regulan estas familias de AG; pero mediante cualquiera de los sistemas evaluados bajo las presentes condiciones experimentales, se obtuvo una relación dentro del rango establecido para un buen equilibrio (<4, Simopoulos, 2011; BDH, 1994). La alimentación mediante los sistemas extensivo y semiextensivo con suplementación de pienso enriquecido en linaza durante el pastoreo, evaluados en el presente ensayo, alcanzaron la más favorable y mayor reducción en la relación *n-6/n-3* (1,53 y 1,76, valores para P y LP, respectivamente) observada entre los ensayos de los capítulos de la presente Tesis, mediante suplementación con aceite de lino (2,7, dieta L Cap. I) o con semilla de linaza a un nivel similar o superior (3,0, dieta SL Cap. II; 2,1, valor promedio para dietas L10 y L15, Cap. III); confirmándose la efectividad de una mayor proporción de forraje de buena calidad (pasto fresco vs. heno) en favorecer el paso ruminal de AGPI.

De los resultados obtenidos, se concluye que la carne de los terneros acabados en extensivo o semiextensivo con suplementación en pastoreo muestra, desde el punto de vista de la salud, unos índices nutricionales más favorables, mayor AGPI/AGS y menor *n-6*/*n-3*, característicos de la producción en extensivo o pastoreo (Moreno *et al.*, 2007b; Alfaia *et al.*, 2009; Pestana *et al.*, 2012).

7.4.3.7. Cantidades de AG depositadas en carne

En la Tabla 7.10 (pág. siguiente) se muestran las cantidades acumuladas de ciertos AG en el LT (mg/100g músculo) según el sistema de producción empleado, calculadas para evaluar correctamente (Dugan y Wood, 2018) la contribución que puedan suponer a las necesidades diarias recomendadas o a los requisitos de etiquetado (en el caso de productos de calidad diferenciada) establecidos por las organizaciones internacionales (EFSA, 2009; FAO, 2009).

Tabla 7.10. Efecto del sistema de acabado sobre el contenido de ácidos grasos en el *longissimus thoracis* (mg/100g carne) de terneros de raza Rubia Gallega

	Sistema de acabado				
	P	PS	C	SEM	Pvalue
C18:2*n-6* (LA)	62,79[b]	94,60[a]	95,27[a]	5,5158	0,0001
Σ*n-6*	94,85[b]	125,55[a]	127,48[a]	7,3711	0,0048
C18:3*n-3* (LNA)	31,56[b]	39,69[a]	28,85[b]	1,6850	0,0001
*n-3*AGPICL (EPA+DHA)	15,47[a]	14,08[ab]	12,44[b]	1,1634	0,0030
*n-3*AGPICL+DPA	29,65	29,62	27,01	2,2075	0,1975
Σ*n-3*	61,85[b]	70,24[a]	56,82[b]	3,5153	0,0335
*c*9,*t*11-18:2 (RA)	4,33[b]	6,40[a]	6,01[a]	0,4428	0,0047
ΣCLA	5,96[b]	8,90[a]	8,58[a]	0,4929	0,0002
ΣnCLA	6,13[b]	14,23[a]	12,65[a]	1,0657	<,0001
*c*9,*t*11,*t*15-18:3	0,61[b]	0,98[a]	1,06[a]	0,0664	<,0001
*c*9,*t*11,*c*15-18:3 (RLA)	1,84[a]	1,37[b]	1,41[b]	0,1057	0,0055
ΣCLNA	2,45	2,35	2,47	0,1350	0,8102
ΣAGPI	171,23	221,27	208,00	9,9315	0,6272
*c*9-18:1	207,73[c]	313,21[b]	447,49[a]	14,1356	<,0001
Σ*cis*-AGMI	257,56[c]	390,89[b]	530,13[a]	15,4414	<,0001
*t*10-18:1	1,56[b]	10,47[a]	11,33[a]	1,8556	0,0009
*t*6 a *t*10	3,03[b]	15,44[a]	17,10[a]	2,2530	0,0001
*t*11-18:1 (TVA)	13,12[b]	28,03[a]	24,92[a]	2,0385	<,0001
Σ*t*-18:1AGMI	27,53[b]	68,57[a]	67,91[a]	4,9932	<,0001
Σ*trans*-AGMI	31,34[b]	75,10[a]	72,68[a]	5,0470	<,0001
ΣAGMI	288,91[c]	465,99[b]	602,81[a]	16,0832	<,0001
ΣAGS	339,23[c]	494,72[b]	603,97[a]	15,0496	<,0001
ΣAGCR	17,22[b]	19,44[a]	20,46[a]	0,5206	0,0003

[a.b.c] Las medias dentro de la misma línea con diferentes superíndices difieren significativamente (P≤0,05). SEM= error estándar de la media.
∑*n-6*= 18:2*n-6*, 18:3*n-6*, 20:2*n-6*, 20:3*n-6*, 20:4*n-6* y 22:4*n-6*; ∑*n-3*= 18:3*n-3*, 20:3*n-3*, 20:5*n-3*, 22:5*n-3* y 22:6*n-3*; ΣCLA= Σ*t.t*-CLA (*t*12,*t*14-18:2 + *t*11,*t*13-18:2 + *t*10,*t*12-18:2 + *t*9,*t*11-18:2 + *t*8,*t*10-18:2), Σ*t,c/c,t*-CLA (*t*12,*c*14-18:2 + *c*13,*t*15-18:2 + *c*12,*t*14-18:2 + *t*11,*c*13-18:2 + *c*11,*t*13-18:2 + *t*10,*c*12-18:2 + *t*8,*c*10-18:2 + *t*7,*c*9-18:2 + *c*9,*t*11-18:2 + *t*9,*c*11-18:2); ∑nCLA: *t*11,*t*15-18:2, *t*9,*t*12-18:2; *c*9,*t*13-/*t*8,*c*12-18:2, *t*8,*c*13-18:2, *c*9,*t*12-18:2/*c*16-18:1, *t*9,*c*12-18:2, *t*11,*c*15-18:2, *c*9,*c*15-18:2, *c*12,*c*15-18:2; ∑CLNA= *c*9,*t*11,*t*15-18:3, *c*9,*t*11,*c*15-18:3; ∑AGPI= ∑*n-6*, ∑*n-3*, ΣCLA, ΣnCLA y ∑CLNA; ∑*t*-AGMI= *t*9-16:1, *t*6-18:1, *t*9-18:1, *t*10-18:1, *t*11-18:1, *t*12-18:1, *t*13+*t*14, *t*15-18:1 y *t*16-18:1; ∑*c*-AGMI= *c*9-14:1, *c*9-15:1, *c*7-16:1, *c*9-16:1, *c*9-17:1, *c*9-18:1, *c*11-18:1, *c*12-18:1, *c*13-18:1, *c*14-18:1, *c*15-18:1, *c*16-18:1, *c*9-20:1, *c*11-20:1 y *c*13-22:1; ∑AGMI= ∑*t*-AGMI + ∑*c*-AGMI; ∑AGS= 14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:0, 20:0, 21:0, 22:0, 23:0 y 24:0; ∑AGCR= 15:0$_{iso}$, 15:0$_{aiso}$, 16:0$_{iso}$, 17:0$_{iso}$ y 17: 0$_{aiso}$.

Debido al menor contenido de GIM, la cantidad acumulada en la carne, de casi todos los grupos de AG: ΣAGS, ΣAGCR, ΣAGMI (Σ*t*AGMI y Σ*c*AGMI), ΣCLA, ΣnCLA, Σ*n-6*, (P<0,001) y Σ*n-3*, P<0,05), así como de la mayoría de AG individuales,

fue inferior mediante el sistema extensivo sin suplementación de pienso (P) respecto a los semiextensivos (LP, LC), como era de esperar; con la excepción de una acumulación similar de ΣAGPI (~200 mg/100g carne; P>0,05) y CLNA (2,42 mg/100g carne; P>0,05), y de un mayor contenido de RLA (1,84 vs. 1,39 mg/100g carne, valor para P frente a valor promedio de LP y LC, respectivamente; P<0,01) y de *n-3*AGPICL, significativamente diferente, este último, sólo respecto al semiextensivo en cebadero (LC), mostrando el semiextensivo con consumo de pasto durante la fase de acabado (LP), un valor intermedio comparable a ambos (*n-3*AGPICL= 15,47, 14,08 y 12,44 mg/100g carne, para P, LP y LC, respectivamente; P<0,01).

De hecho, aunque la acumulación de ΣAGPI en carne fue comparable entre los sistemas de acabado evaluados, la combinación del consumo de pasto y pienso enriquecido con linaza (LP) durante la fase de acabado de terneros RG, bajo las presentes condiciones experimentales, favoreció la acumulación de LNA y Σ*n-3* respecto a cualquiera de los otros dos sistemas de acabado (LNA= 39,69 vs. 30,20 y Σ*n-3*= 70,24 vs. 59,33 mg/100g carne, para LP frente a valores promedio para P y LC, respectivamente).

Teniendo en cuenta que mediante ambos sistemas semiextensivos de acabado (LP y LC) se alcanzó un contenido de GIM en el LT comparable, el aumento observado en la acumulación de LNA, Σ*n-3* y *n-3*AGPICL mediante LP, confirmaría que se han logrado efectos sinérgicos del consumo combinado de pienso enriquecido en linaza y pasto (siendo además consumido en mayor proporción que el heno en la dieta LC), facilitando un mayor paso ruminal y su acumulación en los tejidos. La cantidad acumulada de LNA y Σ*n-3* en la carne mediante LP fue del orden de la observada en el ensayo del Capítulo III mediante la suplementación con linaza al 10 o al 15% MS (L10 y L15) en dietas de mayor EE (8 vs. 6% MS) y más reductoras que las presentes (*variaciones en el aporte y fuente de almidón*) (36 y 60 mg/100g carne de LNA y Σ*n-3*, respectivamente, valores promedio para las dietas L10 y L15, *Cap.III*), las cuales habrían favorecido las condiciones ruminales (pH ruminal <5 y *t*10/*t*11>1) responsables de propiciar la inhibición de la lipólisis y facilitar paso ruminal de AGPI. En el presente ensayo, en cambio, no se ha observado "cambio *trans*10" y se ha conseguido la misma acumulación de LNA y Σ*n-3*, gracias, probablemente, a la inhibición de la lipólisis mediante el consumo de pasto y a las propiedades de ciertos metabolitos secundarios para modular la lipólisis y/o BH, cuya capacidad para mejorar la acumulación de estos AGPI en carne ya ha sido previamente documentada (Lourenço *et al.*, 2008; Vasta *et al.*, 2019).

La carne obtenida mediante el sistema de acabado que combina el consumo de pasto con el de pienso enriquecido en linaza (LP), en una relación forraje a concentrado, además, superior a la consumida por los terneros estabulados (LC), proporcionaría 37 mg de LNA y 70 mg de Σ*n-3*, lo que es ligeramente superior, pero del orden observado por Raes *et al.* (2003; 33,2 mg de LNA y 60,2 mg de Σ*n-3* por 100g de carne) quienes suplementaron con linaza las dietas altas en concentrado (70%MS) de terneros de razas magras durante los periodos previos al acabado, a diferencia de este estudio. Así, las cantidades de LNA y Σ*n-3* proporcionadas por la carne de terneros de raza RG finalizados mediante el sistema LP, están dentro del rango de los valores revisados por Vahmani *et al.* (2017b); siendo sólo superadas en razas de mayor contenido graso (≥5%), combinando también la suplementación con linaza, pero, con proporciones superiores en la dieta, a las del presente ensayo, de las fuentes de forraje (>50%MS), siendo éstas el heno o el ensilaje de cebada (72 y 68 mg de LNA, 111 y 106 mg de Σ*n-3*, respectivamente, Nassu *et al.*, 2011) y ensilaje de trébol violeta (105 y 132 mg de LNA y Σ*n-3*, Mapiye *et al.*, 2013b).

Los resultados concuerdan con los hallazgos de estudios experimentales (Nuernberg *et al.*, 2005; Ponnampalam *et al.*, 2006; Realini *et al.*, 2004**)** y revisiones recientes de los mismos (Ponnampalam *et al.*, 2015; Vahmani *et al.*, 2015a) en los que se concluye que la mayor proporción de *n-3*AGPI en el pasto y el ensilaje de hierba contribuyen a sus elevadas concentraciones en la carne de rumiantes**.** y que, además, los metabolitos secundarios presentes en el pasto y el forraje pueden ayudar en la protección frente a la BH ruminal de AGPI, facilitando los aumentos en su absorción y deposición (Lourenço *et al.*, 2008). Sin embargo, la incapacidad de acumular cantidades significativas de *n-3*AGPICL en la carne de bovino, especialmente de DHA, se debe, tanto a la BH de los AGPI de la dieta, como a la capacidad limitada de la mayoría de los mamíferos para convertir EPA en DHA (Scollan *et al.*, 2017). Las desaturasas del sistema enzimático de conversión de AGPI en sus derivados de cadena larga, prefieren *n-3* sobre *n-6*, pero la ingesta elevada de LA puede interferir en el proceso de elongación y desaturación de LNA a EPA, DPA y DHA (Burdge y Calder, 2005). De hecho, se ha documentado que la conversión de LNA no es inmediata, siendo más eficaces en el aumento de DHA en carne, las fuentes de *n-3*AGPICL (aceites de pescado y algas), que las semillas de lino (LNA) (Scollan 2014; Bessa *et al.*, 2015; Vahmani *et al.*., 2017b; 2020), pues sólo el 0,2% del LNA dietético se convierte a EPA, siendo, el 65% de EPA

convertido en DPA y el 37% de DPA en DHA, con una eficiencia de conversión global de LNA a DPA del 0,13% y de LNA a DHA del 0,05% (Pawlosky *et al.*, 2001).

Como consecuencia de los beneficios del consumo de pasto durante la fase de acabado, la cantidad de LNA y *n-3*AGPICL (EPA + DHA) depositada en el LT de terneros de raza RG, mediante el sistema semiextenviso que incluye el consumo de pienso durante el pastoreo (LNA=39,69mg/100g carne para LP) o mediante cualquiera de los sistemas con consumo de pasto (14,78 mg EPA + DHA/100g carne, valor promedio para P y LP), supondría, respectivamente, el 13% del LNA y el 37% de *n-3*AGPICL requerido para ser un producto etiquetado como "fuente de" *n-3*AGPI (300 mg de LNA o 40 mg de EPA + DHA; EFSA, 2009). Habría que tener en cuenta, sin embargo, que el nivel de *n-3*AGPICL requerido para un etiquetado diferencial, podría ser alcanzado en un procesado cárnico que contuviese cierta proporción de grasa extra a la carne magra, como puede ser la carne picada, o un filete acompañado de su grasa intermuscular, como ya han señalado previamente otros autores (Nassu *et al.*, 2011; Vahmani *et al.*, 2015a), acorde con lo observado en los ensayos previos con RG (ver resultados Cap. I y *II*). Definir las raciones de carne en cuanto al peso total y proporciones de carne magra y grasa, es crucial cuando se trata de alcanzar los reclamos de enriquecimiento. En todo caso, aún siendo insuficiente para alcanzar los niveles requeridos para un etiquetado de producto enriquecido en *n-3*AGPICL, ya se ha documentado previamente que la carne magra puede contribuir sustancialmente a la ingesta diaria de estos AG (20-30%) con beneficios potenciales para la salud humana, en las poblaciones con bajo consumo de pescado (Russo, 2009), y que su enriquecimiento en la carne roja mejoraría su aporte a la ingesta total de aquellos que hacen un consumo elevado o moderado de carne (Givens *et al.*, 2005; 2006a, b; Howe *et al.*, 2006; 2007). Así, en base a una ración de 150g, la carne de terneros RG finalizados con consumo de pasto, cubrirían el 3 y el 9% de las necesidades diarias recomendadas por la EFSA (2009; 2010) para la ingesta de LNA (2 g por día) y *n-3*AGPICL (250 mg EPA + DHA por día), respectivamente, mediante el consumo de pasto y pienso enriquecido en linaza (LNA=59,53 mg/150g carne, LP) y mediante el consumo de pasto independientemente de la de pienso (22,17 mg EPA + DHA/100g carne, valor promedio para P y LP). El aporte de la carne mediante P o LP a la ingesta de *n-3*AGPICL fue el mayor de los observados en los ensayos experimentales realizados en la presente Tesis (ver resultados Cap. I, II y III), lo que indica el fuerte efecto del consumo de pasto sobre este enriquecimiento. La contribución a la ingesta de *n-3*AGPICL, mediante el

consumo de carne procedente de sistemas de producción que incluyen pasto en la etapa de acabado, ha sido previamente confirmada en los niveles plasmáticos de *n-3*AGPICL de adultos (McAfee *et al.*, 2011; Welch *et al.*, 2010).

En cuanto a los productos intermedios de la BH (*t*AGMI, CLA, CLNA, nCLA), la cantidad de estos que se incorpora a los tejidos de rumiantes, tras su absorción en el duodeno, es realmente residual, debido al eficiente proceso de BH de los AGPI de la dieta (Dugan *et al.*, 2018; Toral *et al.*, 2018), siendo usados, además, a nivel tisular por diferentes enzimas para la síntesis endógena de AG. Son un grupo de AG con enlaces *trans* de origen exclusivamente ruminal y por tanto característicos de los productos animales rumiantes (carne, leche y derivados), cuya contribución a la dieta y salud en general, ha sido ampliamente discutida tras las recomendaciones de limitar la ingesta de *t*AG por su relación con el riesgo de incidir en enfermedades cardiovasculares (XX). En este sentido, se ha encontrado que sus efectos sobre la salud son isómero-específicos, y la distribución individual de los *t*18:1 en los productos de origen animal no es tan adversa como la observada para los de origen industrial (Gómez-Cortés *et al.*, 2019), además de ser, los productos de rumiantes (leche, carne y derivados) la principal fuente natural de CLA, al que se le atribuyen numerosos efectos beneficiosos para la salud a pesar de que los ensayos clínicos en humanos son limitados. Debido a las constantes reclamaciones para revisar las recomendaciones en las ingestas de *t*AG, teniendo en cuenta su diferente potencial bioactivo, y a que los productos de rumiantes podrían ser la principal fuente de *t*AG en la dieta humana tras la retirada de los *t*AG de origen industrial de la cadena alimentaria (Aldai *et al.*, 2013; Mapiye *et al.*, 2015; Menaa *et al.*, 2016); en las últimas décadas ha habido un renovado y creciente interés por el estudio de los sistemas de alimentación animal y de los factores relacionados con la desposición de *t*AG en carne, específicamente, aquellos que afectan a su distribución isomérica, debido a la potencialidad bioactiva de alguno de ellos (Vahmani *et al.*, 2015b; 2020; Gómez-Cortés *et al.*, 2019), de ahí el interés de su enriquecimiento en la carne (Dugan *et al.*, 2011; Mapiye *et al.*, 2015).

De los productos intermedios de BH acumulados en carne con más de un doble enlace, como los dienos y trienos conjugados (CLA y CLNA) y los dienos atípicos no conjugados nCLA), sólo el contenido de RLA, fue significativamente superior mediante el sistema extensivo sin suplementación con pienso (P) respecto a los semiextensivos (LP y LC), lo que claramente indica un efecto del sistema de acabado

sobre la distribución específica de isómeros del CLNA, pues, permaneciendo su contenido total inalterado (CLNA; P>0,05), la acumulación de RLA, el isómero principal, fue mayor mediante el consumo exclusivo de pasto (P) (1,84 frente a 1,39%, valor promedio para LP y LC), disminuyendo su contenido y aumentando el del isómero *c*9*t*11*t*15-18:3 en los sistemas con consumo de concentrado (0,61 para P, frente a 1,02%, valor promedio para LP y LC). El mayor contenido de RLA en la carne procedente del sistema extensivo podría considerarse como positivo, pues, recientemente, Diane *et al.* (2016) documentaron que la grasa de vacuno enriquecida con intermedios de BH específicos del LNA, los isómeros más abundantes y característicos de los CLNA (el RLA) y nCLA (el *t*11*c*15-18:2) de origen animal, fue más eficaz mejorando la sensibilidad a la insulina y reduciendo la acumulación de grasa corporal en roedores, que la carne enriquecida con los intermedios específicos del LA (es decir, TVA y RA); requiriéndose en todo caso, una investigación adicional para determinar sus efectos sobre la salud humana a largo plazo y la distinción de estos en función de los isómeros enriquecidos (Bialek *et al.*, 2017). El enriquecimiento observado en la proporción de ΣCLA y, específicamente de $CLA_{c9,t11}$ (RA) en la carne, mediante los sistemas que incluyen consumo de pasto (P y LP), no se tradujo en su mayor acumulación en la carne, debido a las diferencias en el contenido GIM; siendo, por tanto, la cantidad de CLA y RA finalmente depositada en carne, superior mediante los sistemas que incluyen pienso (LP y LC), no observándose diferencias entre ellos (CLA=5,96 vs. 8,74; P<0,001 y RA=4,33 vs. 6,20; P<0,01, valores para P frente a valores promedio para LP y LC, respectivamente). Estos resultados concuerdan con lo observado consistentemente por otros autores al comparar sistemas de alimentación basados en forrajes o en cereales (Alfaia *et al.*, 2009; Lorenzen *et al*., 2007; Realini *et al.*, 2004). Los sistemas de alimentación basados en pasto o forraje aumentan significativamente el porcentaje de CLA, especialmente de RA, respecto al valor encontrado en la carne de bovinos alimentados con granos (Daley *et al.*, 2010; Van Eslwyk, 2014); sin embargo, debido al menor contenido de grasa total de la mayoría de la carne de animales alimentados con pasto, la cantidad total acumulada en la carne es esencialmente idéntica. La proporción de CLA en la fracción lipídica de terneros alimentados con dietas de acabado típicas, altas en cereales, es baja (2-4 g/kg total FA). Dada la importancia de los beneficios atribuidos desde hace una década a la ingesta de isómeros CLA, como la reducción en los marcadores de arterosclerosis (Mitchell y McLeod, 2008) o las propiedades anticancerígenas (Kelley *et al.*, 2007) en modelos animales y cultivos celulares, se han

realizado diversos trabajos de experimentación animal evaluando diferentes estrategias de alimentación, cuyas recientes revisiones concluyen que la suplementación en la dieta con fuentes ricas en AGPI susceptibles de BH (como aceites vegetales u oleaginosas procesadas) y el aumento de la proporción de forraje en la dieta, son las estrategias más efectivas para elevar la concentración de RA en carne, pero ninguna de ellas, ni el uso de diferentes métodos de protección frente a la BH de AGPI, han arrojado incrementos sustanciales en la concentración de CLA en la carne, observándose las mayores concentraciones en la fracción lipídica, como resultado del efecto sinérgico de una dieta alta en forraje y suplementación con oleaginosas (Aharoni *et al.*, 2004; Vahmani *et al.*, 2017b).

En cuanto al contenido de *t*AGMI, los sistemas que incluyen pienso en la fase de acabado, mostraron las concentraciones más elevadas de Σ*t*AGMI (73,89 vs. 31,34; P<0,001), Σ*t*18:1 (68,6 mg/100g vs. 27,53; P<0,001) y *t*18:1 individuales (P<0,001) en la carne. La mayor acumulación de t18:1 totales e individuales, observada mediante los sistemas que incluyen pienso respecto al extensivo, era esperada, pues el consumo de pienso enriquecido con una fuente oleaginosa rica en AGPI, favoreció una mayor proporción de estos *t*AG en la carne, asociado con su capacidad para inhibir la última etapa de la BH, como se comentó en los resultados para el perfil, a la vez que logró una mayor deposición de GIM en los terneros. Sin embargo, las variaciones obtenidas entre los sistemas semiextensivos en el perfil *t*18:1 de la carne, favoreciendo, la mayor proporción de forraje en la dieta y la mejora de su calidad (pasto en LP frente a heno en LC), un aumento en las proporciones de *t*AGMI y de algunos *t*18:1 (con enlace en carbono ≥11), no se tradujeron en diferencias significativas entre las cantidades acumuladas en la carne, aportando, ambos sistemas semiextensivos (LP y LC), la misma cantidad de Σ*t*18:1(68,6 mg/100g) y, específicamente de TVA (26,5 mg/100g carne) y *t*10-18:1 (11 mg/100g carne); los *t*18:1 más abundantes normalmente en carne de rumiantes (60-90% del total de tAG; Dugan *et al.*, 2011; Mapiye *et al.*, 2015). Desde el punto de vista de la salud, el objetivo para obtener un perfil *t*18:1 potencialmente menos dañino en la carne de vacuno, además de minimizar su contenido total, sería incrementar la cantidad de TVA en carne respecto a la de *t*10-18:1, pues el primero está asociado con potenciales efectos bioactivos per se (Salter, 2013; Scollan *et al.*, 2014), independientemente de los derivados de su desaturación a RA, aunque el mecanismo de acción no sea completamente conocido (Gómez-Cortés *et al.*, 2018; 2019), mientras que

el consumo de *t*10-18:1 ha mostrado efectos adversos sobre los niveles de lípidos plasmáticos en modelos animales Roy *et al.* (2007). En el presente ensayo, aunque las dietas de acabado que incluyeron pienso, duplicaron la cantidad de TVA respecto a P, pudiendo considerarse positivo, es importante señalar que las acumulaciones alcanzadas en carne en este experimento están en el tramo inferior del rango de valores revisados por Vahmani *et al.* (2017b), procedente de distintos estudios en los que se emplearon estrategias específicas para el incremento de AG de interés. Las diferencias se deben a múltiples motivos como el efecto raza, el contenido de GIM o las diferentes proporciones forraje:concentrado en la dieta, así como la variación en la calidad nutricional de ambas fuentes (forraje y concentrado); encontrándose valores similares a los del presente ensayo en la carne de animales genéticamente magros criados bajo un sistema de producción similar con un 6% de linaza (40 mg de TVA/100 g de carne; Raes *et al.*, 2004c), indicando que este rasgo genético presente en la raza RG podría ser el factor limitante en el enriquecimiento de TVA.

Se ha documentado previamente en la revisión de Vahmani *et al.*, 2020, que enriquecer la carne de rumiantes con productos intermedios de la BH es complicado y depende de numerosos factores, siendo el tipo y la cantidad de forraje, de AGPI y de almidón en la dieta, los principales factores determinantes de los perfiles de intermedios de BH en rumiantes (Scollan *et al.*, 2017; Chikwanha *et al.*, 2018; Toral *et al.*, 2018).

Previamente se ha documentado la eficacia de la alimentación con forrajes y AGPI en el incremento de los intermedios de BH, aumentado, además, al proporcionar la fuente de AGPI previamente al consumo del forraje (Noci *et al.*, 2005; 2007; Vahmani *et al.*, 2017a), al aumentar el tiempo en pastoreo o el de la suplementación con AGPI (Vahmani *et al.*, 2017b; Chikwanha *et al.*, 2018). Se ha encontrado además que la calidad de ambas fuentes y su contenido y composición en AGPI influye sobremanera sobre el perfil de BH; mostrando, en cambio, la forma física y la protección de los AGPI, así como el grado de procesamiento de las oleaginosas pocos beneficios sobre el perfil de BH de la carne de rumiantes (Jenkins y Bridges, 2007; Gadeyne *et al.*, 2015; Dugan *et al.*, 2018). Concretamente, en cuanto a los factores relacionados con la calidad del forraje, se ha visto que la especie, el cultivo, su madurez y etapa fenológica, la temporada de pastoreo, el consumo en fresco o conservado, su método de conservación, las características de partícula, y la presencia de compuestos secundarios influyen sobre los niveles de los intermedios de BH (Buccioni *et al.*, 2012; Shingfield *et al.*, 2013; Costa *et al.*, 2019);

aumentando las concentraciones de intermedios de BH beneficiosos en RM, específicamente, al complementar la dieta con forrajes de alto valor nutritivo ricos en AGPI y en compuestos secundarios con fuentes de AGPI aumenta las (Vasta *et al.*, 2019).

Efectivamente, en cuanto al perfil de BH en el presente ensayo, se ha observado que el consumo de pasto combinado con el concentrado enriquecido en linaza, favoreció la deposición de estos intermedios respecto a los animales estabulados, sin producirse el cambio *t*10 (*t*10-18:1/TVA >1) con ninguno de los sistemas que incluyen concentrado en la dieta, pero sí se observaron incrementos en los nCLA y otros isómeros CLA a expensas del RA, relacionados también con los cambios en la población microbiana debidos a un alto contenido de AGPI y/o de almidón. Sin embargo, el efecto del consumo de pasto sobre el perfil de los intermedios de BH fue de baja magnitud y no se trasladó a las concentraciones depositadas en la carne. Además del bajo contenido en GIM de la raza RG, las bajas concentraciones de TVA y RA observadas en el presente ensayo, quizás se deban a que el enfoque más eficaz para aumentar las concentraciones de TVA y RA en los tejidos de rumiantes es complementar los forrajes con *n-6*AGPI, particularmente LA (Mapiye *et al.*, 2015; Scollan *et al.*, 2017; Vahmani *et al.*, 2017b), mientras que las fuentes de *n-3*AGPI también aumentan el RLA además de RA y el TVA, como se observó en el presente ensayo.

En cuanto al contenido total de AGMI, los sistemas que incluyen pienso en la fase de acabado mostraron las concentraciones más elevadas, debidas, especialmente, a los aumentos en la concentración de los isómeros más abundantes, los *c*AGMI, y específicamente en la del OA, siendo, además, la cantidad de estos, menor mediante el sistema semiextensivo con consumo de pasto respecto al semiextensivo en cebadero (AGMI= 288,91 vs. 465,99 vs. 602,81; *c*AGMI= 257,56 vs. 390,89 vs. 530,13; OA= 207,73 vs. 313,21 vs. 447,49 mg/100g carne para P, LP y LC, respectivamente). En cuanto a las diferencias en la acumulación de AGS, aunque el consumo de pienso durante la fase de acabado aumenta el contenido de AGS en carne respecto al sistema extensivo (339,23 mg/100g carne), se observa que el consumo de pasto durante la fase de acabado de terneros RG suplementados con pienso, ayudaría a reducir la cantidad acumulada de AGS respecto al sistema LC (494,72 vs. 603,97 mg/100g carne para LP y LC, respectivamente).

Finalmente, entre los sistemas de acabado de terneros RG evaluados bajo las condiciones experimentales del presente ensayo, los que son semiextensivos e incluyen

suplementación con un pienso enriquecido en AGPI (linaza) (LP y LC), serían más efectivos en el incremento de la concentración en carne de productos intermedios de la BH, que el sistema extensivo (P). En cambio, comparando ambos sistemas semiextensivos, el consumo de pasto durante la fase de acabado de terneros RG alimentados con dietas altas en concentrado (LP), no aumentó la cantidad de TVA y RA en la carne respecto al consumo del mismo pienso y de heno como fuente de forraje (LC) (26,5 mg de TVA y 6,21 mg de RA por 100 g de carne, valores promedio para LP y LC); sin embargo, la mayor ingesta de concentrado, por parte de los terneros estabulados (LC) y la peor calidad de la fuente de forraje, ha derivado en una disminución del aporte de LNA, *n-3* y *n-3*AGPICL, siendo la carne que más contribuye a la ingesta de estos últimos, la procedente del sistema que combina el consumo de pasto con la suplementación de pienso, considerándose pues, contraproducente incrementar la proporción de concentrado en la dieta de acabado de terneros de raza RG, además de suponer un mayor coste.

7.4.3.8. Implicaciones

La carne de vacuno acabada con pastos es cada vez más popular entre los consumidores debido a las preocupaciones relacionadas con el contenido y calidad de su grasa y a la mayor conciencia por el desarrollo de prácticas sostenibles. Los pastos y forrajes conservados son las fuentes de alimento más importantes para el ganado (Oliveira y Millen, 2014; Schlegel *et al.*, 2016; 2018). La utilización de pastos y forraje fresco de alta calidad nutricional en la dieta de acabado del ganado bovino, así como su biodiversidad vegetal y contenido de leguminosas, puede mejorar su rendimiento animal a la vez que mantiene la calidad lipídica de la carne de terneros acabados exclusivamente en pasto, mostrando una mayor deposición de *n-3*, TVA y CLA, así como una menor relación *n-6/n-3* en comparación con el acabado en dietas intensivas basadas en granos (Aldai *et al.*, 2011; Duckett *et al.*, 2013; Patino *et al*., 2015). Este cambio puede ser beneficioso desde un punto de vista nutricional para los consumidores, debido al aumento de los niveles de ácidos grasos deseables (Scollan *et al.*, 2014), estando ampliamente documentado el perfil más saludable de AG en la carne de vacuno procedente de dietas altas en forraje, viéndose mejorado, además, por el pastoreo frente al forraje conservado (French *et al.*, 2000b; Kraft *et al*., 2008; Duckett *et al.*, 2013).

Los resultados del presente ensayo concuerdan con lo previamente mencionado en relación con el efecto del consumo de pasto durante la fase de acabado sobre las características de producción animal y de calidad de la canal, así como sobre el perfil lipídico de su GIM.

En cuanto a las características de producción animal y calidad de la canal, los terneros de raza RG suplementados con pienso enriquecido en linaza, independientemente de si se complementaron con pasto o heno, mostraron PCC y FC similares entre sí, pero los atributos de calidad de la canal alcanzados por los animales que consumieron pasto como fuente de forraje, fueron ligeramente más favorables gracias a los mayores rendimientos alcanzados en la canal y en el chuletero. Estos resultados confirman que, a pesar de que los sistemas de alimentación extensiva sin suplementación de piensos (dieta P), puedan suponer una ventaja económica por sus menores costes mostrando un rendimiento de la canal similar al del grupo manejado en semiextensivo con estabulación (LC), el menor estado de engrasamiento (FC) que se obtiene con respecto a la alimentación que incluye suplementación con piensos, justifica la necesidad de finalizar con un período a base de dietas altas en concentrado, para mejorar la calidad de la canal y que se traduzcan en beneficios económicos, especialmente en el caso de razas magras como la RG (De Smet *et al*., 2004; Scollan *et al*., 2006a). Sin embargo, es interesante destacar que, bajo las presentes condiciones experimentales, mediante la suplementación en pastoreo con el concentrado enriquecido en linaza (LP), manteniendo la lactancia materna, se alcanzaron características de producción animal y de calidad de la canal en los terneros RG comparables a las obtenidas mediante la suplementación en cebadero (LC) o incluso mejores (mayores rendimientos de canal y de chuletero) consumiendo ~2 kg menos de concentrado al día. Esto indica, que reducir la proporción de concentrado en la dieta de acabado de terneros RG (de 85% en LC a 60% en LP), a favor de un aumento en la de forraje (de 15 a 40%) y de su calidad (pasto fresco en la dieta LPfrente a heno en la LC), a la vez que se mantiene la lactancia materna, podría ser suficiente para mejorar las características de producción animal (ADG, PV) y calidad de la canal (cobertura de grasa y rendimientos de la canal y del chuletero) que se obtienen mediante un sistema extensivo (P).

El efecto del consumo de pasto durante la etapa de acabado sobre las características fisicoquímicas que determinan la calidad organoléptica de la carne de terneros RG ha sido de baja magnitud, acorde con los resultados de otros autores al

comparar la calidad de la carne de terneros finalizados en dietas basadas en diferentes niveles de concentrado y proporciones de forraje (Kerth *et al.*, 2007; Duckett *et al.*, 2013; Patino *et al.*, 2015). Sin embargo, el incremento observado en el contenido graso de la carne mediante los sistemas semiextensivos que incluyen pienso en la dieta de acabado pudo contribuir a mejorar su terneza objetiva, indicando además, que minimizar la cantidad de concentrado consumida por los animales a la vez que se aumenta la de forraje de calidad y se mantiene la lactancia (C:F= 60:40 para LP), permite alcanzar las mismas mejoras en calidad de carne que un sistema semiextensivo con finalización de 3 meses en cebadero (C:F= 85:15 para LC).

En cuanto a la calidad lipídica de la carne, las implicaciones del consumo de pasto durante la fase de acabado de los terneros RG son diferentes si se combina o no con el pienso enriquecido en linaza. La alimentación extensiva, exclusiva en base a pastos (P), limitó la deposición de GIM respecto a los sistemas semiextensivos y favoreció la inhibición de la lipólisis (metabolismo ruminal inicial de AGPI), dando lugar a un aumento en la acumulación de AGPI que pasan al intestino donde serán absorbidos y posteriormente incorporados a los tejidos. Al no haber alteración de las rutas de BH, se produjo también la acumulación de TVA y RA, favorecida por los efectos específicos de los metabolitos secundarios presentes en el pasto sobre la modulación BH ruminal, lo que resulta en un perfil de AG más saludable. Contrariamente, la suplementación de pienso en cebadero, sin consumo de pasto fresco, supuso una ingesta mayor de concentrado enriquecido en AGPI en la dieta, no estando tan protegidos frente a la lipólisis y limitándose su paso ruminal, lo que conduce a una BH más extensa y a una acumulación de t18:1 y 18:0. Sin embargo, el consumo de pasto durante la fase de acabado del sistema semiextensivo que incluye consumo de pienso enriquecido, no tuvo efecto sobre el contenido total de GIM respecto al consumo de heno, alterando, en cambio, significativamente la composición de AG en la carne, hacia un perfil más saludable desde el punto de vista de la nutrición humana. El consumo de pasto con pienso enriquecido en AGPI mostró efectos sinérgicos, produciéndose un aumento en la proporción de AGPI (los AGPI del forraje q estarían protegidos frente a lipólisis) a la vez que aumenta la de TVA y RA (mayor cantidad AGPI, grasa y menos forraje => inhibición ultima etapa), mostrando la misma limitación que la suplementación en cebadero respecto a mantener las elevadas proporciones de *n-3*AGPICL encontradas en el LT de los terneros que sólo consumieron pasto fresco. Sin embargo, debido al mayor contenido de GIM alcanzado

por los animales que consumieron pienso, las cantidades de *n-3*AGPICL acumuladas en la carne cuando el pienso se complementó con el pastoreo, fueron comparables a las observadas en la carne procedente del sistema extensivo, mostrando, además, un mayor contenido de TVA y RA. Nuevamente, se podría concluir que con unos 2kg menos de pienso enriquecido en linaza y una fuente de forraje de mayor calidad en la dieta de acabado de terneros raza RG, se consigue alcanzar el engrasamiento necesario para la comercialización y satisfacción culinaria de la carne, a la vez que se cumplen las expectativas de proporcionar un perfil de AG más saludable en la carne, suponiendo además cierta contribución a las recomendaciones de ingesta de AG considerados esenciales en la dieta humana, aunque lejos de los requisitos para un etiquetado de calidad diferenciada.

Debido al relevante papel de los *n-3*AGPICL en las funciones biológicas, varias revisiones durante las últimas dos décadas tanto en carne de rumiantes como de no rumiantes (Scollan *et al.*, 2001; 2014; 2017; Pereira y Vicente, 2013; Dugan *et al.*, 2015; Vahmani *et al.*, 2015a) resaltan la importancia de enriquecer la carne roja en *n-3*AGPICL, debido a la contribución que ésta puede suponer a su ingesta en poblaciones con bajo consumo de pescado o marisco, confirmándose su aumento en los niveles plasmáticos de adultos que consumieron productos enriquecidos en estos AGPI (Welch *et al.*, 2010; McAfee *et al.*, 2011). De los estudios que persiguen, mediante estrategias de alimentación, elevar la concentración de *n-3* en carne, se concluye, en general, que las fuentes de LNA (forraje u oleaginosas como la linaza) en la dieta animal mejoran la acumulación de LNA, EPA y DPA en varios tejidos, pero el enriquecimiento en DHA es muy limitado, incluso empleado diferentes métodos de protección de los AGPI frente a la BH (Scollan *et al.*, 2014), requiriéndose la administración en la dieta animal de estos AG preformados, pues, aunque se requiere información para entender la dinámica de BH de los *n-3*AGPICL, parece que su tasa se ve inhibida por elevadas concentraciones de *n-3*AGPICL durante tiempos prolongados (Vahmani *et al.*, 2020). Por otro lado, se ha señalado que la alimentación con forrajes y AGPI también es efectiva en el incremento de los intermedios de BH, siendo más fácil incrementar su proporción que la de AGPI, al depositarse, los primeros, preferentemente en el tejido adiposo y aumentando, por tanto, con los incrementos de la GIM, derivados de dietas más intensivas (basadas en granos de cereales); mientras que los *n-3*AGPICL se incorporan mayoritariamente a los fosfolípidos, cuya proporción permanece más estable con los aumentos en el contenido de

GIM. Por tanto, enriquecer la carne de rumiantes en *n-3*AGPICL, para alcanzar los niveles recomendados de ingesta, es bastante complicado, y las técnicas más efectivas hoy en día son costosas o no están totalmente implementadas, por lo que la alternativa más barata, sigue siendo el incremento en la proporción forraje en la dieta, con la limitación comentada para los animales de razas magras

Las revisiones que estudian el perfil nutricional de la carne de vacuno "alimentado con hierba", se centran en la combinación de los resultados de estudios realizados en todo el mundo (Daley *et al.*, 2010), en Europa (Scollan *et al.*, 2006b) o en países que practican la alimentación en base a pastos frescos como Australia (Ponnampalam *et al.*, 2006) y Brasil (Peripolli *et al.*., 2017; Ferrinho *et al.*, 2019); destacando trabajos experimentales de sistemas en base a pastoreo también en la zona noroeste de España (Varela, 2002; Moreno, 2004; Aldai *et al.*, 2011; Román-Trufero *et al*., 2019) y en Portugal (Alfaia *et al.*, 2009; Rosa *et al.*, 2014). Los hallazgos son heterogéneos entre países, dando lugar a fluctuaciones en la calidad nutricional y sensorial de la carne y productos de rumiantes Luciano *et al.*, 2011), debido a las variaciones estacionales así como en la tipología y disponibilidad de forrajes (Mir *et al.*, 2006), a medida que el ganado cambia de dietas de pastoreo a estabulación (Moreno, 2004; Fredriksson *et al.*, 2007; Alfaia *et al.*, 2009; Pestana *et al.*, 2012), independientemente de la heterogeneidad entre razas ganaderas. Además, se señaló que el efecto de la hierba consumida sobre el perfil de AG no se podía generalizar, habiéndose documentado variaciones según el tipo de raza (Itoh *et al.*, 1999) o de músculo (Lorenzen *et al.*, 2007), siendo las razas magras las que producen carne con mayor contenido de AGPI independientemente de la dieta base, pues la mayor abundancia de AGPI en la carne de vacuno, se encuentra en los fosfolípidos de las membranas musculares (De Smet *et al.*, 2004).

Durante la última década se han realizado diferentes estudios comparativos en relación con el sistema de producción de carne en diversos países y su influencia sobre la calidad organoléptica y lipídica que muestra la carne a la venta en supermercados y procedente de explotaciones bajo distinto sistema de alimentación (Leheska *et al.*, 2008; Blanco-Penedo *et al.*, 2012; Van Elswyk *et al.*, 2014; Kamihiro *et al.*, 2015). En general, se encuentra consistentemente que la carne procedente de sistemas de producción en los que el ganado consume principalmente forraje, ya sea mediante sistemas orgánicos (60%MS de forraje) o de acabado exclusivo en pastoreo, posee un perfil de AG más

saludable con mayores proporciones de *n-3*AGPI, una relación *n-6*/*n-3* más baja y mayores proporciones de productos intermedios de la BH potencialmente beneficiosos, particularmente de TVA y RA; siendo el tejido adiposo afectado de manera similar por el sistema de producción, pero obteniéndose una mayor proporción de TVA y RA.

Con la intención de profundizar en las causas de variación en los resultados y ciertas incongruencias entre ensayos basados en sistemas de producción aparentemente similares, y comprender el mecanismo y factores que determinan los efectos beneficiosos del consumo de forraje sobre la calidad nutricional de la carne, se han realizado ensayos de experimentación animal con alimentación controlada comparando los efectos de diferentes tipos de forraje y/o especies presentes en el pasto (Moloney *et al.*, 2008; Nassu *et al.*, 2011; Duckett *et al.*, 2013; Fruet *et al.*, 2018; Román-Trufero *et al*., 2019), pues desafortunadamente la diversidad y disponibilidad de forraje es heterogénea entre países, dependiendo, muchos de ellos, de una producción estacional y siendo necesaria su conservación. De los hallazgos de estos estudios y muchos otros en la misma línea, se concluye que todas las características que influyen sobre el valor nutritivo del forraje (conservación, estado fenológico, composición botánica y de AGPI), además de su proporción en la dieta, son responsables de las diferencias encontradas entre estudios. Concretamente, suplementar forrajes frescos o bien conservados, botánicamente diversos y, especialmente ricos en leguminosas, aumenta las concentraciones de *n-3*AGPI en la carne de rumiantes, mejorando la de intermedios como TVA y CLA mediante su combinación con fuentes de AGPI, debido a la capacidad de ciertos compuestos presentes en determinadas especies vegetales para modular la BH, como son la enzima PPO y los PP (Toral *et al.*, 2018, Ponnampalam *et al.*, 2018, Vasta *et al.*, 2019).

Una vez confirmado que la utilización de pastos y forrajes frescos de alta calidad nutricional, como las mezclas de leguminosas y hierba, pueden mejorar el rendimiento animal y mantener el perfil lipídico de la carne de terneros acabados en pasto (Chail *et al.*, 2016; Fruet *et al.*, 2018), acorde con los resultados del presente ensayo, y, ante la posibilidad de aumentar el contenido de AG esenciales o de aquellos de origen estrictamente ruminal, con beneficiosos potenciales para la salud, mediante el aumento de su proporción en la dieta y la mejora de su valor nutricional, con el fin de lograr un etiquetado de calidad diferenciada, sería necesaria la integración de una serie de medidas/actividades paralelas desde un punto de vista holístico, previas a su posible comercialización. Como se comenta en la revisión de Vahmai *et al.* (2020), por una parte,

sería necesario profundizar en la investigación con ensayos clínicos evaluando los efectos a largo plazo del consumo de carne enriquecida en diferentes intermedios de BH potencialmente beneficiosos sobre la salud humana y los factores de riesgo de enfermedades crónicas, especialmente los de aquellos derivados del consumo de fuentes ricas en LNA (forraje); buscando establecer las cantidades requeridas de ingesta para obtener beneficios en la salud o las máximas permitidas en caso de efectos nocivos. Otra medida necesaria sería la estandarización y regulación del etiquetado de la carne o productos cárnicos que se encuentran a la venta en los supermercados, usando esquemas/sistemas de certificación específicos que garanticen la calidad de la grasa cárnica desde la perspectiva del consumidor. Además, toda actividad comercial que implica el lanzamiento de un producto alimentario y la búsqueda de un beneficio económico debiera incluir un estudio previo de intención de compra por parte del consumidor evaluando aspectos tan diversos como las preferencias gustativas o el grado de satisfacción, y tan relevantes como aquellos aspectos relacionados con su vida útil comercial. En este sentido, los trabajos de Baba *et al.* (2016) y Realini *et al.* (2014), al evaluar la aceptación de carne enriquecida con *n-3* o CLA, indican que el enriquecimiento de la carne de vacuno con CLA no fue valorado positivamente por los consumidores españoles, concluyendo, en cambio, que las oportunidades de comercialización de la carne de vacuno enriquecida con *n-3* podrían ser prometedoras en España. La mayor limitación es pues, incrementar la concentración de estos AG de manera natural.

Precisamente, cualquier estrategia aplicada para aumentar las concentraciones de *n-3*AGPI en la carne respecto a las dietas comúnmente empleadas, debe ser económicamente viable y aplicable en cada explotación, por lo que evaluar los recursos disponibles en la misma es un buen punto de partida. Se sabe que la calidad de las fuentes de alimento, como el concentrado y el forraje, son cruciales; especialmente la calidad del pasto, su valor nutritivo y, específicamente, su composición de AGPI influye sobremanera en la composición de AG de la carne, señalando otros autores que, efectivamente, las leguminosas y los pastos diversos son más eficaces en el enriquecimiento. Por tanto, aunque enriquecer la carne de rumiantes con AG deseables es complicado, y depende de numerosos factores, como el tipo y la cantidad de forraje y de AGPI, así como la cantidad de almidón en la dieta, son los determinantes principales del perfil lipídico en la carne. Teniendo en cuenta lo comentado respecto a la heterogeneidad

de pastos y forrajes entre países y estaciones, adaptar los cultivos y mejorar el valor nutritivo de estas fuentes que poseen el potencial de enriquecer la carne en compuestos biológicamente activos, es realmente una línea de investigación futura con mucha proyección.

El hecho de establecer una cantidad mínima de concentrado en las dietas de acabado de los terneros manejados en sistemas semiextensivos, que permita alcanzar los estándares de calidad de canal, así como optimizar la cantidad y la calidad de forraje necesaria para mantener el saludable perfil lipídico de la carne de animales manejados exclusivamente en pastoreo, es la clave para elevar los niveles de lípidos funcionales en la carne de rumiantes. Por tanto, en cada caso particular, se deben realizar estudios enfocados a comparar alternativas de manejo y optimizar la relación forraje:concentrado y la calidad de ambas fuentes según la raza, climatología y recursos de cada zona/país, con el fin de lograr los máximos beneficios de un sistema de producción animal y de carne de calidad, hacia un menor consumo de concentrado, sin comprometer el engrasamiento o la infiltración de grasa tan buscado en las razas genéticamente magras.

En este sentido, el interés por los efectos de los compuestos vegetales, con propiedades para modular la BH (PPO y PP), en la nutrición animal, está aumentado enormemente por ser omnipresentes en el reino vegetal, considerándose, como una estrategia viable, el uso de recursos alimenticios locales como las plantas espontáneas (alternativas a los cultivos) o los subproductos de la agroindustria (Vasta *et al.*, 2019).

La optimización del proceso de producción con sistemas más económicos y de reducido impacto ambiental, integrando el aprovechamiento del pastoreo de los recursos forrajeros, está encaminado a alcanzar una diferenciación del producto final y la valoración positiva por parte de los consumidores, pues cada vez hay mayor sensibilidad por el bienestar animal. Provenza *et al.* (2015) comentaron recientemente que *sólo cuidando y nutriendo al ecosistema podemos nutrirnos a nosotros mismos,* lo que indica la evidente tendencia a cambiar el tipo de alimentos que consumimos, así como la manera en que los producimos. Los esfuerzos futuros conjuntos deben encaminarse a determinar si realmente los productos de rumiantes criados en base a pastos son mejor para la salud humana, subrayando la importancia de invertir más dinero y esfuerzo en la investigación sobre el cultivo y el consumo de alimentos saludables, que en tratar los síntomas de las enfermedades relacionadas con la dieta (Provenza *et al.*, 2019).

7.5. CONCLUSIONES

El consumo de pasto durante la etapa de acabado de terneros de raza RG tuvo un marcado efecto sobre las características de producción animal y la calidad de la canal. Reducir la proporción de concentrado en la dieta de acabado de terneros RG a favor de un aumento en la de forraje (de C:F= 85:15 a 60:40 %MS, para LC y LP, respectivamente), a la vez q se mejora el valor nutritivo de este último (pasto frente a heno) y se mantiene la lactancia materna, fue efectivo en la mejora de las características de producción animal (ADG y PV) y calidad de la canal (cobertura de grasa y rendimientos de la canal y del chuletero) que se obtienen mediante un sistema extensivo sin suplementación con pienso.

Los efectos más notables del consumo de pasto sobre las características fisicoquímicas que determinan la calidad organoléptica de la carne de terneros RG, se reflejaron en su contenido de GIM y en la terneza objetiva, siendo ambos mejorados, como era de esperar, por los sistemas que incluyen consumo de pienso durante la fase de acabado. Destacando, en cambio, que un menor consumo de concentrado en la dieta, manteniendo la lactancia y mejorando el valor nutritivo del forraje (C:F= 60:40 para LP) a la vez, permite alcanzar las mismas mejoras en la calidad de la carne que un sistema semiextensivo con finalización de 3 meses en cebadero (C:F= 85:15 para LC), respecto al acabado exclusivo en pastoreo.

En cuanto a los efectos sobre la calidad nutricional/lipídica de la carne, la combinación del consumo de pasto con pienso enriquecido en linaza mostró efectos sinérgicos, produciéndose un aumento en la proporción de AGPI (específicamente *Σn-3* y LNA) y de los productos intermedios de BH mayoritarios (TVA y RA) respecto a la suplementación del pienso sin consumo de pasto; mostrando, en cambio, la misma limitación respecto a mantener las elevadas proporciones de *n-3*AGPICL de la carne procedente de terneros que sólo consumieron pasto fresco. En cambio, las cantidades de *n-3*AGPICL acumuladas en la carne cuando el pienso se complementó con el pastoreo, fueron comparables a las observadas en la carne procedente del sistema extensivo, a la vez que aumentó las de TVA y RA. La alimentación con un nivel mayor de concentrado (C:F= 85:15 vs. 60:40 %MS, para LC y LP, respectivamente) no ha sido efectiva para

incrementar la acumulación de TVA o RA en la carne, por lo que no sería una acción del todo rentable.

Mediante el consumo de pasto durante la dieta de acabado de terneros raza RG y una ingesta de 2kg menos de pienso enriquecido en linaza que en un sistema semiextensivo en cebadero (5,7 vs. 7,6 kg por animal y día) se consigue alcanzar el engrasamiento necesario para la comercialización y satisfacción culinaria a la vez que se cumplen las expectativas de proporcionar un perfil de AG en la carne más saludable desde el punto de vista de la nutrición humana. La mejora lograda en la acumulación de LNA y *n-3*AGPICL en la carne de terneros RG, mediante el consumo de pasto durante la fase de acabado, puede contribuir a las recomendaciones diarias de ingesta, pero, optimizar los ingredientes y composición de la dieta de acabado, con el fin de conseguir enriquecimientos sustanciales de estos AG o de productos deseables de su BH (TVA y $CLA_{c9,t11}$) en sus tejidos, puede ser un reto complicado, principalmente debido a la limitación de esta raza en el desarrollo de sus tejidos adiposos.

En todo caso, las acciones futuras deben ir encaminadas a i) establecer una ingesta máxima de concentrado que permita la deposición de GIM necesaria, ii) mejorar el valor nutritivo de la fuente de forraje y/o explorar otras alternativas, debido a la influencia positiva que ejercen algunos de sus compuestos sobre el enriquecimiento de los AG de interés, y iii) adecuar la relación concentrado:forraje idónea en la dieta, lo que implica una alimentación controlada y limitada de ambos recursos alimenticios.

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

CONCLUSIONES GENERALES

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

8. CONCLUSIONES GENERALES

- Se confirma, bajo las condiciones experimentales descritas, una respuesta positiva en la modificación del perfil de AG de la carne de terneros de raza RG derivada de la inclusión de oleaginosas (linaza, girasol y soja) en el concentrado suplementado a la ración típica de acabado de terneros de raza RG, siendo mayor cuando se complementa con el consumo de pasto.

- El procesado de las semillas oleaginosas (Cap. II), respecto al suministro en forma de aceite (Cap. I), redujo la disponibilidad de energía para los terneros y la deposición de GIM, resultando una proporción mayor de AGPI en los tejidos por las menores tasas de síntesis endógena de AG, siendo este efecto más acentuado con la semilla de girasol molida que con las extrusionadas (linaza y soja).

- La naturaleza de las semillas oleaginosas añadidas a la dieta de acabado de terneros de raza RG modificó la distribución de AG; alcanzándose consistentemente las mayores proporciones de LNA y *n-3*AGPI en la carne mediante la inclusión de linaza, siendo la soja y el girasol más efectivos en el aumento de TVA y CLA total (Cap. I y Cap. II).

- El aumento del nivel de linaza suplementado en la dieta (5, 10 y 15 %MS) no ha modificado las tasas de biohidrogenación de los AGPI, pero ha sido efectivo para elevar específicamente la proporción y cantidad de LNA y Σ*n-3* en el LT hasta un nivel de 10% MS, a partir del cual no se observa mejora en la acumulación de LNA en la carne ni en su relación *n-6/n-3* (Cap. III).

- Se confirmó que la composición de la dieta base es un factor clave y condicionante del ecosistema ruminal y de la protección de los lípidos frente a la BH. El consumo de dietas con mayor aporte energéticoo (EE= 8 vs. 6 %MS) y en base a grano de maíz, con un mayor contenido de almidón, en vez de grano de cebada (Cap. III vs. Cap. II), o con una mayor proporción (40 vs. 15%MS) y superior calidad nutricional (pasto vs. heno) del forraje en la ración final (Cap. IV), resultaron más efectivas en la protección de los AGPI de la dieta, favoreciendo su paso ruminal y mostrando en su carne las mayores relaciones AGPI/AGS.

- Se demuestra que la combinación del consumo de pasto y la suplementación de un pienso enriquecido con linaza (10%MS), durante la fase de acabado de los terneros de raza RG, proporciona efectos sinérgicos, aumentando las proporciones de AGPI (específicamente *Σn-3* y LNA) y las de los productos intermedios de BH (TVA y $CLA_{c9,t11}$) en la grasa intramuscular de su carne respecto a la suplementación del pienso con un forraje de valor nutritivo y calidad lipídica inferior (heno); destacando incluso el incremento en la concentración de LNA y *n-3*AGPICL en la carne (Cap. IV).

- Se confirma consistentemente que independientemente de la fuente oleaginosa (linaza, girasol o soja) incluida en la ración de acabado de terneros RG y de su forma de suministro (aceite en Cap. I y semilla en Cap. II), del nivel añadido (linaza al 5, 10 y 15%MS, Cap. III), o del consumo de pasto combinado con pienso enriquecido en linaza (Cap. IV), la limitación de alcanzar enriquecimientos sustanciales en el contenido de AGPI (LNA, *n-3*AGPICL) o de los productos intermedios de la BH (TVA y $CLA_{c9,t11}$) en su carne, se debe a la ineficiente protección de los AGPI de la dieta frente a la BH y, particularmente, a la condición magra de la carne de los terneros de raza RG.

- A pesar de las variaciones observadas sobre la composición de AG de la carne, los efectos evaluados para el tipo de oleaginosa (linaza, girasol o soja) incluido en la ración de acabado de los terneros y su forma de administración (aceite en Cap. I y semilla en Cap. II), así como el nivel añadido en el concentrado (linaza al 5, 10 y 15%MS, Cap. III), bajo las condiciones experimentales descritas, mostraron un impacto menor sobre las características de rendimiento animal, calidad de la canal y calidad organoléptica de la carne de ternera RG.

- Las terneras de raza RG suplementadas con un pienso enriquecido en linaza a diferentes niveles (5, 10 y 15 %MS), en comparación con los terneros, pero sin observarse interacción, mostraron GMD y rendimientos de la canal más bajos; presentando las canales una conformación y cobertura de grasa comparables con los machos, al tratarse de animales jóvenes de una raza de maduración tardía. La carne procedente de terneros hembra ha mostrado un perfil lipídico más favorable y con una acumulación superior de EPA, DHA, $CLA_{c9,t11}$ y ΣCLNA debido a su mayor deposición, aunque no significativa, de GIM (Cap. III).

- Mantener el pastoreo y la lactancia materna durante la etapa de acabado de terneros de raza RG suplementados con un pienso enriquecido en linaza (10%MS) (Cap. IV), mejoró las características de producción animal y calidad de la canal respecto al sistema extensivo sin suplementación, mostrando, incluso, rendimientos superiores a los observados para los animales estabulados con mayor consumo de concentrado y una fuente de forraje de inferior valor nutritivo (heno). Los efectos más notables del consumo de pasto y pienso enriquecido en linaza sobre la calidad organoléptica de la carne, se reflejaron sobre el contenido de GIM y la terneza objetiva; obteniéndose las mismas mejoras respecto al acabado de los terneros en pastoreo, que las alcanzadas mediante el sistema en cebadero.

- La suplementación del pienso enriquecido en linaza durante el pastoreo proporciona los beneficios de la finalización con dietas altas en concentrados respecto a las características de producción animal, calidad de la canal y calidad organoléptica de la carne de terneros de raza RG, a la vez que mantiene un perfil de AG en su GIM comparable al obtenido mediante los sistemas extensivos, siendo más favorable desde el punto de vista de la salud humana (Cap. IV).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

GENERAL CONCLUSIONS

- The addition of oilseeds to a standard finishing diet of RG calves, which is based on concentrate supplementation, confirmed a favorable response when trying to improve the fatty acid profile of meat, under the experimental conditions described, being better when the supplementation was combined with the consumption of grass.

- Oilseed processing, compared to direct oil supply (Chap. II vs. Chap. I), reduced the energy availability for calves regarding intramuscular fat (IMF) deposition, what led to higher PUFA proportions in tissues due to lower rates of endogenous FA synthesis. This was more accentuated when ground sunflower seed instead extruded ones (soybean and linseed) were used.

- The type of oilseeds added to the finishing diet of RG calves changed the FA distribution. The highest proportions of LNA and *n-3*PUFA in meat were reached by the inclusion of flaxseed, whereas soybeans and sunflower were more effective in increasing TVA and CLA_{TOTAL} (Chap. I and Chap. II).

- Increasing of linseed levels added to a basal concentrate (5, 10 y 15% DM) had no effect on the biohydrogenation rates of PUFA. However, it was effective in raising specifically the proportion and concentration of LNA and *n-3* in meat up to the level of 10% DM, above which no improvement was observed in LNA accumulation and *n-6/n-3* ratio (Chap. III).

- The base diet composition was found to be a key conditioning factor of ruminal ecosystem and lipid protection against BH. Consumption of diets with a higher caloric intake (EE = 8 vs. 6% DM) and based on corn instead of barley (Chap. III vs. Chap. II), or with a greater proportion of forage (40 vs. 15% DM) and higher nutritional quality of forages (grass vs. hay) in the final ration (Chap. IV), were more effective to protect the PUFA from the diet, favoring the passage through the rumen and showing the highest PUFA/SFA ratios in their meat.

- Combining the consumption of grass with a linseed enriched concentrate (10% DM) during the finishing phase of the RG breed calves has shown to provide synergistic effects by increasing the proportions of PUFA (specifically *n-3* and LNA) and those of intermediate BH products (TVA and $CLA_{c9,t11}$) in meat as compared to feed calves with a forage of lower nutritional value and lipid quality (hay) (Chap. IV).

- Regardless of the oilseed source (linseed, sunflower or soybean), the supply form (oils in Chap. I vs. seeds in Chap. II) included in the finishing diet of the RG calves, the added level (linseed at 5, 10 and 15%MS, Chap. III) and the combined consumption of grass with a linseed-enriched concentrate (10% MS; Chap. IV), it was consistently confirmed that the limitation of achieving substantial enrichments of PUFA (LNA, n-3LCPUFA) or the intermediate products of BH (TVA and CLAc9,t11) in its meat, was due to an inefficient protection of dietary PUFA against the BH and, in particular the lean condition of RG calves.

- The effects evaluated for type of oilseed (linseed, sunflower or soybeans), kind of supply (oil in Chap. I and seed in Chap. II), and level of linseed included in the finishing diet of calves (5, 10 and 15% DM, Chap. III) showed a minor impact on animal performance, carcass characteristics and meat quality of RG beef, despite the variations observed in the FA profile of meat.

- The RG female calves supplemented with linseed at different levels (5, 10 and 15 % DM) showed lower ADG and carcass yields than males. However, the conformation and fat cover scores were comparable to those of males, because females and males are both young animals of a late maturation breed. Meat from female calves has shown a more favorable lipid profile and with a higher accumulation of EPA, DHA, $CLA_{c9,t11}$ and ΣCLNA due to its higher deposition of IMF, although not significant (Chap. III).

- Maintaining grazing and suckling during the finishing stage of RG calves supplemented with a concentrate enriched in linseed (10%MS) (Chap. IV) improved animal performance and carcass quality compared to the extensive system without concentrate supplementation; furthermore, this system showed higher carcass yield than that observed for calves fed indoors with a greater concentrate consumption and a forage source of lower nutritional value (hay). The favorable effects of combining grass and linseed enriched diets on meat quality were due to high IMF content and objective

tenderness. Similar meat tenderness improvements were achieved in these grazing finished calves than in calves under an indoors feeds system.

- Linseed supplementation during grazing provides the benefits of the finishing on diets high in concentrates, regarding to animal performance, carcass and meat quality of RG calves, while maintaining a comparable FA profile in its IMF to that obtained through extensive systems, being more favorable from the point of view of human health.

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

BIBLIOGRAFÍA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

9. BIBLIOGRAFÍA

Aalhus, J.; Jeremiah, L.E.; Dugan, M.E.R.; Larsen, I.L.; Gibson, L.L. Establishment of consumer thresholds for beef quality attributes. *Can. J. Anim. Sci.* **2004**, *84*, 631-638. DOI:10.4141/A03-106

ACRUGA (2020). Asociación Nacional de Criadores de Ganado Vacuno Selecto de Raza Rubia Gallega. www.acruga.com

AEA (2019). Anuario de Estadistica Agraria. Subsector Gandeiro Bovino. Conselleria do Medio Rural. Xunta de Galicia. Disponible en: https://mediorural.xunta.gal/es/recursos/estatisticas/estatistica-agraria/2019

Aharoni, Y.; Orlov, A.; Brosh, A.; Granit, R.; Kanner, J. Effects of soybean oil supplementation of high forage fattening diet on fatty acid profiles in lipid depots of fattening bull calves, and their levels of blood vitamin. *Anim. Feed Sci. Tech.* **2005**, *119*, 191–202. DOI:10.1016/j.anifeedsci.2005.01.002

Ailhaud, G.; Massiera, F.; Weill, P.; Legrand, P.; Alessandri, J.M.; Guesnet, P. Temporal changes in dietary fats: Role of *n-6* polyunsaturated fatty acids in excessive adipose tissue development and relationship to obesity. *Prog. Lipid Res.* **2006**, *45* (3), 203-236. DOI:10.1016/j.plipres.2006.01.003

Akiba, S.; Murata, T.; Kitatani, K.; Sato, T. Involvement of lipoxygenase pathway in docosapentaenoic acid-induced inhibition of platelet aggregation. *Biol. Pharm. Bull.* **2000**, *23* (11), 1293-1297. DOI: 10.1248/bpb.23.1293

Akraim, F.; Nicot, M.C.; Weill, P.; Enjalbert, F. Effects of preconditioning and extrusion of linseed on the ruminal biohydrogenation of fatty acids. In vivo studies. *Anim. Res*. **2006**, *55*, 83-91. DOI:10.1051/animres:2006006

Albertí, P.; Beriain, M.J.; Ripoll, G.; Sarriés, V.; Panea, B.; Mendizabal, J.A.; Purroy, A.; Olleta, J.L.; Sañudo, C. Effect of including linseed in a concentrate fed to young bulls on intramuscular fatty acids and beef color. *Meat Sci.* **2014**, *96*, 1258-1265. DOI:10.1016/j.meatsci.2013.11.009

Albertí, P.; Sañudo, C.; Campo, M.M.; Franco, J.; Lahoz, F.; Olleta, J.L. Características productivas de terneros de siete razas bovinas españolas. *VII Jornadas sobre Producción Animal. ITEA*, 1997, 745-747.

Albertí, P.; Sañudo, C.; Lahoz, F.; Jaime, J.; Tena, T. Características de la canal y de la carne de terneros cebados con dietas forrajeras y suplementadas con distinta cantidad de pienso. *ITEA*, **1988**, *76*, 3-14.

Albertí, P.; Sañudo, C.; Santolaria, P.; Lahoz, F.; Jaime, J.; Tena, R. Efecto del empleo de alfalfa deshidratada en dietas de cebo de terneros sobre la calidad de la canal y de la carne. *ITEA*, **1992**, *88*, 158-168.

Albertí, P.; Sañudo, C.; Santolaria, P.; Negueruela, Y.; Olleta, J.L.; Mamaqui, E.; Campo, M.M. y Alvarez, F. Calidad de la carne en terneros de raza parda alpina y pirenaica cebados con pienso rico en gluten feed y mandioca. *VI jornadas sobre producción animal. ITEA*, 1995, 630-632.

Aldai, N.; De Renobales, M.; Barron, L.J.R.; Kramer, J.K.G. What are the *trans* fatty acids issues in foods after discontinuation of industrially produced *trans* fats? Ruminant products, vegetable oils, and synthetic supplements. *European Journal of Lipid Science and Technology*, **2013**, *115* (12), 1378-1401. DOI:10.1002/ejlt.201300072

Aldai, N.; Dugan, M.E.R.; Juárez, M.; Martínez, A.; Osoro, K. Double-muscling character influences the *trans*-18:1 and conjugated linoleic acid profiles in concentrate-fed yearling bulls. *Meat Sci*. **2010**, *85,* 59-65. DOI:10.1016/j.meatsci.2009.12.004

Aldai, N.; Dugan, M.E.R.; Kramer, J.K.G.; Martinez, A.; Lopez-Campos, O.; Mantecon, A.R.; Osoro, K. Length of concentrate finishing affects the fatty acid composition of grass-fed and genetically lean beef: An emphasis on *trans*-18:1 and conjugated linoleic acid profiles. *Animal*, **2011**, *5* (10), 1643–1652. DOI: 10.1017/S1751731111000607

Aldai, N.; Dugan, M.E.R.; Kramer, J.K.G.; Mir, P.S.; McAllister, T.A. Nonionophore antibiotics do not affect the *trans*-18:1 and conjugated linoleic acid composition in beef adipose tissue. *J. Anim. Sci.*, **2008**, *86*, 3522-3532. DOI:10.2527/jas.2008-0946

Aldai, N.; Murray, B.E.; Oliván, M.; Martínez, A.; Troy, D.J.; Osoro, K.; *et al.* The influence of breed and mh-genotype on carcass conformation, meat physico-chemical characteristics, and the fatty acid profile of muscle from yearling bulls. *Meat Sci.*, **2006**, *72* (3), 486-495. DOI:10.1016/j.meatsci.2005.08.016

Alfaia, C.; Alves, S.; Martins, S.; Costa, A.; Fontes, C.; Lemos, J.; Bessa, R.; Prates, J. Effect of the feeding system on intramuscular fatty acids and conjugated linoleic acid isomers of beef cattle, with emphasis on their nutritional value and discriminatory ability. *Food Chem*. **2009**, *114*, 939-946. DOI:10.1016/j.foodchem.2008.10.041

Alvarado-Gilis, C.A.; Aperce, C.C.; Miller, K.A.; Van Bibber-Krueger, C.L.; Klamfoth, D.; Drouillard, J.S. Effects of flaxseed encapsulation on biohydrogenation of polyunsaturated fatty acids by ruminal microorganisms: feedlot performance, carcass quality, and tissue fatty acid composition. *J. Anim.l Sci.* **2015**, *93* (9), 4368–4376. DOI:10.2527/jas.2015-9171

Alves, S.; Cabrita, A.; Fonseca, A.; Bessa, J. Improved method for fatty acid analysis in herbage based on direct transesterification followed by solid-phase extraction. *J. Chromatogr. A*. **2008**, *1209* (1-2), 212-219. DOI:10.1016/j.chroma.2008.08.114

Alves, S.P.; Bessa, R.J.B. The *trans*-10,*cis*-15 18:2: a Missing Intermediate of *trans*-10 Shifted Rumen Biohydrogenation Pathway? *Lipids* **2014**, *49* (6), 527–541. DOI:10.1007/s11745-014-3897-4

Alves, S.P.; Francisco, A.; Costa, M.; Santos-Silva, J.; Bessa, R.J.B. Biohydrogenation patterns in digestive contents and plasma of lambs fed increasing levels of a tanniferous bush (*Cistus ladanifer* L.) and vegetable oils. *Anim. Feed Sci. Tech*. **2017**, *225*, 157–172. DOI:10.1016/j.anifeedsci.2017.01.018

Andersen, H.R.; Ingvarstesen, K.L.; Klastrup, S. Influence of energy level, weight at slaughter and castration on carcass quality in cattle. *Livest. Prod. Sci*. **1984**, *11* (6), 571-586. DOI:10.1016/0301-6226(84)90072-1

Arvidsson, K.; Gustavsson, A.M.; Martinsson, K. Fatty acids in forages: A comparison of different pre-treatments prior to analysis. *Anim. Feed Sci. Tech.* **2009**, *151* (1-2), 143–152. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2008.12.003

Astrup, A.; Bertram, H.C.; Bonjour, J.P.; de Groot, L.C.; de Oliveira Otto, M.C.; Feeney, E.L. *et al*. WHO draft guidelines on dietary saturated and *trans* fatty acids: Time for a new approach? *BMJ.* **2019**, *366*, I4137. DOI: 10.1136/bmj.l4137 (corrections DOI:10.1136/bmj.l5683)

Avilés, C.; Martínez, A.L.; Domenech, V.; Peña, F. Effect of feeding system and breed on growth performance: and carcass and meat quality traits in two continental beef breeds. *Meat Sci.***2015**,*107*, 94–103. DOI:10.1016/j.meatsci.2015.04.016

Baba, Y.; Kallas, Z.; Costa-Font, M.; Gil, J.M.; Realini, C.E. Impact of hedonic evaluation on consumers' preferences for beef attributes including its enrichment with n-3 and CLA fatty acids. *Meat Sci.* **2016**, *111*, 9-17. DOI:10.1016/j.meatsci.2015.08.005

Bahamonde, A.; Goyache, J.J.; Del Coz, J.R.; Quevedo, S.; López, S y Alonso, J. La inteligencia artificial en la clasificación de canales. *Iº Congreso Nacional de la Carne*, 2001, 95-110.

Bailey, C.M.; Reid, C.R.; Ringkob, T.P.; Koh, Y.O. Y Foote, W.D. Nulliparous versus primiparous crossbred females for beef. *J. Anim. Sci*. **1991**, *69* (4), 1403-1408. DOI: 10.2527/1991.6941403x

Barroeta, A.C.; Cortinas, L., Modificación de la composición de la grasa de pollo a través de la dieta. *Eurocarne,* **2002**, *108*, 33-45.

Barton, L.; Bureš, D.; Kott, T.; Rehák, D. Effect of sex and age on bovine muscle and adipose fatty acid composition and stearoyl-CoA desaturase mRNA expression. *Meat Sci.* **2011**, *89* (4), 444–450. DOI:10.1016/j.meatsci.2011.05.007

Bas, P.; Archimède, H.; Rouzeau, A.; Sauvant, D. Fatty acid composition of mixed-rumen bacteria: effect of concentration and type of forage. *J. Dairy Sci.* **2003**, *86* (9), 2940-2948. DOI:10.3168/jds.S0022-0302(03)73891-0

Bas, P.; Morand-Fehr, P. Effect of nutritional factors on fatty acid composition of lamb fat deposits. *Livest. Prod. Sci*. **2000**, 64, 61-79. DOI:10.1016/s0301-6226(00)00176-7

Bass, J.J.; Johnson, D.L.; Colomer-Rocher, F. y Binks, G. Prediction of carcass composition from carcass conformation in cattle. *J. Agric. Sci.-Cambridge* **1981**, *97* (1), 37-44. DOI:10.1017/S0021859600035826

Bauchart, D.; Roy, A.; Lorenz, S.; Chardigny, J.M.; Ferlay, A.; Gruffat, D.; *et al.* Butters varying in *trans*-18:1 and *cis*-9, *trans*-11 conjugated linoleic acid modify plasma lipoproteins in the hypercholesterolemic rabbit. *Lipids* **2007**, *42* (2), 123-133. DOI:10.1007/s11745-006-3018-0

Bautista-Martínez Y.; Hernández-Mendo, O.; Crosby- Galván, M.M.; Joaquin-Cancino, S.; Ruíz Albarrán, M.; Salinas-Chavira, J.; Granados-Rivera, L.D. Physicochemical characteristics and fatty acid profile of beef in Northeastern Mexico: grazing vs. feedlot systems. *CyTA - Journal of Food* **2020**, *18* (1), 147-152, DOI: 10.1080/19476337.2020.1725644

BDH. British Department of Health. Nutritional aspects of cardiovascular disease. Report of the Cardiovascular Review Group Committee on Medical Aspects of

Food Policy. *Rep. Health Soc. Subj*. Department of Health (London), **1994**, *46*, 1-186. PMID: 7863112

Beam, T.M.; Jenkins, T.C.; Moate, P.J.; Kohn, R.A.; Palmquist, D.L. Effects of amount and source of fat on the rates of lipolysis and bio- hydrogenation of fatty acids in ruminal contents. *J. Dairy Sci*. **2000**, *83* (11), 2564-2573. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(00)75149-6

Beauchemin, K.A.; Rode, L. Efficient Use of Forages and Impact on Cost of Production. WCDS *Adv. Dairy Technol.* **2012***,* 24, 241-253.

Bellavia, A.; Stilling, F.; Wolk, A. High red meat intake and all-cause cardio- vascular and cancer mortality: is the risk modified by fruit and vegetable intake? *The American Journal of Clinical Nutrition* **2016**, *104* (4), 1137–1143. DOI:10.3945/ ajcn.116.135335

Berg, R.T.; Butterfield, R.M. (1978). *Nuevos conceptos sobre desarrollo del ganado vacuno.* Edit. Acribia. Zaragoza.

Beriain, M.J.; Sanchez, M.; Carr, T.R. A comparision of consumer sensory acceptance, purchase intention, and willigness to pay for high quality United States and Spanish beef under diferent information scenarios. *J. Anim. Sci*. **2009**, *87* (10), 3392-402. DOI: 10.2527/jas.2008-1611

Bessa, R.; Alves, S.; Jerónimo, E.; Alfaia, C.; Prates, J.; Santos-Silva, J. Effect of lipid supplements on ruminal biohydrogenation intermediates and muscle fatty acids in lambs. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2007***, 109* (8), 868-878. DOI:10.1002/ejlt.200600311

Bessa, R.J.B.; Alves, S.P.; Santos-Silva, J. Constraints and potentials for the nutritional modulation of the fatty acid composition of ruminant meat. *European Journal of Lipid Science and Technology* **2015**, *117* (9), 1325–1344. DOI:10.1002/ ejlt.201400468

Bessa, R.J.B.; Maia, M.R.G.; Jerónimo. E.; Belo, A.T.; Cabrita, A.R.J.; Dewhurst, R.J.; Fonseca, A.J.M. Using microbial fatty acids to improve understanding of the contribution of solid associated bacteria to microbial mass in the rumen. *Anim. Feed Sci. Tech*. **2009**, *150* (3-4), 197–206. DOI:10.1016/j.anifeedsci.2008.09.005

Bessa, R.J.B.; Santos-Silva, J.; Ribeiro, J.M.R.; Portugal, A.V. Reticculo-rumen biohydrogenation and the enrichment of ruminant edible products with linoleic acid conjugated isomers. *Livest. Prod. Sci.* **2000***, 63* (3), 201-211. DOI:10.1016/S0301-6226(99)00117-7

Bhattacharya, A.; Banu, J.; Rahman, M.; Causey, J.; Fernandes, G. Biological effects of conjugated linoleic acids in health and disease. *J. Nutr. Biochem.* **2006***, 18* (7), 467–474. DOI:10.1016/j.jnutbio.2006.02.009

Białek, M.; Czauderna, M.; Białek, A. Conjugated linolenic acid isomers as new bioactive lipid compounds in ruminant-derived food products. A review. *J. Anim. Feed Sci.* **2017**, *26* (1), 3–17. DOI:10.22358/jafs/68862/2017

Bispo, E. (2010). Influencia da lactancia materna e do sistema de producción na carne de becerros Rubia Galega: calidadade organoléptica e contido de isómeros 18:1*cis*/*trans* no perfil lipídico. Tesis Doctoral. Universidade de Santiago de Compostela.

Bispo, E.; Monserrat, L.; González, L.; Franco, D.; Moreno, T. Effect of weaning status on animal performance and meat quality of Rubia Gallega calves. *Meat Sci.* **2010a**, *86* (3), 832-838. DOI:10.1016/j.meatsci.2010.07.005

Bispo, E.; Moreno, T.; Latorre, L.; González, L.; Herradón, P.; Franco, D.; Monserrat, L. Effect of weaning status on lipids of Galician Blond veal: Total fatty acids and 18:1 *cis* and *trans* isomers. *Meat Sci.* **2010b**, 86 (2), 357–363. DOI:10.1016/j.meatsci.2010.05.014

Bispo, E.; Moreno, T.; Thomas, A.; Durand, D.; Monserrat, L.; González, L.; Bauchart, D. Effects of weaning and finishing feeding treatment on fatty acids, especially *cis* and *trans* C18:1 isomers, in the *Longissimus thoracis* muscle of Galician Blond calves. *Animal* **2011***, 5* (5), 802-812. DOI:10.1017/S1751731110002338

Bispo, E.; Thomas, A.; Lyan, B.; Gruffat, D.; Durand, D.; Bauchart, D. Lipid supplements rich in *n-3* polyunsaturated fatty acids deeply modify *trans*-18:1 isomers in the *Longissimus thoracis* muscle of finishing bovine. In *Ruminant physiology. Digestion, metabolism, and effects of nutrition on reproduction and welfare*. Y. Chilliard, F. Glasser, Y. Faulconnier, F. Bocquier, I. Veissier, M. Doreau, Eds., Wageningen Academic Publishers, 2009, pp 464–466.

Blanco-Penedo, I.; López-Alonso, M.; Shore, R.F.; Miranda, M.; Castillo, C., Herna´ ndez J.; Benedito, J.L. Evaluation of organic, conventional and intensive beef farm systems: health, management and animal production. *Animal* **2012***, 6* (9), 1503–1511. DOI:10.1017/S1751731112000298

Bligh, E.G.; Dyer, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* **1959**, *37* (8)*,* 911-917. DOI: 10.1139/o59-099

Boccard, R.; Buchter, L.; Casteels, E.; Cosentino, E.; Dransfield, E.; Hood, D.E.; Joseph, R.L.; Magdougal, D.B.; Rhodes, D.N.; Schön, I.; Timbergen, B.J.; Touraille, C. Procedures for measuring meat characteristics in beef production experiments. Report of a working group in the Comission of the European Communities (CEC) Beef Production Research Programme. *Livest. Prod. Sci.* **1981**, *8* (5), 385-397. DOI:10.1016/0301-6226(81)90061-0

BOE Real Decreto 815/2018, de 6 de julio, por el que se establecen disposiciones de aplicación relativas a la clasificación de las canales de vacuno y ovino y al registro y comunicación de los precios de mercado de determinadas categorías de canales y animales vivos. *BOE*, **2018**, 164, 68273-68289.

Boufaïed, H.; Chouinard, P.; Trembaly, G.; Petit, H.; Michaud, R.; Bélanger, G. Fatty acids in forages. I. factors affecting concentrations. *Can. J. Anim. Sci*. **2003**, *83* (3), 501-511. DOI: 10.4141/A02-098

Bourne, MC. Texture profile of ripening pears. *Journal of Food Science* **1968**, *33* (2), 223–226. DOI:10.1111/j.1365-2621.1968.tb01354.x

Bourne, M.C. Texture profile analysis. *Food Technology* **1978***, 32* (7), 62–66.

Bouton, P.E.; Harris, P.V. A comparison of some objective methods used to assess meat tenderness. *Journal of Food Science* **1972***, 37* (2), 218–221. DOI:10.1111/j.1365-2621.1972.tb05820.x

Brady, P.L.; Hunecke, M.E. Correlations of sensory and instrumental evaluations of roast beef texture. *Journal of Food Science* **1985***,* 50 (2), 300–303. DOI:10.1111/j.1365-2621.1985.tb13386.x

Bratzler, L.J. Determining the tenderness of meat by use of the Warner–Bratzler method. *Proc. Recip. Meat Conf*. **1949**, *2*, 117-121.

Brea, T. Efecto del pastoreo rotacional y continuo en un sistema de producción con vacas de carne y su posible influencia en las características de la pradera. Tesis Doctoral. Facultad de Biología. Universidad de Santiago de Compostela, 1993.

Brea, T.; García, J.; Monserrat, L.; Sánchez, L.; Carballo, J.A. Modelización, crecimiento y rendimiento potencial de machos y hembras de raza Rubia Gallega. En *Memoria CIAM 94-96*. Edit. Xunta de Galicia. Consellería de Agricultura, Gandería e Política Agroalimentaria, 1998

Briskey, E.J.; Bray, R.W. A special study of the beef grade standards for American National Cattlemen's Association (ANCA), 1964.

Brogna, D.; Nasri, S.; Salem, H.B.; Mele, M.; Serra, A.; Bella, M.; *et al.* Effect of dietary saponins from Quillaja saponaria L. on fatty acid composition and cholesterol content in muscle Longissimus dorsi of lambs. *Animal* **2011**, *5* (7), 1124–1130. DOI: 10.1017/S1751731111000048

Brooks, M.A.; Choi, C.W.; Lunt, D.K.; Kawachi, H.; Smith, S.B. Subcutaneous and intramuscular adipose tissue stearoyl-coenzyme A desaturase gene expression and fatty acid composition in calf- and yearling-fed Angus steers. *J. Anim. Sci.* **2011**, *89* (8), 2556-2570. DOI: 10.2527/jas.2010-3369.

Brouwer, I.A.; Wanders, A.J.; Katan, M.B. *Trans* fatty acids and cardiovascular health: Research completed? *Eur. J. Clin. Nutr.* **2013**, *67* (5), 541-547. DOI:10.1038/ejcn.2013.43

Bruce, H.L.; Stark, J.L.; Beilken, S.L. The effects of finishing diet and postmortem aging on the eating quality of the M. longissimus thoracis of electrically stimulated Brahman steer carcasses. *Meat Sci.* **2004**, 67 (2), 261–268. DOI: 10.1016/j.meatsci.2003.10.014.

Buccioni, A.; Decandia, M.; Minieri, S.; Molle, G.; Cabiddu, A. Lipid metabolism in the rumen: New insights on lipolysis and biohydrogenation with an emphasis on the role of endogenous plant factors. *Anim. Feed Sci. Tech.* **2012**, 174 (1-2), 1–25. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2012.02.009

Butler, O.D.; Warwick, B.L. y Cartwright, T.C. Slaughter and carcass characteristics of shorted yearling Hereford and Brahman x Hereford steers. *J. Anim. Sci*. **1956**, *15*, 93-96. DOI:10.2527/jas1956.15193x

Cai, Q.; Huang, H.; Qian, D.; Chen, K.; Luo, J.; Tian, Y.; Lin, T.; Lin, T. 13-Methyltetradecanoic acid exhibits anti-tumor activity on T-cell lymphomas in vitro and in vivo by down-regulating p-AKT and activating caspase-3. *PloS One* **2013***, 8* (6), e65308. DOI: 10.1371/journal.pone.0065308

Caine, W.R.; Aalhus, J.L.; Best, D.R.; Dugan, M.E.R.; Jeremiah, L.E. Relationship of texture profile analysis and Warner-Bratzler shear force with sensory characteristics of beef rib steaks. *Meat Sci.* **2003**, *64* (4), 333-339. DOI:10.1016/S0309-1740(02)00110-9

Calkins, C.R.; Sullivan, G. Ranking of beef muscles for tenderness. *Beef facts: Product enhancement.* National Cattlemen's Beef Association, 2007. http://www.beefresearch.org. [Accessed 2011 July 27]

Calvo. Estudio del crecimiento y de las características de la canal y de la carne del ternoro Rubio Gallego acogible a las primas de la P.A.C. en rebaños de vacas nodrizas. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad de Santiago de Compostela, 2001.

Campidonico, L.; Toral, P.G.; Priolo, A.; Luciano, G.; Valenti, B.; Hervás, G.; Frutos, P.; Copani, G.; Ginane, C.; Niderkorn, V. Fatty acid composition of ruminal digesta and longissimus muscle from lambs fed silage mixtures including red clover, sainfoin, and timothy. *J. Anim. Sci.* **2016**, *94* (4), 1550–1560. DOI: 10.2527/jas.2015-9922

Campo, M.M.; Nute, G.R.; Wood, J.D.; Elmore, S.J.; Mottram, D.S.; Enser, M. Modelling the effect of fatty acids in odour development of cooked meat in vitro: part I-sensory perception. *Meat Sci.* **2003**, *63* (3), 367-375. DOI: 10.1016/s0309-1740(02)00095-5

Cañeque, V.; Sañudo, C. *Metodología para el estudio de la calidad de la canal y de la carne en rumiante*s. Monografías INIA, 2000, Ganadera 1, 300 pp.

Carballo, J.A. (2003). Caracterización de las canales de vacuno joven producidas en Galicia. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela.

Carballo, J.A.; Cabrero, M.; Monserrat, L.; Sánchez, L.; Sueiro, R. Producción de ternero rubio Gallego acogible a las primas de la PAC en rebaños de vacas nodrizas. II. Determinación objetiva de las características de la canal. *ITEA*, **1995**, *II*, 603-605. https://www.aida-itea.org/aida-itea/files/jornadas/1995/comunicaciones/1995_PCC_03.pdf

Carballo, J.A.; Monserrat, L.; Sánchez, L.; Varela, A. Clasificación de las canales de vacas nodrizas. *Boletín ACRUGA*, **2001**, *12*, 10-13.

Carreau, J.P.; Dubacq, J.P. Adaptation of a macro-scale method to the micro-scale for fatty acid methyl transesterification of biological lipid extracts. *J. Chromatogr. A* **1978**, *151* (3)*,* 384-390. DOI:10.1016/S0021-9673(00)88356-9

Carreño, D.; Hervás, G.; Toral, P.G.; Castro-Carrera, T.; Frutos, P. Fish oil-induced milk fat depression and associated downregulation of mammary lipogenic genes in dairy ewes. *Journal of Dairy Science* **2016**, *99* (10), 7971–7981. DOI:10.3168/jds.2016-11019

Cerdeño, V.J.M. Consumo de carne y productos cárnicos. Evolución y tendencias más recientes. *MERCASA, Distribución y Consumo*, **2010**, *117*, 5-23. https://www.mercasa.es/media/publicaciones/58/pag_005-023_martin_cerdeno.pdf

Chail, A.; Legako, J.F.; Pitcher, L.R.; Griggs, T.C.; Ward, R.E.; Martini, S.; MacAdam, J.W. Legume finishing provides beef with positive human dietary fatty acid ratios and consumer preference comparable with grain-finished beef. *J. Anim. Sci.* **2016**, *94* (5), 2184–2197. DOI: 10.2527/jas.2015-0241

Chapkin, R.S.; McMurray, D.N.; Davidson, L.A.; Patil, B.S.; Fan, Y.Y.; Lupton, J.R. Bioactive dietary long-chain fatty acids: emerging mechanisms of action. *Brit. J. Nutr.* **2008***, 100* (6), 1152-1157. DOI:10.1017/S0007114508992576

Cherfaoui, M.; Durand, D.; Bonnet, M.; Cassar-Malek, I.; Bauchart, D.; Thomas, A.; Gruffat, D. Expression of enzymes and transcription factors involved in *n-3* long

chain PUFA biosynthesis in limousin bull tissues. *Lipids* **2012**, *47* (4), 391-401. DOI:10.1007/s11745-011-3644-z

Chikwanha, O.C.; Vahmani, P.; Muchenje, V.; Dugan, M.E.R.; Mapiye, C. Nutritional enhancement of sheep meat fatty acid profile for human health and wellbeing. *Food Res. Int.* **2018**, *104*, 25–38. DOI:10.1016/j. foodres.2017.05.005

Childs, C.E.; Romeu-Nadal, M.; Burdge, G.C.; Calder, P.C. Gender differences in the n-3 fatty acid content of tissues. *Proc. Nutr. Soc*. **2008**, *67*, 19–27. DOI: 10.1017/S0029665108005983

Chilliard, Y.; Ferlay, A. Dietary lipids and forages interactions on cow and goat milk fatty acid composition and sensory properties. *Reprod. Nutr. Dev*. **2004**, *44* (5), 467-492. DOI: 10.1051/rnd:2004052

Chin, S.F.; Liu, W.; Storkson, J.M.; Ha, Y.L.; Pariza, M.W. Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognised class of anticarcinogens. *J. Food Compos. Anal.* **1992**, *5* (3), 185–197. DOI:10.1016/0889-1575(92)90037-K

Cho, S.H.; Park, B.Y.; Kim, J.H.; Hwang, I.H.; Kim, J.H.; Lee, J.M. Fatty acid profiles and sensory properties of longissimus dorsi, triceps brachii, and semimembranosus muscles from Korean Hanwoo and Australian Angus beef. *AsianAustral. J.Anim. Sci.* **2005**, *18* (12), 1786–1793. DOI:10.5713/ajas.2005.1786

Christensen C. Food texture perception. *Adv. Food Res.* **1984**, *29*, 159–199. DOI:10.1016/S0065-2628(08)60057-9

Christensen, M.; Ertbjerg, P.; Failla, S.; Sañudo, C.; Richardson, R.I.; Nute, G.R.; Olleta, J.L.; Panea, B.; Albertí, P.; Juárez, M.; Hocquette, J.F.; Williams, J.L. Relationship between collagen characteristics, lipid content and raw and cooked texture of meat from young bulls of fifteen European breeds. *Meat Sci.* **2011**, *87*, 61-65. DOI: 10.1016/j.meatsci.2010.09.003

Christie, W.W. Preparation of lipid extracts from tissues. In *Advances in Lipid Methodology - Two*, P.J. Barnes & Associates (The Oily Press), 1993a, pp 195-213.

Christie, W.W. Preparation of ester derivatives of fatty acids for chromatographic analysis. In *Advances in Lipid Methodology - Two*, P.J. Barnes & Associates (The Oily Press), 1993b, pp 69-111.

Christie, W.W.; Sébédio, J.L.; Juanéda, P. A practical guide to the analysis of conjugated linoleic acid (CLA). *INFORM*, **2001**, *12*, 147–152. https://lipidlibrary.aocs.org/lipid-analysis/selected-topics-in-the-analysis-of-lipids/a-practical-guide-to-the-analysis-of-conjugated-linoleic-acid-(cla)

Christie, W.W.; Dobson, G.; Adlof, R.O. A practical guide to the isolation, analysis and identification of conjugated linoleic acid. Lipids **2007**, *42* (12), 1073-84. DOI: 10.1007/s11745-007-3107-8

Christie, W.W. Preparation of lipid extracts tissues. In *The Lipid Library,* 2008. (Accessed as: https://lipidlibrary.aocs.org/lipid-analysis/selected-topics-in-the-analysis-of-lipids/preparation-of-lipid-extracts-tissues)

CIE (Commission International de l´Éclairage) (1986). *Colorimetry, 2nd* Edit.Vienna.

Clandinin, M.T.; Cook, S.L.; Konrad, S.D.; Goh, Y.K.; French, M.A. The effect of palmitic acid on lipoprotein cholesterol levels and endogenous cholesterol synthesis in hyperlipidemic subjects. *Lipids* **1999**, *34*, S121–S124. DOI:10.1007/BF02562257

Colomer-Rocher, F. (1977). Estudio de los parámetros que definen los caracteres cuantitativos y cualitativos de las canales bovinas. CRIDA 03. INIA. Dep. Prod. Animal. Zaragoza. IX Jornadas AIDA, 65 pp.

Colomer-Rocher, F. (1980). Métodos operacionales para la descripción de los caracteres de la canal. CRIDA 03, 76 pp., Zaragoza.

Connor, W.E. Importance of n-3 fatty acids in health and disease. *Am. J. Clin. Nutr.* **2000***, 71,* 171S-1755S. DOI: 10.1093/ajcn/71.1.171S

Cônsolo, N.R.B.; Gardinal, R.; Gandra, J.R.; De Freitas Junior, J.E.; Rennó, F.P.; Santana, M.H.A.; Pflanzer Junior, S.B.; Pereira, A.S.C. High levels of whole raw soybean in diets for Nellore bulls in feedlot: Effect on growth performance, carcass traits and meat quality. *J. Anim. Physiol. An. Nutr.* **2014**, *99* (2), 201-209. DOI:10.1111/jpn.12237

Conte, G.; Serra, A.; Casarosa, L.; Ciucci, F.; Cappucci, A.; Bulleri, E.; Corrales-Retana, L.; Buccioni, A.; Mele, M. Effect of Linseed Supplementation on Total Longissimus Muscle Lipid Composition and Shelf-Life of Beef From Young Maremmana Bulls. *Front. Vet. Sci*. **2019**, *5*, 326. DOI:10.3389/fvets.2018.00326

Conway, A. Grazing mangement in relation to beef production: V. Effects of feeding supplements to beef cattle on pasture at two intensities of stocking.*Ir. J. Agric. Res*. **1968**, *7*, 105-120. http://www.jstor.org/stable/25555471 (accessed 2020-09-05).

Corazzin, M.; Bovolenta, S.; Sepulcri, A.; Piasentier, E. Effect of whole linseed addition on meat production and quality of Italian Simmental and Holstein young bulls. *Meat Sci.* **2012**, *90* (1), 99-105. DOI:10.1016/j.meatsci.2011.06.008

Corl, B.; Baumgard, L.; Dwyer, D.; Griinari, J.; Phillips, B.; Bauman, D. The role of Δ9-desaturase in the production of *cis*-9, *trans*-11 CLA. *J. Nutr. Biochem.* **2001**, *12* (11), 622-630. DOI:10.1016/S0955-2863(01)00180-2

Costa, E.C.; Restle, J.; Brondani, I.L.; Perottoni, I.J.; Faturi, C.; Menezes, L.F.G. Composição física da carcaça, qualidade da carne e conteúdo de colesterol no músculo *Longissimus dorsi* de novilhos Red Angus superprecoces, terminados em confinamento e abatidos com diferentes pesos. *Revista Brasileira de Zootecnia* **2002**, *31*, 417-428. DOI:10.1590/S1516-35982002000200017

Craig-Schmidt, M.C.; Holzer, B.M. (2000). Fatty acid isomers in foods. In *Fatty Acids in Foods and Their Health Implications.* C.K. Chow (Eds.), Marcel Dekker, Inc.; 2000, pp 307-356.

Craig-Schmidt, M.C. World-wide consumption of *trans* fatty acids. *Atherosclerosis Supp*. **2006**, *7* (2), 1-4. DOI: 10.1016/j.atherosclerosissup.2006.04.001

Crouse, J.D.; Cross, H.R. y Seideman, S.C. Effects of a grass or grain diet on the quality of three beef muscles. *J. Anim. Sci.* **1984***, 58* (3), 619-625. DOI:10.2527/jas1984.583619x

Crouse, J.D.; Seideman, S.C. y Cross, H.R. The effect of carcass electrical stimulation and cooler temperature on the quality and palatability of bull and steer beef. *J. Anim. Sci.* **1983***, 56*, 81-90. DOI:10.2527/jas1983.56181x

Cruz-Hernandez, C.; Deng, Z.; Zhou, K.; Hill, A.R.; Yurawecz, M.P.; Delmonte, P.; Mossoba, M.M.; Dugan, M.E.R.; Kramer, J.K.G. Methods for Analysis of Conjugated linoleic acids and *trans*-18:1 isomers in dairy fats by using a combination of Gas chromatography, silver-ion thin-layer chromatography/gas chromatography, and silver-ion liquid chromatography. *J. AOAC Int.* **2004**, *87* (2), 545-562. DOI: 10.1093/jaoac/87.2.545

Cruz-Hernandez, C.; Kramer, J.K.G.; Kraft, J.; Santercole, V.; Or-Rashid, M.; Deng, Z.; Dugan, M.E.R.; Delmonte, P.; Yurawecz, M.P. Systematic analysis of trans and conjugated linoleic acids in the milk and meat of ruminants. In M.P. Yurawecz, J.K.G. Kramer, O. Gudmundsen, M.W. Pariza, y S. Banni (Eds.), *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*, Champaign, IL, USA: AOCS Press, 2006, 3 pp 45-93. DOI: 10.1201/9781439822432.ch4

Daley, C.A.; Abbott, A.; Doyle, P.S.; Nader, G.A.; Larson, S. A review of fatty acid profiles and antioxidant content in grass-fed and grain-fed beef. *Nutr. J.* **2010**, 9:10, 1-12. DOI: 10.1186/1475-2891-9-10

Daniel, Z.C.T.R.; Wynn, R.J.; Salter, A.M.; Buttery, P.J. 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. *J. Anim. Sci.* **2004***, 82* (3), 747-758. DOI: 10.2527/2004.823747x

Dannenberger, D.; Nuernberg, G.; Scollan, N.; Schabbel, W.; Steinhart, H.; Ender, K.; Nuernberg, K. Effect of diet on the deposition of n−3 fatty acids, conjugated linoleic and C18:1*trans* fatty acid isomers in muscle lipids of German Holstein bulls. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52* (21), 6607–6615. DOI: 10.1021/jf0495111

Dannenberger, D.; Nuernberg, K.; Herdmann, A.; Nuernberg, G.; Hagemann, E.; Kienast, W. Dietary PUFA intervention affects fatty acid- and micronutrient profiles of beef and related beef products. *Foods* **2013**, *2* (3), 295–309. DOI: 10.3390/foods2030295

Dannenberger, D.; Nuernberg, K.; Nuernberg, G.; Scollan, N.; Steinhart, H.; Ender, K. Effect of pasture vs. concentrate diet on CLA isomer distribution in different tissue lipids of beef cattle. *Lipids* **2005**, *40* (6), 589–598. DOI:10.1007/s11745-005-1420-2

Daza, A.; Rey, A.I., López-Carrasco, C.; López-Bote, C.J. Influence of feeding system on growth performance, carcass characteristics and meat and fat quality of Avileña-Negra Ibérica calves' breed. *Spanish Journal of Agricultural Research* **2014**, *12* (2), 409-418. DOI: 10.5424/sjar/2014122-4096

De Henauw, S.; Camp, J.V.; Sturtewagen, G.; Matthys, C.; Bilau, M.; Warnants, N.; Raes, K.; Oeckel, M.V.; De Smet, S. Simulated changes in fatty acid intake in humans through n-3 fatty acid enrichment of foods from animal origin. *J. Sci. Food Agr.* **2007**, *87* (2), 200-211. DOI: 10.1002/jsfa.2689

De la Fuente, MA.; Luna, P.; Juárez, M. Chromatographic techniques to determine conjugated linoleic acid isomers. *Trends in Analytical Chemistry*, **2006**, *25* (9), 917-929. DOI:10.1016/j.trac.2006.04.012

De Smet, S.; Raes, K.; Demeyer, D. Meat fatty acid composition as affected by fatness and genetic factors: A review. *Animal Research*, **2004**, *53* (2), 81-98. DOI:10.1051/animres:2004003

Demeyer, D.; Doreau, M. Targets and procedures for altering ruminant meat and milk lipids. *P. Nutr. Soc*. **1999**, *58* (3), 593-607. DOI:10.1017/S0029665199000786

Destefanis, G.; Brugiapaglia, A.; Barge, M.T.; Dal Molin, E. Relationship between beef consumer tenderness perception and Warne-Bratler shear force. *Meat Sci.* **2008**, *78* (3), 153-156. DOI: 10.1016/j.meatsci.2007.05.031.

Dewanckele, L.; Vlaeminck, B.; Hernandez-Sanabria, E.; Ruiz-González, A.; Debruyne, S.; Jeyanathan, J.; Fievez, V. Rumen Biohydrogenation and Microbial Community Changes Upon Early Life Supplementation of 22:6*n-3* Enriched Microalgae to Goats. *Front Microbiol.* **2018**, *9*, 573. DOI:10.3389/fmicb.2018.00573

Dewhurst, R.J.; Moorby, J.M.; Vlaeminck, B.; Van Nespen, T.; Fievez, V. Apparent recovery of duodenal odd- and branched-chain fatty acids in milk. *J Dairy Sci*. **2007**, *90* (4), 1775– 1780. DOI: 10.3168/jds.2006-715

Dewhurst, R.J.; Moloney, A.P. Modification of animal diets for the enrichment of dairy and meat products with omega-3 fatty acids. In *Food enrichment with omega-3 fatty acids,* Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, (ed. Charlotte Jacobsen, Nina Skall Nielsen, Anna Frisenfeldt Horn, Ann-Dorit Moltke Sørensen), 2013; pp 257–287.

Dewhurst, R.J.; Scollan N.D.; Lee M.R.F.; Ougham H.J., Humphreys M.O. Forage breeding and management to increase the beneficial fatty acid content of ruminant products. *P. Nutr. Soc.* **2003**, 62 (2), 329-336. DOI: 10.1079/pns2003241

Dewhurst, R.J.; Shingfield, K.J.; Lee, M.R.F.; Scollan, N.D. Increasing the concentrations of beneficial polyunsaturated fatty acids in milk produced by dairy cows in high-forage systems. *Anim. Feed Sci. Tech.* **2006**, *131* (3–4), 168–206. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2006.04.016

Diane, A.; Borthwick, F.; Mapiye, C.; Vahmani, P.; David, R.C.; Vine, D.F., ... Proctor, S.D. Beef fat enriched with polyunsaturated fatty acid biohydrogenation products improves insulin sensitivity without altering dyslipidemia in insulin resistant JCR:LA-cp rats. *Lipids*, **2016**, *51* (7), 821–831. DOI:10.1007/s11745-016-4148-7

Dilzer, A.; Park, Y. Implication of Conjugated Linoleic Acid (CLA) in Human Health. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2012**, *52* (6), 488-513. DOI:10.1080/10408398.2010.501409

Dios, A. Influencia del sistema de manejo en el ritmo de crecimiento, calidad de la canal y calidad de la carne del tipo de ternero cruzado Rubio Gallego x Holstein. Memoria de Licenciatura, Univ. de Santiago de Compostela, España, 1997.

Dios, A. Parámetros de calidad del ternero de raza Rubia gallega pura y cruzada con Holstein. Tesis Doctoral, Univ. de Santiago de Compostela, España, 2000.

Dobson, G. Gas chromatography-mass spectrometry of conjugated linoleic acids and metabolites. In *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research,* Champaign, IL,

USA: AOCS Press., J-L. Sébédio, W.W. Christie, & R. Adlof (Eds.), 2003, Vol. 2, pp 13−36.

DOG, Orden de 23 de junio de 2017 por la que se aprueba el Reglamento de las indicaciones geográficas protegidas Ternera Gallega y Vaca e Boi de Galicia/ Vaca y Buey de Galicia y de su consejo regulador común y se nombra el consejo regulador provisional. *DOG*, **2017**, 124, 32043-32095.

Doreau, M.; Arturo-Schaan, M.; Laverroux, S. Garlic oil reduces ruminal fatty acid biohydrogenation in vitro. *Eur. J. Lipid Sci.Tech.* **2017**, *119* (4), DOI: 10.1002/ejlt.201500388

Doreau, M.; Bauchart, D.; Chilliard, Y. Enhancing fatty acid composition of milk and meat through animal feeding. *Anim. Prod. Sci.* **2010**, *51*, 19–29. DOI:10.1071/AN10043

Doreau, M.; Chilliard, Y. Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. *Brit. J. Nutr.* **1997**, *78*, S15-S35. DOI:10.1079/BJN19970132

Doreau, M.; Poncet, C., Ruminal biohydrogenation of fatty acids originating from fresh or preserved grass. *Reprod. Nutr. Dev.* **2000***,* 40, 201-211.

DOUE Reglamento (CE) nº 2400/96 de la Comisión de 17 de diciembre de 1996 relativo a la inscripción de determinadas denominaciones en el Registro de Denominaciones de Origen Protegidas y de Indicaciones Geográficas Protegidas establecido en el Reglamento (CEE) nº 2081/92 del Consejo relativo a la protección de las indicaciones geográficas y de las denominaciones de origen de los productos agrícolas y alimenticios*. DOUE,* **1996,** L327, 11-12.

DOUE Reglamento nº 1760/2000 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 17 de julio de 2000, que establece un sistema de identificación y registro de los animales de la especie bovina y relativo al etiquetado de la carne de vacuno y de los productos a base de carne de vacuno y por el que se deroga el Reglamento (CE) nº 820/97 del Consejo. *DOUE*, **2000**, L204, 1–10.

DOUE Reglamento (CE) nº 103/2006 de la Comisión, de 20 de enero de 2006, por el que se establecen disposiciones complementarias para la aplicación del modelo comunitario de clasificación de las canales de bovinos pesados. *DOUE*, **2006**, L17, 6.

DOUE Reglamento (CE) nº 1249/2008 de la Comisión, de 10 de diciembre de 2008, por el que se establecen 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. *DOUE*, **2008**, L337, 3-30.

DOUE Directiva 2010/63/UE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 22 de septiembre de 2010, relativa a la protección de los animales utilizados para fines científicos. *DOUE*, **2010**, L276, 33-79.

DOUE Reglamento Delegado (UE) 2017/1182 de la Comisión, de 20 de abril de 2017, por el que se completa el Reglamento (UE) n.° 1308/2013 del Parlamento Europeo y del Consejo en lo que atañe a los modelos de la Unión de clasificación de las canales de vacuno, porcino y ovino y a la comunicación de los precios de mercado de determinadas categorías de canales y animales vivos. *DOUE*, **2017**, L171, 74–99.

Dransfield, E.; Nute, G.; Roberts, T.; Boccard, R.; Touraille, C.; Buchter, L.; Casteels, M.; Cosentino, E.; Hood, D.; Joseph, R. Beef quality assessed at European research centres. *Meat Sci.* **1984**, *10*, 1–20. DOI:10.1016/0309-1740(84)90028-7

Drey, L.N.; O'Quinn, T.G. Tenderness, juiciness, and flavor contribute to the overall consumer beef eating experience, *Kans. AE S Res. Reports* **2017**, *3* (1) DOI: 10.4148/2378-5977.1361

Duckett, S.K.; Gillis, M.H. Effects of oil source and fish oil addition on ruminal biohydrogenation of fatty acids and conjugated linoleic acid formation in beef steers fed finishing diets. *J Anim Sci*. **2010**, *88* (8), 2684–2691. DOI: 10.2527/jas.2009-2375

Duckett, S.K.; Neel, J.P.S.; Lewis, R.M.; Fontenot, J.P.; Clapham, W.N. Effects of forage species or concentrate finishing on animal performance, carcass and meat quality. *J Anim. Sci.* **2013**, *91* (3), 1454–1467. DOI:10.2527/ jas.2012-5914

Duckett, S.K.; Wagner, D.G.; Yates, L.D.; Dolezal, H.G.; May, S.G. Effects of time on feed on beef nutrient composition. *J. Anim. Sci*. **1993**, *71* (8), 2079-2088. DOI: 10.2527/1993.7182079x

Dufrasne, I.; Hornick, J. L.; Gauthier, S.; Korsak, N.; Istassa, L. Effects de la vitesse de croissance au pâturagechez des taurillons finis en stabulation: I. Perfomances zoothecniques. *Annales de Zootechnie,* INRA/EDP Sciences, **1995**, *44*, pp 365-365. ffhal-00889519f

Dugan, M.E.R.; Aldai, N.; Aalhus, J.L.; Rolland, D.C.; Kramer, J.K.G. Review: Trans-forming beef to provide healthier fatty acid profiles. *Can. J. Anim. Sci.* **2011** *91* (4), 545–556. DOI: 10.4141/cjas2011-044

Dugan, M.E.R.; Mapiye, C.; Vahmani, P. Polyunsaturated fatty acids biosynthesis and metabolism in agriculturally important species. In *Polyunsaturated Fatty Acid Metabolism*, Ed. GC Burdge, 2018, pp 61-86. DOI:10.1016/B978-0-12-811230-4.00004-1

Dugan, M.E.R.; Wood, J.D. Letter to the editor. *Meat Sci.* **2018**, *143*, 268. DOI:10.1016/j.meatsci.2018.04.015

Dunne, P.G. Colour of bovine adipose and muscle tissue: impact of animal type and management factors. PhD dissertation, National University of Ireland, University College Dublin, 2003.

Dunne, P.G.; Rogalski, J.; Childs, S.; Monahan, F.J.; Kenny, D.A.; Moloney, A.P. Long chain *n-3* polyunsaturated fatty acid concentration and color and lipid stability of muscle from heifers offered a ruminally protected fish oil supplement. *J. Agric. Food Chem.* **2011**, *59* (9), 5015–5025. DOI:10.1021/jf200232e

EFSA European Food Safety Authority. Panel on Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, *trans* fatty acids, and cholesterol. *EFSA Journal* **2010**, *8* (3): 1461, 1-107. DOI:10.2903/j.efsa.2010.1461

EFSA European Food Safety Authority. Labelling reference intake values for n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids. Scientific Opinion of the Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on a request from the Commission related to

labelling reference intake values for *n-3* and *n-6* polyunsaturated fatty acids. *EFSA Journal*, **2009**, *1176*, 1-11. DOI: 10.2903/j.efsa.2009.1176

Eilers, J.D.; Tatum, J.D.; Morgan, J.B.; Smith, G.C. Modification of early postmortem muscle pH and use of postmortem ageing to improve beef tenderness. *J. Anim. Sci.* **1996***, 74* (4) 790-798. DOI: 10.2527/1996.744790x

Ekmekcioglu, C.; Wallner, P.; Kundi, M.; Weisz, U.; Haas, W.; Hutter, H.P. (2018). Red meat, diseases, and healthy alternatives: A critical review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr*. **2018**, *58* (2), 247–261. DOI: 10.1080/10408398.2016.1158148

FAO Fats and fatty acids in human nutrition. Proceedings of the Joint FAO/WHO Expert Consultation. November 10-14, 2008. Geneva, Switzerland. *Ann. Nutr. Metab.* **2009**, *55* (1-3), 5–300. DOI:10.1159/000228993

Faucitano, L.; Chouinard, P.Y.; Fortin, J.; Mandell, I.B.; Lafreniere, C.; Girard, C.L.; *et al.* Comparison of alternative beef production systems based on forage finishing or grain-forage diets with or without growth promotants: 2. Meat quality, fatty acid composition, and overall palatability. *J. Anim. Sci.* **2008**, *86* (7), 1678–1689. DOI: 10.2527/jas.2007-0756

Faulconnier, Y.; Bernard, L.; Boby, C.; Domagalski, J.; Chilliard, Y.; Leroux, C. Extruded linseed alone or in combination with fish oil modifies mammary gene expression profiles in lactating goats. *Animal* **2018**, *12* (8), 1564–1575. DOI:10.1017/S1751731117002816

FDA. Food and Drug Administration, Health and Human Services. Food labeling; *trans* fatty acids in nutrition labeling, nutrient content claims, and health claims. (2003). *Fed. Regist.* **2003***, 68* (133), 41434-41506. PMID: 12856667

FDA. Food and Drug Administration Announces new qualified health claims for EPA and DHA omega-3 consumption and the risk of hypertension and coronary heart disease, 2019. https://www.fda.gov/food/cfsan-constituent-updates/fda-announces-new-qualified-health-claims-epa-and-dha-omega-3-consumption-and-risk-hypertension-and#:~:text=The%20U.S.%20Food%20and%20Drug,of%20hypertension%20and%20coronary%20heart

FEDNA *Tablas de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos*. De Blas *et al.* (Eds.) Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, Madrid, España, (2010, 502 pp.

Ferlay, A.; Bernard, L.; Meynadier, A.; Malpuech-Brugère, C. Production of *trans* and conjugated fatty acids in dairy ruminants and their putative effects on human health: A review. *Biochimie* **2017**, *141*, 107-120. DOI: 10.1016/j.biochi.2017.08.006

Fernando, S.C.; H.T. Purvis; F.Z. Najar; L.O. Sukharnikov; C.R. Krehbiel; T.G. Nagaraja; B.A. Roe; U. DeSilva. Rumen microbial population dynamics during adaptation to a high grain diet. *Appl. Environ. Microbiol*. **2010**, *76* (22), 7482–7490. DOI:10.1128/AEM.00388-10

Ferrinho, A.M.; Peripolli, E.; Banchero, G.; Pereira, ASC.; Brito, G.; La Manna, A.; Fernandez, E.; Montossi, F.; Kluska, S.; Mueller, LF.; Berchielli, TT.; Baldi, F. Effect of growth path on carcass and meat-quality traits of Hereford steers

finished on pasture or in feedlot. *Anim. Prod. Sci.* **2019**, *60* (2), 323-332. DOI:10.1071/AN18075

Fiems, L. Double Muscling in Cattle: Genes, Husbandry, Carcasses and Meat. *Animals*, **2012**, *2* (3), 472-506. DOI:10.3390/ani2030472

Fievez, V.; Colman, E.; Castro-Montoya, J.M.; Stefanov, I.; Vlaeminck, B. Milk odd- and branched-chain fatty acids as biomarkers of rumen function-An update. *Animal Feed Sci. Technol.* **2012***, 172* (1-2), 51-65. DOI:10.1016/j.anifeedsci.2011.12.008

Fishell, V.K.; Aberle, E.D.; Judge, M.D.; Perry, T.W. Palatability and muscle properties of beef as influenced by preslaughter growth rate. *J. Anim. Sci.* **1985**, *61*, 151–157. DOI:10.2527/jas1985.611151x

Flamant, J.C.; Boccard, R. (1966). Estimation de la qualité de la carcasse des agnux de boucherie. *Ann. Zootech.* **1966** *15* (1), 89-113. DOI:10.1051/animres:19660106

Folch, J.; Lees, M.; Sloane-Stanley, G.H.S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem*. **1957**, , *226*, 497−509. DOI:10.1016/S0021-9258(18)64849-5

Food Advisory Committee *Report on Review of Food Labelling and Advertising*. Stationery Office Books, 1990.

Franco, D.; Bispo, E.; González, L.; Vázquez, J.A.; Moreno, T. Effect of finishing and ageing time on quality attributes of loin from the meat of Holstein–Fresian cull cows. *Meat Sci.* **2009**, *83* (3), 484–491. DOI: 10.1016/j.meatsci.2009.06.030

Fredriksson, E.S.; Pickova, J. Fatty acids and tocopherol levels in M. Longissimus dorsi of beef cattle in Sweden – A comparison between seasonal diets. *Meat Sci.* **2007**, *76* (4), 746-754. DOI:10.1016/j.meatsci.2007.02.021

Freitas, A.K.; Lobato, J.F.P.; Cardoso, L.L.; Tarouco, J.U.; Vieira, R.M.; Dillenburg, D.R.; *et al.*. Nutritional composition of the meat of Hereford and Braford steers finished on pastures or in a feedlot in southern Brazil. *Meat Sci*. **2014**, *96*, 353–360. DOI: 10.1016/j.meatsci.2013.07.021

French, E.A.; Bertics, S.J.; Armentano, L.E. Rumen and milk odd-and branched-chain fatty acid proportions are minimally influenced by ruminal volatile fatty acid infusions. *J Dairy Sci*. **2012**, *95* (4), 2015-2026. DOI: 10.3168/jds.2011-4827

French, P.; OÕRiordan, E.G., Monahan, F.J.; Caffrey, P.J.; Vidal, M.; Mooney, M.T.; Troy, D.J.; Moloney, A.P. Meat quality of steers finished on autumn grass, grass silage or concentrate based diets. *Meat Sci.* **2000a**, *56* (2), 173–180. DOI: 10.1016/s0309-1740(00)00037-1

French, P.; Stanton, C.; Lawless, F.; OÕRiordan, E.G., Monahan, F.J.; Caffrey, P.J. Moloney, A.P. Fatty acid composition, including conjugated linoleic acid, of intramuscular fat from steers offered grazed grass, grass silage, or concentrate based diets. *J. Anim. Sci.* **2000b**, *78* (11), 2849–2855. DOI: 10.2527/2000.78112849x

Fritsche, J.; Fritsche, S.; Solomon, M.B.; Mossoba, M.M.; Yurawecz, M.P; Morehouse, K.; Ku, Y. Quantitative determination of conjugated linoleic acid isomers in beef fat. *Eur. J. Lipid Sci. Tech.* **2000**, *102* (11)*,* 667-672. DOI:10.1002/1438-9312(200011)102:11%3C667::AID-EJLT667%3E3.0.CO;2-N

Fruet, A.P.B.; Trombetta, F.; Stefanello, F.S.; Speroni, C.S.; Donadel, J.Z.; De Souza, A.N.M.; Júnior, A.R.; Tonetto, C.J.; Wagner, R.; De Mello, A.; Nörnberg, J.L. Effects of feeding legume-grass pasture and different concentrate levels on fatty acid profile, volatile compounds, and off-flavor of the M. *longissimus thoracis*. *Meat Sci.* **2018**, *140,* 112-118. DOI:10.1016/j.meatsci.2018.03.008

Fuke, G.; Nornberg, J. L. Systematic evaluation on the effectiveness of conjugated linoleic acid in human health. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.,* **2017**, *57*, 1–7. DOI:10.1080/10408398.2012.716800

Gagliostro, G.A.; Chilliard, Y. Utilización de lípidos protegidos en la nutrición de vacas lecheras. I. Efectos sobre la producción y la composición de la leche, y sobre la ingestión de materia seca y energía. *Rev. Arg. Prod. Anim*. **1992**, *12*, 1–15.

García-Torres, S.; Espejo, M.; López-Parra, MM.; Izquierdo, M.; Mendizábal, J.A.; Purroy, A. Conformación, engrasamiento y sistemas de clasificación de la canal bovina. En *Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes*; Monografías INIA: Serie Ganadera, Edit. V. Cañeque, y C. Sañudo, 2005; pp 103-119.

García, A. Determinación de la calidad de la carne vacuna. *Mundo Ganadero* **2001**, *137*, 26-31.

Gebauer, S.; Chardigny, J.M.; Jakobsen, M.; Lamarche, B.; Lock, A.; Proctor, S.; Baer, D. Effects of ruminant *trans* fatty acids on cardiovascular disease and cancer: a comprehensive review of epidemiological, clinical, and mechanistic studies. *American Society for Nutrition. Adv. Nutr.* **2011**, *2* (4), 332-354. DOI:10.3945/an.111.000521

Gebauer, S.K.; Destaillats, F.; Dionisi, F.; Krauss, R.M.; Baer, D.J. Vaccenic acid and *trans* fatty acid isomers from partially hydrogenated oil both adversely affect LDL cholesterol: a double-blind, randomized controlled trial. *Am. J. Clin. Nutr.* **2015***, 102* (6), 1339-1346. DOI:10.3945/ajcn.115.116129

Gibb, D.J.; Owens, F.N.; Mir, P.S.; Mir, Z.; Ivan, M.; McAllister, T.A. Value of sunflower seed in finishing diets of feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* **2004**, *82* (9), 2679-2692. DOI:10.2527/2004.8292679x

Givens, D.I. The role of animal nutrition in improving the nutritive value of animal-derived foods in relation to chronic disease. *Proc. Nutr. Soc.* **2005**, *64* (3), 395-402. DOI: 10.1079/pns2005448

Givens, D.I.; Gibbs, R.A. Very long chain *n-3* polyunsaturated fatty acids in the food chain in the UK and the potential of animal-derived foods to increase intake. *British Nutrition and Foundation Bulletin*, **2006a**, *31* (2), 104-110. DOI:10.1111/j.1467-3010.2006.00554.x

Givens, D.I.; Kliem, K.E.; Gibbs, R.A. The role of meat as a source of *n-3* polyunsaturated fatty acids in the human diet. *Meat Sci. 2006b*, 74, 209-218. DOI: 10.1016/j.meatsci.2006.04.008

Glasser, F.; Doreau, M.; Maxin, G.; Baumont, R. Fat and fatty acid content and composition of forages: a meta-analysis. *Anim. Feed Sci. Tech.* **2013**, *185* (1-2), 19-34. DOI:10.1016/j.anifeedsci.2013.06.010

GOED The global organization for EPA & DHA omega-3s. Omega-3 Basics, 2020. www. goedomega3.com.

Goering, H.K.; Van Soest, P.J. *Forage fibre analysis* (Apparatus Reagents, Procedures and Some Applications). Agriculture Handbook, 1970, 379, 20 pp.

Gómez-Cortés, P.; Tyburczy, C.; Brenna, J.T.; Juárez, M.; de la Fuente, M.A. Characterization of *cis*-9 *trans*-11 *trans*-15 C18:3 in milk fat by GC and covalent adduct chemical ionization tandem MS. *J. Lipid Res.* **2009**, *50* (12), 2412–2420. DOI: 10.1194/jlr.M800662-JLR200

Gómez-Cortés, P.; de la Fuente, M.A. El ácido linoleico conjugado como agente anticancerígeno. *Aliment Nutr Salud*, **2010**, *17* (3), 68-78.

Gómez-Cortés, P.; De la Fuente, M.A.; Juárez, M. Ácidos grasos *trans* y ácido linoleico conjugado en alimentos: origen y propiedades biológicas. *Nutr Hosp*. **2019**, *36* (2), 479-486. DOI:10.20960/nh.2466

Gómez-Cortés, P.; De la Fuente, M.A. Origen metabólico y propiedades bioactivas de ácidos grasos ramificados e impares en leche de rumiantes. Revisión. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* **2020***, 11* (4), 1174-1191. DOI:10.22319/rmcp.v11i4.5171

Gómez-Cortés, P.; Juárez, M.; de la Fuente, M.A. Milk fatty acids and potential health benefits: An updated vision. *Trends Food Sci. Tech.* **2018**, *81*, 1–9. DOI:10.1016/j.tifs.2018.08.014

González, L; Moreno, T.; Bispo, E.; Dugan, M.E.R.; Franco, D. Effect of supplementing different oils: Linseed, sunflower and soybean, on animal performance, carcass characteristics, meat quality and fatty acid profile of veal from "Rubia Gallega" calves. *Meat Sci.* **2014**, *96* (2 Pt A), 829-836. DOI:10.1016/j.meatsci.2013.09.027

González, L.; Bispo, E.; Carracedo, S.; Resch, C.; Roca, A.; Moreno, T. Effect of double-muscling genotype on animal, carcass and meat quality characteristics from calves of Galician Blond breed. In *Proceedings of the 57th International Congress of Meat Science and Technology*, Curran Associates Inc.; 2011, pp. 259-262.

Grau, R.; Hamm, R. (1953). *Muscle as Food*. Edit. Bechtel, P.J. Food Science and Technology. A series of Monograph, Academic Press, 1985.

Griffin, B. A. How relevant is the ratio of dietary n-6 to n-3 polyunsaturated fatty acids to cardiovascular disease risk? Evidence from the OPTILIP study. *Curr. Opin. Lipidol.* **2008***, 19*, 57–62. DOI: 10.1097/MOL.0b013e3282f2e2a8

Griffin, D.B.; Savell, J.W.; Recio, H.A.; Garret, R.P. y Cross, H.R. Predicting carcass composition of beef cattle using ultrasound technology. *J. Anim. Sci.* **1999***, 77* (4), 889-892. DOI: 10.2527/1999.774889x

Griinari, J.M.; Bauman, D.E. Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. In *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*. Yurawecz, M.P., Mossoba, M.M., Kramer, J.K.G., Pariza, M.W., Nelson, G.J. (eds). AOCS Press, 1999, 1, 180–200.

Griinari, J.M.; Corl, B.A.; Lacy, S.H.; Chouinard, P.Y.; Nurmela, K.V.; Bauman, D.E. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by Delta(9)-desaturase. *J Nutr.* **2000**, *130* (9), 2285-2291. DOI: 10.1093/jn/130.9.2285

Grilli, D.J.; K. Fliegerovà; J. Kopecný; S. Paez Lama; V. Egea; N. Sohafefer; C. Pereyra; M.S. Ruiz; M.A. Sosa; G.N. Arenas; J. Mràzek. Analysis of the rumen bacterial diversity of goats during shifts from forage to concentrate diet. *Anaerobe* **2016**, *42*, 17–26. DOI:10.1016/j.anaerobe.2016.07.002

Grosso, G.; Micek, A.; Marventano, S.; Castellano, S.; Mistretta, A.; Pajak, A.; Galvano, F. Dietary *n-3* PUFA, fish consumption and depression: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *J. Affect. Disord*. **2016**, *205*, 269-281. DOI: 10.1016/j.jad.2016.08.011

Gruffat, D.; C. Rémond; D. Durand; O. Loreau; D. Bauchart. 9*cis*,11*trans* conjugated linoleic acid (CLA) is synthesised and de- saturated into 18:3 in bovine adipose tissues. *Animal* **2008**, 2 (4), 645–652. DOI: 10.1017/S175173110700153X

Guerrero, L. 2000. Determinación sensorial de la calidad de la carne. En: *Estandarización de las metodología para la evaluación de la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes*. Edt. V. Cañeque y C. Sañudo. INIA, 2000, pp 205- 220.

Guyader, J.; Janzen, H.H.; Kroebel, R.; Beauchemin, K.A. Forage use to improve environmental sustainability of ruminant production. *J. Anim. Sci.* **2016**, *94* (8), 3147–3158. DOI:10.2527/jas.2015-0141

Ha, Y.L.; Grimm, N.K.; Pariza, M.W. Anticarcinogens from fried ground beef: heat-altered derivatives of linoleic acid. *Carcinogenesi*s **1987**, *8* (12), 1881-1887. DOI: 10.1093/carcin/8.12.1881

Habeanu, M.; Thomas, A.; Bispo, E.; Gobert, M.; Gruffat, D.; Durand, D.; Bauchart, D. Extruded linseed and rapeseed both influenced fatty acid composition of total lipids and their polar and neutral fractions in *longissimus thoracis* and semitendinosus muscles of finishing Normand cows. *Meat Sci.* **2014**, *96*, 99-107. DOI:10.1016/j.meatsci.2013.06.009

Hamm, R. Functional properties of the myofibrilar system and their measurements. En *Muscle as food*. Edit. Betchel, P.J. Academic Press, New York, 1986, 135-199.

Hammond, J. Physiological factors affecting birth weight. *Proc. Nutr. Soc*. **1944**, *2*, 8-14.

Harfoot, C.G.; Hazlewood, G.P. Lipid metabolism in the rumen. In: *The Rumen Microbial Ecosystem*, Hobson, P.N.; Stewart, C.S. (Eds.). Chapman & Hall, 1997, pp 382-426.

Harper, G.S.; Pethick, D.W. How might marbling begin? *Australian Journal of Experimental Agriculture*, **2004**, *44* (7), 653-662. DOI:10.1071/EA02114

Hatfield, R.; Muck, R., (1999). Characterising proteolytic inhibition in red clover silage. In *Proceedings of the 12th International Silage Conference*. Uppsala, Suecia, 1999, pp 147-148.

He, M.L.; Mir, P.S.; Sharma, R.; Schwartzkopf-Genswein, K.A.; Entz, T.; Travis, G.; *et al.* Effect of supplementation of beef steer diets with oil containing *n-6* and *n-3* fatty acids and 48 h feed withdrawal treatments on animal productivity, carcass characteristics and fatty acid composition. *Livest. Sci.* **2011***, 142* (1–3), 253-263. DOI:10.1016/j.livsci.2011.08.002

Hedrick, H.B.; Aberle, E.D.; Forrest, J.C.; Judge, M.D.; Merkel, R.A. (1989). Properties of fresh meat. En *Principles of meat science*. Kendall Hunt Publishing, 1989, pp 123–132.

Hennessy, A.A.; Ross, R.P.; Devery, R.; Stanton, C. The health promoting properties of the conjugated isomers of α-linolenic acid. *Lipids* **2011**, *46* (2), 105–119. DOI:10.1007/s11745-010-3501-5

Hocquette, J.F.; Gondret, F.; Baeza, E.; Medale, F.; Jurie, C.; Pethick, D.W. Intramuscular fat content in meat-producing animals: development, genetic and nutritional control, and identification of putative markers. *Animal* **2010**, *4* (2), 303-319. DOI:10.1017/S1751731109991091

Holmes, W. Grazing management. In *Grass: Its production and Utilization*. Edit. Blackwell Scientific Publications, 1989, 130-172.

Holub, B.J.; Swidinsky, P.; Park, E. Oral docosapentaenoic acid (22:5*n-3*) is differentially incorporated into phospholipids pools and differentially metabolized to eicosapentaenoic acid in tissues from young rats. *Lipids* **2011**, *46* (5), 399-407. DOI:10.1007/s11745-011-3535-3

Honikel, K.O. Reference methods supported by OECD and their use in Mediterranean meat products. *Food Chemistry* **1997**, *59* (4), 573-582. DOI:10.1016/S0308-8146(97)00002-2

Honikel, K.O. Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. *Meat Sci.* **1998**, *49* (4), 447-457. DOI:10.1016/S0309-1740(98)00034-5

Hopkins, D.L.; Clayton, E.H.; Lamb, T.A.; van de Ven, R.J.; Refahauge, G.; Kerr, M.J.; Bailes, K.; Lewandowski, P.; Ponnampalam, E.N. The impact of supplementing lambs with algae on growth, meat traits and oxidative status. *Meat Sci.* **2014**, *98* (2), 135–141. DOI:10.1016/j.meatsci.2014.05.016

Horcada, A.; Polvillo, O.; Juárez, M.; Avilés, C.; Martínez, A.L.; Peña, F. Influence of feeding system (concentrate and total mixed ration) on fatty acid profiles of beef from three lean cattle breeds. *J. Food Compos. Anal.* **2016**, *49*, 110–116. DOI:10.1016/j.jfca.2016.04.008

Hornick, J.L.; Clinquart, A.; Gauthier, S.; Van Eenaeme, C.; Istasse, I. Effets de la vitesse de crossance au pâturage chez des taurillons finis en stabulation: II. Qualité de la viande et composition de la graisse. Ann. *Zootech.* **1995**, *44* (Suppl. 1), 366. DOI: 10.1051/animres:199505326Hornsey, H. C. The colour of cooked cured pork. I. Estimation of the nitric oxide-haem pigments. *Journal Science of Food Agriculture*, **1956**, *7* (8), 534–540. DOI:10.1002/jsfa.2740070804

Hornstein, I.; Crowe, P.F.; Sulzbacher, W.L. Constituents of meat flavor: beef. *J. Agric. Food Chem*. **1960**, 8, 65-67. DOI:10.1021/jf60107a017

Howe, P.; Buckley, J.; Meyer, B. Long-chain omega-3 fatty acids in red meat. *Nutr. Diet*. **2007**, *64* (S4), S135–S139. DOI:10.1111/j.1747-0080.2007.00201.x

Howe, P.; Meyer, B.; Record, S.; Baghurst, K. Dietary intake of long-chain *n-3* polyunsaturated fatty acids: contribution of meat sources. *Nutrition,* **2006**, *22*, 47–53. DOI:10.1016/j.nut.2005.05.009

Hristov, A.N; Kennington, L.R.; McGuire, M.A.; Hunt, C.W. Effect of diets containing linoleic acid- or oleic acid-rich oils on ruminal fermentation and nutrient

digestibility, and performance and fatty acid composition of adipose and muscle tissues of finishing cattle. *J. Anim. Sci.* **2005**, *83*, 1312-1321. DOI:10.2527/2005.8361312x

Hu, F.B., Manson, J.E., & Willett, W.C. Types of dietary fat and risk of coronary heart disease: a critical review. *J. Am. Coll. Nutr.* **2001**, *20*, 5-19. DOI: 10.1080/07315724.2001.10719008

Hui, Y.H.; Guerrero, I.; Rosmini, M. *Ciencia y Tecnologia de Carnes*. Ed. Limusa, S.A. de C.V. Grupo Noriega Editores, México; 2006.

Huffman, K.L.; Miller, M.F.; Hoover, L.C.; Wu, C.K.; Brittin, H.C.; Ramsey, C.B. Effect of beef tenderness on consumer satisfaction with steaks consumed in the home and restaurant. *J. Anim. Sci.* **1996**, *74* (1), 91-97. DOI: 10.2527/1996.74191x

Humada, M.; Serrano, E.; Sañudo, C.; Rolland, D.; Dugan, M.E.R. Production system and slaughter age effects on intramuscular fatty acids from young Tudanca bulls. *Meat Sci.* **2012**, *90* (3), 678–685. DOI:10.1016/j.meatsci.2011.10.013

Husted, KS.; Bouzinova, EV. The importance of *n-6*/*n-3* fatty acids ratio in the major depressive disorder. *Medicina*, **2016** *52* (3), 139-147. DOI:10.1016/j.medici.2016.05.003 Hwang, Y.H.; Joo, S.T. Fatty acid profiles, meat quality, and sensory palatability of grain-fed and grass-fed beef from Hanwoo, American, and Australian crossbred cattle. *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.* **2017**, *37* (2), 153-161. DOI: 10.5851/kosfa.2017.37.2.153

Indurain, G.; Beriain, M.J.; Goñi, M.V.; Arana, A.; Purroy, A. Composition and estimation of intramuscular and subcutaneous fatty acid composition in Spanish young bulls. *Meat Sci*. **2006**, *73* (2), 326–334. DOI: 10.1016/j.meatsci.2005.12.007

Insausti, K., Beriaín, M.J., Purroy, A., Albertí, P., Lizaso, L., Hernández, B. Colour stability of beef from different Spanish native cattle breeds stored under vacuum and modified atmosphere. *Meat Sci.* **1999**, 53 (4), 241-249. DOI: 10.1016/s0309-1740(99)00063-7

ISO 13906:2008. Animal feeding stuffs. Determination of acid detergent fibre (ADF) and acid detergent lignin (ADL) contents.

ISO 5983:2005/COR1:2008. Animal feeding stuffs. Determination of nitrogen content and calculation of crude protein content. Kjeldahl method.

ISO 5984:2002/COR1:2005. Animal feeding stuffs. Determination of crude ash.

ISO 6492:1999. Animal feeding stuffs. Determination of fat content.

ISO 6865:2000. Animal feeding stuffs. Determination of crude fibre content — Method with intermediate filtration.

ISO 6869:2000. Animal feeding stuffs. Determination of the contents of calcium, copper, iron, magnesium, manganese, potassium, sodium and zinc — Method using atomic absorption spectrometry.

ISO 8586-1:1993. Sensory analysis methodology. General guidance for the selection and training and monitoring of assessors. Part 1. Selected assessors. International Standards Organisation publications. Revised by 8586:2012

ISO 8589:1988. Sensory analysis. General guidance for the design of test rooms. International Standards Organisation Publications. Revised by ISO 8589:2007

Itoh, M.; Johnson, C.B.; Cosgrove, G.P.; Muir, P.D.; Purchas, R.W. Intramuscular fatty acid composition of neutral and polar lipids for heavy-weight Angus and Simmental steers finished on pasture or grain. *J. Sci. Food Agr.* **1999**, *79* (6), 821-827. DOI:10.1002/(SICI)1097-0010(19990501)79:6<821::AID-JSFA291>3.0.CO;2-N

Jacob, H.R.; D´Antuono, F.M.; Gilmour, R.A.; Warner, D.R. Phenotypic characterisation of colour stability of lamb meat. *Meat Sci.* **2014**, *96* (2 Pt B), 1040-1048. DOI: 10.1016/j.meatsci.2012.11.031

Jacobs, A.A.A.; Van Baal, J.; Smits, M.A.; Taweel, H.Z.H.; Hendriks, W.H.; Van Vuuren, A.M.; Dijkstra, J. Effects of feeding rapeseed oil, soybean oil, or linseed oil on stearoyl-CoA desaturase expression in the mammary gland of dairy cows. *J. Dairy Sci.* **2011**, *94* (2), 874-887. DOI:10.3168/jds.2010-3511

Jahreis, G.; Kraft, J.; Tischendorf, F.; Schöne, F.; von Loefflholz, C. Conjugated linoleic acids: physiological effects in animal and man with special regard to body composition. Review article. *Eur. J. Lipid Sci. Tech.* **2000**, *102* (11), 695-703. DOI:10.1002/1438-9312(200011)102:11<695::AID-EJLT695>3.0.CO;2-J

Jakobsen, M.U.; Bysted, A.; Andersen, N.L.; Heitmann, B.L.; Hart- kopp, H.B.; Leth, T.; *et al.* Intake of ruminant *trans* fatty acids in the Danish population aged 1-80 years. *Eur J Clin Nutr*. **2006**, *60* (3), 312-318. DOI: 10.1038/sj.ejcn.1602316

Janz, J.A.M.; Aalhus, J.L. The complexity of measuring beef tenderness using Warner–Bratzler shear meth- odology for whole muscle samples. In: *Food Science and Product Technology*. Nakano T, Ozimek L, editors, Research Signpost, 2002, pp 37–64.

Jenkins, T.; Bridges, W. Protection of fatty acids against ruminal biohydrogenation in cattle. *Eur. J. Lipid Sci.Tech.* **2007**, *109* (8), 778-789. DOI:10.1002/ejlt.200700022

Jenkins, T.C.; Wallace, R.J.; Moate, P.J.; Mosley, E.E. Board-invited review: Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. *J. Anim. Sci.* **2008**, *86* (2), 397-412. DOI:10.2527/jas.2007-0588

Jeremiah, L.E.; Dugan, M.E.R.; Aalhus, J.L.; Gibson, L.L. Assessment of the chemical and cooking properties of the major beef muscle and muscle groups. *Meat Sci.* **2003**, *65* (3), 985–992. DOI: 10.1016/S0309-1740(02)00308-X

Jiménez-Colmenero, F. Healthier lipid formulation approaches in meat-based functional foods. Technological options for replacement of meat fats by non-meats fats: review. *Trends Food Sci. Tech.***2007**, *18* (11), 567-578. DOI: 10.1016/j.tifs.2007.05.006

Jiménez-Colmenero, F.; Carballo, J.; Cofrades, S. Healthier meat and meat products: their role as functional foods. *Meat Sci*. **2001**, *59*, 5-13. DOI: 10.1016/s0309-1740(01)00053-5

Juárez, M.; Aldai, N.; López-Campos, Ó.; Dugan, M.E.R.; Uttaro, B.; Aalhus, J.L. Beef texture and juiciness. In *Handbook of meat and meat processing*. Ed. Y.H., Hui, CRC Press, 2012, pp 177-206.

Juárez, M.; Dugan, M.E.R.; Aalhus, J.; Aldai, N.; Basarab, J.; Baron, V.; McAllister, T.A. Effects of vitamin E and flaxseed on rumen-derived fatty acid intermediates in beef intramuscular fat. *Meat Sci.* **2011**, *88* (3), 434–440. DOI:10.1016/j.meatsci.2011.01.023

Juárez, M.; Dugan, M.E.R.; Aalhus, J.L.; Aldai, N.; Basarab, J.A.; Baron, V.S.; McAllister, T.A. Dietary vitamin E inhibits the *trans*10-18:1 shift in beef backfat. *Can. J. Anim. Sci.* **2010**, 90, 9–12. DOI: 10.4141/CJAS09088

Kamihiro, S.; Stergiadis, S.; Leifert, C.; Eyre, M.D.; Butler, G. Meat quality and health implications of organic and conventional beef production. *Meat Sci.* **2015**, *100*, 306-318. DOI:10.1016/j.meatsci.2014.10.015

Kaneda, T. Iso-and anteiso-fatty acids in bacteria: Biosynthesis, function, and taxonomic significance. *Microbiol. Rev.* **1991**, *55* (2), 288–302. PMID: 1886522

Keeton, J. T.; Dikeman, M.E. `Red´ and `white´ meats—terms that lead to confusion. *Animal Frontiers* **2017**, *7* (4), 29–33. DOI:10.2527/af.2017.0440

Kelley, NS.; Hubbard, NE.; Erickson, KL. Conjugated linoleic acid isomers and cancer. *J. Nutr.*, **2007**, *137* (12), 2599-2607. DOI: 10.1093/jn/137.12.2599

Kepler, C.; Hirons, K.; Mcneill, J.; Tove, S.V. Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by Butyrivibrio fibrisolvens. *J. Biol. Chem.* **1966**, *241* (6), 1350-1354. DOI:10.1016/S0021-9258(18)96781-5

Kerth, C.R.; Braden, K.W.; Cox, R.; Kerth, L.K.; Rankins, D.L. Jr. Carcass, sensory, fat color, and consumer acceptance characteristics of Angus- cross steers finished on ryegrass (*Lolium multiflorum*) forage or on a high-concentrate diet. *Meat Sci.* **2007**, *75* (2), 324–331. DOI:10.1016/j.meatsci. 2006.07.019

Khiaosa-Ard, R.; Bryner, S.F.; Scheeder, M.R.L.; Wettstein, H.R.; Leiber, F.; Kreuzer, M.; Soliva, C.R. Evidence for the inhibition of the terminal step of ruminal alpha- linolenic acid biohydrogenation by condensed tannins. *J. Dairy Sci.* **2009**, *92*, 177–188. DOI: 10.3168/jds.2008-1117

Klieve, A.V.; Hennessy, D.; Ouwerkerk, D.; Forster, R.J.; Mackie, R.I.; Attwood, G.T. Establishing populations of *Megasphaera elsdenii* YE 34 and *Butyrivibrio fibrisolvens* YE 44 in the rumen of cattle fed high grain diets. *J. Appl. Microbiol.* **2003**, 95 (3), 621–630. DOI:10.1046/j.1365-2672.2003.02024.x

Koch, R.M.; Crouse, J.D.; Dikeman, M.E.; Cundiff, L.V.; Gregory, K.E. Effects of marbling on sensory panel tenderness in Bos taurus and Bos Indicus crosses. *J. Anim. Sci.* **1988**, 66, 305.

Kong, Y.; He, M.; McAlister, T.; Seviour, R.; Forster, R. Quantitative fluorescence *in situ* hybridization of microbial communities in the rumens of cattle fed different diets. *Applied and Environmental Microbiology* **2010**, *76* (20), 6933–6938. DOI: 10.1128/AEM.00217-10

Kouba, M.; Mourota, J. A review of nutritional effects on fat composition of animal products with special emphasis on *n-3* polyunsaturated fatty acids. *Biochimie,* **2011**, 93(1), 13-17. DOI: 10.1016/j.biochi.2010.02.027

Koutsidis, G.; Elmore, J.S.; Oruna-Concha, M.J.; Campo, M.M.; Wood, J.D.; Mottram, D.S. Water-soluble precursors of beef flavour: I. Effect of diet and breed. *Meat Sci.* **2008**, *79* (1), 124-130. DOI:10.1016/j.meatsci.2007.08.008

Kraft, J.; Kramer, J.K.G.; Schoene, F.; Chambers, J.R.; Jahreis, G. Extensive analysis of long- chain polyunsaturated fatty acids, CLA, *trans*-18:1 isomers, and plasmalogenic lipids in different retail beef types. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2008**, *56* (12), 4775-4782. DOI: 10.1021/jf8001813

Kramer, J.K.G.; Blackadar, C.B.; Zhou, J. Evaluation of two GC columns (60-m SUPELCOWAX 10 and 100-m CP Sil 88) for analysis of milkfat with emphasis on CLA, 18:1, 18:2 and 18:3 isomers, and short- and long-chain FA. *Lipids*, **2002**, *37* (8), 823–835. DOI: 10.1007/s11745-002-0967-2

Kramer, J.K.G.; Cruz-Hernandez, C.; Deng, Z.; Zhou, J.; Jahreis, G.; Dugan, M.E.R. Analysis of conjugated linoleic acid and *trans* 18:1 isomers in synthetic and animal products. *Am. J. Clin. Nutr.* **2004**, *79* (6), 1137S-1145S. DOI: 10.1093/ajcn/79.6.1137S

Kramer, J.K.G.; Fellner, V.; Dugan, M.E.R.; Sauer, F.D.; Mossoba, M.M.; Yurawecz, M.P. Evaluating acid and base catalyst in the methylation of milk and rumen fatty acids with special emphasis on conjugated dienes and total *trans* fatty acids. *Lipids*, **1997**, *32* (11), 1219-1228. DOI: 10.1007/s11745-997-0156-3

Kramer, J.K.G.; Hernandez, M.; Cruz-Hernandez, C.; Kraft, J.; Dugan, M.E.R. Combining results of two GC separations partly achieves determination of all *cis* and *trans* 16:1, 18:1, 18:2 and 18:3 except CLA isomers of milk fat as demonstrated using Ag-Ion SPE fractionation. *Lipids* **2008**, *43* (3), 259–273. DOI: 10.1007/s11745-007-3143-4

Kronberg, S.L.; Barcelo-Coblijn, G.; Shin, J.; Lee, K.; Murphy, E.J. Bovine muscle *n-3* fatty acid content is increased with flaxseed feeding. *Lipids*, **2006**, *41* (11), 1059–1068. DOI:10.1007/s11745-006-5056-z

Kronberg, S.L.; Scholljegerdes, E.J.; Lepper, A.N.; Berg, E.P. The effect of flaxseed supplementation on growth, carcass characteristics, fatty acid profile, retail shelf life, and sensory characteristics of beef from steers finished on grasslands of the northern Great Plains. *J. Anim. Sci.* **2011**, *89* (9), 2892–2903. DOI: 10.2527/jas.2011-4058

Kuhnt K, Degen C, Jahreis G. Evaluation of the impact of ruminant *trans* fatty acids on human health: important aspects to consider. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2016**, *56* (12), 1964-1980. DOI: 10.1080/10408398.2013.808605

Kwon, H.N.; Choi, C.B. Comparison of lipid content and monounsaturated fatty acid composition of beef by country of origin and marbling score. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition* **2015**, *44* (12), 1806–1812. DOI:10.3746/jkfn.2015.44.12.1806

LaBrune, H.; Reinhardt, C.; Dikeman, M.; Drouillard, J. Effects of grain processing and dietary lipid source on performance, carcass characteristics, plasma fatty acids, and sensory properties of steaks from finishing cattle. *J Anim Sci*. **2008**, *86*, 167–72. DOI:10.2527/jas.2007-0011

Ladeira, M.M.; Santarosa, L.C.; Chizzotti, M.L.; Ramos, E.M.; Neto, O.R.M.; Oliveira, D.M.; Carvalho, J.R.R.; Lopes, S.L.; Ribeiro, J.S. Fatty acid profile, color and lipid oxidation of meat from young bulls fed ground soybean or rumen protected fat with or without monensin. *Meat Sci.* **2014**, *96*, 597-605. DOI:10.1016/j.meatsci.2013.04.062

Lardy, G.; Anderson, V.; Maddock, T. (2016). Using Flax in Beef and Dairy Cattle Diets. [Online] Available: https://www.ag.ndsu.edu/publications/livestock/using-flax-in-beef-and-dairy-cattle-diets/as1283.pdf [2019 Jan. 20].

Larick, D.K.; Hedrick, H.B., Bailey, M.E.; Williams, J.E., Hancock, D.L., Garner, G.B. y Morrow, M.E. Flavour constituents of beef as influenced by forage and grain feeding. *J. Food. Sci*. **1987**, *52* (2). 245-251. DOI:10.1111/j.1365-2621.1987.tb06585.x

Larick, D.K.; Turner, B.E. Headspace volatiles and sensory characteristics of ground beef from forage- and grain-fed heifers. *Journal of Food Science*, **1990**, *55* (3), 649–654. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1990.tb05198.x

Larqué, E.; Zamora, S.; Gil, A. Dietary *trans* fatty acids in early life: a review. *Early Human Development* **2001**, *65* (2), S31-S41. DOI:10.1016/S0378-3782(01)00201-8

Larsson, S.C.; Orsini, N. Red meat and processed meat consumption and all- cause mortality: A meta-analysis. *Am. J. Epidemiol.* **2014**, *179* (3), 282–289. DOI:10.1093/aje/kwt261

Lawrie, R.A. Chemical and biochemical constitution of muscle. In *Lawrie's Meat Science* (6th edition), Woodhead Publishing Limit. Edit. Cambridge; 1998a, pp 58-95.

Lawrie, R.A. The conversion of muscle to meat. In *Lawrie's Meat Science* (6th edition), Woodhead Publishing Limit. Edit. Cambridge; 1998b, pp 96-118.

Lee-Thorp, J. A.; Vvan der Merwe, N. J.; Brain, C.K. Diet of Australopithecus robustus at Swartkrans from stable carbon isotopic analysis. *Journal of Human Evolution,* **1994**, *27* (4), 361–372. DOI:10.1006/jhev.1994.1050

Lee, J.Y.; Hwang, D.H. Dietary fatty acids and eicosanoids. In: *Fatty acids in food and their health implications* (3rd Edition) Chow, C.K. (Ed.); 2008, pp 713-726.

Lee, M.; Cabiddu, A.; Niderkorn, V.; Hou, F.; Kim, E.; Scollan, N. In vitro rumen simulated metabolism (RUSITEC) of freshly cut or wilted grasses with contrasting polyphenol oxidase activities: The effect on rumen parameters, lipolysis and biohydrogenation. *Advances in Animal Biosciences*, **2010**, *1*, 205-205. DOI: 10.1017/S2040470010003481

Lee, M.R.; Tweed, J.K.; Moloney, A.P.; Scollan, N.D. The effects of fish oil supplementation on rumen metabolism and the biohydrogenation of unsaturated fatty acids in beef steers given diets containing sunflower oil. *Anim Sci*. **2005**, *80* (3), 361–367. DOI:10.1079/ASC41920361

Lee, M.R.F.; Evans, P.R.; Nute, G.R.; Richardson, R.I.; Scollan, N.D. A comparison between red clover silage and grass silage feeding on fatty acid composition, meat stability and sensory quality of the M. Longissimus muscle of dairy cull cows. *Meat Sci.* **2009**, *81* (4), 738–744. DOI: 10.1016/j.meatsci.2008.11.016

Lee, M.R.F.; Harris, L.J.; Dewhurst, R.J.; Merry, R.J.; Scollan, N.D. The effect of clover silages on long chain fatty acid rumen transformations and digestion in beef steers. *Animal Science*, **2003**, *76* (3), 491–501. DOI:10.1017/S1357729800058719

Lee, Y. Effect of pH on conjugated linoleic acid (CLA) formation of linolenic acid biohydrogenation by ruminal microorganisms. *Journal of Microbiology*, **2013**. *51* (4), 471–476. DOI:10.1007/s12275-013-1070-z

Lee, Y.J.; Jenkins, T.C. Biohydrogenation of linolenic acid to stearic acid by the rumen microbial population yields multiple intermediate conjugated diene isomers. *The Journal of Nutrition*, **2011**, *141* (8), 1445-1450. DOI: 10.3945/jn.111.138396

Lefevre, M.; Kris-Etherton, P.M.; Zhao, G.; Tracy, R.P. Dietary fatty acids, hemostasis, and cardiovascular disease risk. *Journal of the American Dietetic Association*, **2004**, *104* (3), 410-419. DOI:10.1016/j.jada.2003.12.022

Leheska, J.M.; Thompson, L.D.; Howe, J.C.; Hentges, E.; Boyce, J.; Brooks, J.C.; *et al.* Effects of conventional and grass-feeding systems on the nutrient composition of beef. *J. Anim. Sci.* **2008**, *86* (12), 3575–3585. DOI:10.2527/jas.2007-0565

Lepetit J. Deformation of collagenous, elastin and muscle fibres in raw meat in relation to anisotropy and length ratio. *Meat Sci.* **1989**, *26* (1), 47–66. DOI: 10.1016/0309-1740(89)90056-9

Lepetit, J.; Culioli, J. Mechanical properties of meat. *Meat Sci.* **1994**, 36 (1-2), 203-237. DOI: 10.1016/0309-1740(94)90042-6

Linseisen, J.; Welch, A.A.; Ocke, M.; Amiano, P.; Agnoli, C.; Ferrari, P. *et al.* Dietary fat intake in the European prospective investigation into cancer and nutrition: results from the 24-h dietary recalls. *European Journal of Clinical Nutrition* 2009. *63* (4), S61-S80. DOI: 10.1038/ejcn.2009.75

Lock, A.L.; Bauman, D.E. Modifying milk fat composition of dairy cows to enhance fatty acids beneficial to human health. *Lipids*, **2004**, *39* (12), 1197–1206. DOI:10.1007/s11745-004-1348-6

Lorenzen, CL.; Golden, JW.; Martz, FA.; Grün, IU.; Ellersieck, M.R.; Gerrish, J.R.; Moore, K.C. Conjugated linoleic acid content of beef differs by feeding regime and muscle. *Meat Sci.* **2007**, *75*, 159-167. DOI:10.1016/j.meatsci.2006.06.025

Lourenço, M.; Ramos-Morales, E.; Wallace, R.J. The role of microbes in rumen lipolysis and biohydrogenation and their manipulation. *Animal* **2010**, *4* (7), 1008-1023. DOI:10.1017/S175173111000042X

Ludden, P.A.; Kucuk, O.; Rule, D.C.; Hess, B.W. Growth and carcass fatty acid composition of beef steers fed soybean oil for increasing duration before slaughter. *Meat Sci.* **2009**, *82* (2), 185–192. DOI: 10.1016/j.meatsci.2009.01.009

Lusby, K.S.; Stephens, D.F.; Totusek, R. Effects of milk intake by nursing calves on forage intake on range and creep intake and digestibility in drylot. *J. Anim. Sci.* 1976, 43 (5), 1066-1071. DOI:10.2527/jas1976.4351066x

Macfie, H.J.; Bratchell, N.; Greenhoff, K.; Vallis, L.V. Designs to balance the effect of order presentation and first-order and carryover effects in hall tests. *Journal of Sensory Studies* **1989**, *4* (2), 129−148. DOI: 10.1111/j.1745-459X.1989.tb00463.x

Mach, N.; Bach, A.; Velarde, A. Association between animal, transportation, slaughterhouse practices and meat pH in beef. *Meat Sci.* **2008**, *78* (3), 232–238. DOI:10.1016/j.meatsci.2007.06.021

Mach, N.; Devant, M.; Díaz, I.; Font-Furnols, M.; Oliver, M.A.; García, J.A.; *et al.* Increasing the amount of *n-3* fatty acid in meat from young Holstein bulls through nutrition. *J. Anim. Sci.* **2006**, *84* (11), 3039-3048. DOI: 10.2527/jas.2005-632

Maddock, T.D.; Bauer, M.L.; Koch, K.B.; Anderson, V.L.; Maddock, R.J.; Barceló-Coblijn, G.; *et al.* Effect of processing flax in beef feedlot diets on performance, carcass characteristics, and trained sensory panel ratings. *J. Anim. Sci.* **2006**, *84* (6), 1544-1551. DOI: 10.2527/2006.8461544x

Mann, N. Dietary lean red meat and human evolution. *European Journal of Nutrition*, **2000**, *39* (2), 71- 79. DOI: 10.1007/s003940050005

MAPA. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. *Estudio del sector español de cebo de vacuno. Datos SITRAN*. Subdirección General de Productos Ganaderos, Dirección General de Producciones y Mercados Agrarios. Catálogo de Publicaciones de la Administración General del Estado, 2019. https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/produccion-y-mercados-ganaderos/estudiodelsectorespanoldecebodevacuno2019_tcm30-512343.pdf

MAPA. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. *Raza bovina Rubia Gallega*, 2020b. https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/zootecnia/razas-ganaderas/razas/catalogo-razas/bovino/rubia-gallega/default.aspx

MAPA. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. *El sector de la carne de vacuno en cifras: Principales Indicadores Económicos*. Subdirección General de Producciones Ganaderas y Cinegéticas, Dirección General de Producciones y Mercados Agrarios. Catálogo de Publicaciones de la Administración General del Estado, 2020a. https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/estadisticas/cortoindicadoreseconomicos carnedevacuno2020_06_15_tcm30-381390.pdf

Mapiye, C.; Aalhus, J.L.; Turner, T.D.; Rolland, D.C.; Basarab, J.A.; Baron, V.S.; McAllister, T.A.; Block, H.C.; Uttaro, B.; Lopez-Campos, O.; Proctor, S.D.; Dugan, M.E.R. Effects of feeding flaxseed or sunflower-seed in high-forage diets on beef production, quality and fatty acid composition. *Meat Sci.* **2013a**, *95* (1), 98–109. DOI:10.1016/j.meatsci.2013.03.033

Mapiye, C.; Aldai, N.; Turner, T.D.; Aalhus, J.L.; Rolland, D.C.; Kramer, J.K.G.; *et al.* The labile lipid fraction of meat: From perceived disease and waste to health and opportunity. *Meat Sci.* **2012**, *92* (3), 210–220. DOI: 10.1016/j.meatsci.2012.03.016

Mapiye, C.; Turner, T.D.; Rolland, D.C.; Basarab, J.A.; Baron, V.S.; McAllister, T.A.; *et al.* Adipose tissue and muscle fatty acid profiles of steers fed red clover silage with and without flaxseed. *Livestock Science*, **2013b**. *151*, 11–20. DOI: 10.1016/j.livsci.2012.10.021

Mapiye, C.; Vahmani, P.; Mlambo, V.; Muchenje, V.; Dzama, K.; Hoffman, L.C.; Dugan, M.E.R. The *trans*-octadecenoic fatty acid profile of beef: Implications for global food and nutrition security. *Food Res. Int.* **2015**, *76*, 992-1000. DOI:10.1016/j.foodres.2015.05.001

Martens, H.; Staburvik, E.; Martens, M. Texture and colour changes in meat during cooking related to thermal denaturation of muscle proteins. *Journal of Texture Studies*, **1982**, *13* (3), 291-309. DOI:10.1111/j.1745-4603.1982.tb00885.x

Martínez, A.L.; Pérez, M.l; Pérez, L.M.; Carrión, D.; Gómez, G.; Garzón, A.I. Efecto de los aceites y semillas en dietas para rumiantes sobre el perfil de ácidos grasos de la leche. Revisión. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* (online), **2013**, *4* (3), 319-338. [fecha de Consulta 24 de noviembre de 2020]. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=265628467001

Martínez, A.L.; Pérez, Manuel; Pérez, Luis A.; Gómez, G. Digestión de los lípidos en los rumiantes: Una revisión. *Interciencia*, **2010**. *35* (4), 240-246. https://www.interciencia.net/wp-content/uploads/2018/01/240-MARTINEZ-7.pdf

Martins, S.V.M.; Lopes, P.A.; Alfaia, C.M.; Ribeiro, V.S.; Guerreiro, T.V.; Fontes, C.M.G.A.; Castro, M.F.; Soveral, G.; Prates, J.A.M. Contents of conjugated linoleic acid isomers in ruminant-derived foods and estimation of their contribution to daily intake in Portugal. *British Journal of Nutrition*, **2007**, *98* (6), 1206-1213. DOI: 10.1017/S0007114507781448

Marventano, S.; Kolacz, P.; Castellano, S.; Galvano, F.; Buscemi, S.; Mistretta, A.; Grosso, G. A review of recent evidence in human studies of *n-3* and *n-6* PUFA intake on cardiovascular disease, cancer, and depressive disorders: Does the ratio really matter? *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, **2015**, *66* (6), 1-12. DOI:10.3109/09637486.2015.1077790

Massart-Leën, A.M.; Roets, E.; Peeters, G.; Verbeke, R. Propionate for fatty acid synthesis by the mammary gland of the lactating goat. *J. Dairy Sci.* **1983**, *66* (7), 1445-1454. DOI:10.3168/jds.S0022-0302(83)81958-4

May, S.; Dolezal, H.; Gill, D.; Ray, F.; Buchanan, D. Effects of days fed, carcass grade traits, and subcutaneous fat removal on postmortem muscle characteristics and beef palatability. *J. Anim. Sci.* **1992**, *70* (2), 444-453. DOI:10.2527/1992.702444x

McAfee, A.J.; McSorley, E.M.; Cuskelly, G.J.; Moss, B.W.; Wallace, J.M.W.; Bonham, M.P.; Fearon, A.M. Red meat consumption: An overview of the risks and benefits. *Meat Sci.* **2010**, *84*, 1-13. DOI: 10.1016/j.meatsci.2009.08.029

McNiven, M.A.; Duynisveld, J.L.; Turner, T.; Mitchell, A.W. Ratio of *n-6*/*n-3* in the diets of beef cattle: Effect on growth, fatty acid composition, and taste of beef. *Anim. Feed Sci. Tech.* **2011**, *170* (3-4), 171–181. DOI:10.1016/j.anifeedsci.2011.09.006

Melton, S.L. Effects of feeds on flavor of red meat: a review. *J. Anim. Sci.* **1990***, 68* (12), 4421-4435. DOI: 10.2527/1990.68124421x

Menaa, F.; Menaa, A.; Menaa, B. *et al. Trans*-fatty acids, dangerous bonds for health? A background review paper of their use, consumption, health implications and regulation in France. *Eur. J. Nutr*. **2013**, *52*, 1289–1302. DOI:10.1007/s00394-012-0484-4

Menaa, F.; Menaa, B.; Kahn, B.A.; Menaa, A. *Trans* fats and risks of cardiovascular diseases: facts or artifacts? In *Handbook of Lipids in Human Function: Fatty Acids,* Watson, R.R, De Meester, F. (Editors), 2016, pp 21-38.

Mensink, R.P. Effects of stearic acid on plasma lipid and lipoproteins in humans. *Lipids* **2005**, *40* (12), 1201–1205. DOI: 10.1007/s11745-005-1486-x

Micha, R.; Wallace, S.K.; Mozaffarian, D. Red and processed meat consumption and risk of incident coronary heart disease, stroke, and diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. *Circulation,* **2010**, *121* (21), 2271–2283. DOI:10.1161/circulationaha.109.924977

Micol, D.; Robelin, J.; Geay, Y. Composition corporelle et caractéristiques biologiques des muscles chez les bovins en croissance et à l'engrais. *I.N.R.A. Prod. Anim.* **1993**, *6*, 61-69. DOI: 10.20870/productions-animales.1993.6.1.4188

Miller, G.J.; Field, R.A.; Medeiros, L. y Nelms, G.E. Lipid characteristics in fresh and broiled loin and round steaks from concentrate fed and pasture grazed steers. *J. Food Sci.* **1987***, 52* (3), 526-529. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1987.tb06666.x

Mir, P.; Bittman, S.; Hunt, D.; Entz, T.; Yip, B. Lipid content and fatty acid composition of grasses sampled on different dates through the early part of the growing season. *Can. J. Anim. Sci.* **2006**. *86* (2), 279-290. DOI:10.4141/A05-050

Mir, P.S.; Dugan, M.E.R.; He, M.L.; Entz, T.; Yip, B. Effects of dietary sunflower seeds and tylosin phosphate on production variables, carcass characteristics, fatty acid composition, and liver abscess incidence in crossbred steers. *J. Anim. Sci.* **2008**, *86* (11), 3125-3136. DOI: 10.2527/jas.2008-0875

Mir, P.S.; McAllister, T.A.; Zaman, S.; Morgan Jones, S.D.; He, M.L.; Aalhus, J.L.; L. Jeremiah, E.; Goonewardene, L. A.; Weselake, R. J.; Mir, Z. Effect of dietary sunflower oil and vitamin E on Beef cattle performance, carcass characteristics and meat quality. *Can. J. Anim. Sci.* **2003**, *83*, 53-66. DOI:10.4141/A02-014

Młynek, K.; Guliński, P. The effect of growth rate and age at slaughter on dressing percentage and colour, pH48 and microstructure of longissimus dorsi muscle in Black-and-White (BW) bulls vs. commercial crossbreds of BW with beef breeds. *Animal Science Papers and Reports*, **2007**, *25* (2), 65-71. http://www.ighz.edu.pl/uploaded/FSiBundleContentBlockBundleEntityTranslatableBlockTranslatableFilesElement/filePath/289/strona65-72.pdf

Mohino, A. Obtención de carne, manipulación y sacrificio de animales. Ponencias del curso *Tecnología y calidad de los productos cárnicos,* Pamplona 8-18 junio de 1992. Edit. Beriain, M.J. Departamento de Agricultura, Ganadería y Montes del gobierno de Navarra, 1993, pp 13-27.

Moholisa, E.; Hugo, A.; Strydom, P.E.; van Heerden, I. The effects of animal age, feeding regime and a dietary beta-agonist on tenderness of three beef muscles. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **2017**, *97* (8), 2375–2381. DOI:10.1002/jsfa.8049

Molketin, J. Occurrence and biochemical characteristics of natural bioactive substances in bovine milk lipids. *British Journal of Nutrition*, **2000***, 84*, S47-S53. DOI: 10.1017/s0007114500002245

Møller, A. Analysis of Warner Bratzler shear force pattern with regard to myofibrilar and connecitive tissue components of tenderness. *Meat Sci.* **1980**, *5* (4), 247–260. DOI: 10.1016/0309-1740(81)90015-2

Moloney, A.P.; Fievez, Veerle; Martin, B.; Nute, G.R.; Richardson, Ian. Botanically diverse forage-based rations for cattle: implications for product composition, product quality and consumer health. In *Grassland Science in Europe*:

Biodiversity and Animal Feed: Future Challenges for Grassland production, Hopkins, A., Gustafsson, T., Bertilsson, J., Dalin, G., Nilsdottir-Linde, E.N. Sporndly (Eds.), 2008, *13*, 361-374.

Monserrat, L. Sistemas de producción de carne con vacas madres en Galicia. *Mundo Ganadero*, **1990**, 4, 35-43.

Monserrat, L. Características reproductivas y variaciones ponderales del ganado Rubio Gallego en sistemas extensivos de producción de carne. Tesis Doctoral. Univ. de León, 1994.

Monserrat, L. *Calidad de la carne de vacuno. Efecto de la extensificación de la producción.* Seminarios C.I.A.M., 2002a.

Monserrat, L.; Carballo, J.A.; Sánchez, L.; Oliete, B; Varela, A. Composición de la canal de los terneros de raza Rubia Gallega sacrificados sin destetar. Efecto de la extensificación del manejo. En libro resúmenes del *IX Congreso Internacional de la Federación Mediterránea de Sanidad y Producción de Rumiantes*, 2002b, pp 175-179.

Monserrat, L.; Sánchez, L.; Fernández, A.; Viana, J.L. y De La Calle, B. Efecto del sistema de manejo en la producción de la clase de ternero de la Denominación Específica Ternera Gallega. I.- Ritmo de crecimiento. *ITEA*, **1997**, *18*, 209-211.

Monserrat, L.; Sánchez, L.; Carballo, J.A.; Fidalgo, L.E.; Suárez, M.L.; Brea, T. *Estudio efecto de manejo antes del sacrificio en el grado de estrés de los terneros.* Memoria 94- 96 del Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo. Ed: Xunta de Galicia. Consellería de Agricultura, Gandería e Política Agroalimentaria, 1998, 325-329.

Monserrat, L.; Sánchez, L. Sistemas de producción de carne en pastoreo con Rubia Gallega. *Bovis*, **2000**, *92*, 23 – 34.

Monsón, F.; Sañudo, C.; Sierra, I. Influence of breed and ageing time on the sensory meat quality and consumer acceptability in intensively reared beef. *Meat Sci.* **2005**, *71* (3), 471–479. DOI:10.1016/j.meatsci.2005.04.026

Morales, R.; Parga, J.; Subiabre, I.; Realini, C.E. Finishing strategies for steers based on pasture or silage plus grain and time on feed and their effects on beef quality. *Ciencia e Investigación Agraria*, **2015**, *42*, 5–18. DOI:10.4067/S0718-16202015000100001

Morales, R.; Ungerfeld, E.M. Use of tannins to improve fatty acids profile of meat and milk quality in ruminants: A review. *Chilean Journal of Agricultural Research*, **2015**, *75* (2), 239-248. DOI:10.4067/S0718-58392015000200014

Moreno, T. Efecto de la extensificación en la calidad de la carne y de la grasa de animales acogibles a la i.G.P Ternera Gallega. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela, 2004

Moreno, T.; Botana, A.; Bispo, E.; González, L.; García, D.; Mesas, J. High-energy forage feeding diets and body condition on the finishing of cull dairy cows. *Animal*, **2012**, *6* (10), 1634-1641. DOI: 10.1017/S1751731112000171

Moreno, T.; Oliete, B.; Varela, A.; Monserrat, L.; Carballo, J.A. Producción de carne de vacuno joven de raza Rubia Gallega. Efecto peso de sacrificio y manejo sobre las características de la carne. En Libro de resúmenes, *XII Congr. Zootecnia*, 2002, 613-617.

Moreno, T.; Perez, N.; Oliete, B.; Carballo, J.A.; Franco, D.; Monserrat, L. Effects on quality attributes of commercial veal pieces under different ageing treatments. *International Journal of Food Science and Technology*, **2007a**, *42 (3)*, 373–379. DOI:10.1111/j.1365-2621.2006.01453.x

Moreno, T.; Varela, A.; Oliete, B.; Carballo, J.A.; Sánchez, L.; Monserrat, L. Nutritional characteristics of veal from weaned and unweaned calves: Discriminatory ability of the profile. *Meat Sci*. **2006**, *73* (2), 209-217. DOI: 10.1016/j.meatsci.2005.11.01

Moreno, T.; Varela, A.; Portela, C.; Pérez, N.; Carballo, J.A.; Monserrat, L. The effect of grazing on the fatty acid profile of *Longissimus thoracis* muscle in Galician Blond calves. *Animal*, **2007b**, *1* (8), 1227–1235. DOI:10.1017/S1751731107000481

Morón-Fuenmayor, O.; Zamorano, G.L. Pérdida por goteo en carne cruda de diferentes tipos de animales. *Revista Científica*, **2004**, *14*, 1–6.

Morrison, W.R.; Smith, L.M. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride-methanol. *J. Lipid Res.* **1964**, *5* (4), 600–608. DOI:10.1016/S0022-2275(20)40190-7

Mottet, A.; De Haan, C.; Falcucci, A.; Tempio, G.; Opio, C.; Gerber, P. Livestock: On our plates or eating at our table? A new analysis of the feed/food debate. *Global Food Security*, **2017**, *14*, 1-8. DOI:10.1016/j.gfs.2017.01.001

Mozaffarian, D.; Aro, A.; Willett, W.C. Health effects of *trans*-fatty acids: experimental and observational evidence. *Eur. J. Clin. Nutr.*, **2009**, *63* (2), S5–S21. DOI: 10.1038/sj.ejcn.1602973

Mozaffarian, D.; Wu, J. (2011). Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease. effects on risk factors, molecular pathways, and clinical events. *J. Am. Coll. Cardiol.*, **2011**, *58* (20), 2047–2067. DOI: 10.1016/j.jacc.2011.06.063

Mueller, L.F.; Balieiro, J.C.C.; Ferrinho, A.M.; *et al.* Gender status effect on carcass and meat quality traits of feedlot Angus × Nellore cattle. *Anim Sci J*. **2019**, *90* (8), 1078– 1089. DOI:10.1111/asj.13250

Muir, P.D.; Beaker, J.M.; Brown, M.D. Effects of forage and grain-based feeding systems on beef quality: A review. *New Zeal. J. Agr. Res.* **1998**, *41* (4), 623–635. DOI:10.1080/00288233.1998.9513346

Murru, E.; Angioni, E.; Carta, G.; Melis, M.P.; Spada, S.; Banni, S. Reversed-phase HPLC analysis of conjugated linoleic acid and its metabolites. In *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research,* J.-L. Sebedio, W.W. Christie, & R. Adlof (Eds.), AOCS Press, 2003, 2; pp 94-100.

Munro, J.M.M.; Walters, R.J.K. The feeding value of grass. In: *Grazing* (ed. J. Frame). British Grassland Society, Occasional Symposium, 1986, *19*, pp 65-78.

Nassu, R.T.; Dugan, M.E.R.; He, M.L.; McAllister, T.A.; Aalhus, J.L.; Aldai, N.; Kramer, J.K. The effects of feeding flaxseed to beef cows given forage-based diets on fatty acids of *longissimus thoracis* muscle and backfat. *Meat Sci.* **2011**, *89* (4), 469-477. DOI:10.1016/j.meatsci.2011.05.016

Noci, F.; French, P.; Monahan, F.J.; Moloney, A.P. The fatty acid composition of muscle fat and subcutaneous adipose tissue of grazing heifers supplemented with

plant oil-enriched concentrates. *J. Anim. Sci.* **2007**, *85* (4), 1062-1073. DOI:10.2527/jas.2006-105

Noci, F.; Monahan, F.J.; French, P.; Moloney, A.P. The fatty acid composition of muscle fat and subcutaneous adipose tissue of pasture-fed beef heifers: Influence of the duration of grazing. *J Anim Sci*. **2005**, *83* (5): 1167-1178. DOI: 10.2527/2005.8351167x

NRC National Research Council. *Nutrient Requirements of Beef Cattle*: Seventh Revised Edition, Washington, DC: The National Academies Press, 2000 DOI:10.17226/9791

Nuernberg, K.; Dannenberger, D.; Nuernberg, G.; Ender, K.; Voigt, J.; Scollan, N.D. Effect of a grass-based and a concentrate feeding system on meat quality characteristics and fatty acid composition of *longissimus* muscle in different cattle breeds. *Livest. Prod. Sci.* **2005**, *94* (1-2), 137–147. DOI:10.1016/j.livprodsci.2004.11.036

O'Donovan, M.; Dillon, P.; Rath, M.; Stakelum, G. A comparison of four methods of herbage mass estimation. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, **2002**, *41* (1), 17-27. DOI: 10.2307/25562447. Retrieved October 10, 2020, from http://www.jstor.org/stable/25562447

O'Quinn T.G.; Brooks, J.C.; Polkinghorne, R.J.; Garmyn, A.J.; Johnson, B.J.; Starkey, J.D.; Rathmann, R.J.; Miller, M.F. Consumer assessment of beef strip loin steaks of varying fat levels. *J. Anim. Sci*. **2012**, *90* (2), 626–634. DOI:10.2527/jas.2011-4282

Offer, G.; Knight, P. The structural basis of water-holding capacity in meat. Part 2: drip losses. In *Developments in meat science,* R. Lawrie (Ed.), Elsevier Science Publications, 1988, 4, pp 173–243.

Oliete, B. Maduración de la carne de vacuno joven en Galicia. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela, 2003.

Oliete, B.; Carballo J.A.; Varela, A.; Moreno, T.; Monserrat, L.; Sanchez, L. Effect of weaning status and storage time under vacuum upon physical characteristics of meat of the Rubia Gallega breed. *Meat Sci.* **2006**, *73*, 102–108. DOI: 10.1016/j.meatsci.2005.11.004

Oliete, B.; Cardelle, M.; Maceiras, M.P. Análisis de las carnes de vacuno mediante espectrofotometría del infrarrojo cercano (NIRS). In *Proceedings of the X international congress of Zootecnie*, Vale de Santarem, Portuga, 2-4 noviembre, 2000, p 117.

Oliveira, C.A.; Millen, D.D. Survey of the nutritional recommendations and management practices adopted by feedlot cattle nutritionists in Brazil. *Anim. Feed Sci. Tech.* **2014**, *197*, 64-75. 10.1016/j.anifeedsci.2014.08.010

Oliveira, D.M.; Ladeira, M.M.; Chizzotti, M.L.; Machado-Neto, O.R.; Ramos, E.M.; Gonçalves, T.M.; Bassi, M.S.; Lanna, D.P.D.; Ribeiro, J.S. Fatty acid profile and qualitative characteristics of meat from zebu steers fed with different oilseeds. *J. Anim. Sci*. **2011**, *89* (8), 2546–2555. DOI:10.2527/jas.2010-3553

Oliveira, E.A.; Sampaio, A.A.M.; Henrique, W.; Pivaro, T.M.; Rosa, B.L.; Fernandes, A.R.M.; *et al.* Quality traits and lipid composition of meat from Nellore young

bulls fed with different oils either protected or unprotected from rumen degradation. *Meat Sci.* **2012**, 90, 28–35. DOI:10.1016/j.meatsci.2011.05.024

Oliveira, M.A.; Alves, S.P.; Santos-Silva, J.; Bessa, R.J.B. Effect of dietary starch level and its rumen degradability on lamb meat fatty acid composition. *Meat Sci.* **2017**, *123*, 166–172. DOI:10.1016/j.meatsci.2016.10.001

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

Ordoñez, J.A.; Cambero, M.I.; Fernández, L.; García, M.L.; García, G.; de la Hoz, L.; Selgas, M.D. Características sensoriales de la carne. En *Tecnología de los Alimentos*, Alimentos de origen animal, Ed. Síntesis, 1998, 2, pp 188-224.

Or-Rashid, M.M.; Odongo, N.E.; McBride, B.W. Fatty acid composition of ruminal bacteria and protozoa, with emphasis on conjugated linoleic acid, vaccenic acid, and odd-chain and branched-chain fatty acids. *J. Anim. Sci.* **2007**, *85* (5), 1228–1234. DOI: 10.2527/jas.2006-385

Osoro, K.; Cebrián, M. Predicción de la digestibilidad e ingestión de la materia seca del pasto de parámetros químicos. *Investigación Agraria: producción y Sanidad animales*, **1986**, *1* (3), 187-199.

Ouali, A. Conséquences des traitements technologiques sur la qualité de la viande. *INRA Prod. Animal*, **1991**, *4* (3). 195-208. ⟨hal-00895939⟩

Ozutsumi, K.; Okada, M. The effect of mountainous grazing on type and cross-sectional area of muscle fibre in Holstein steers. *Jpn. J. Zootech. Sci*. **1981**, *52* (10), 741–748. DOI:10.2508/chikusan.52.741

Paccard, P.; Chenais, F.; Brunschwig, P. Maitríse de la matière grasse du lait par l'alimentation de vaches laitieres. Institut de l'Elevage e Onilait. Compte rendu 030631012. Département Techniques de l'Elevage et Qualité, Service Conduite et Traite des Troupeaux Laitiers, 2006, 36 pp.

Pan, A.; Sun, Q.; Bernstein, A.M.; Schulze, M.B.; Manson, J.E.; Willett, W.C.; Hu, F.B. Red meat consumption and risk of type 2 diabetes: 3 cohorts of US adults and an updated meta-analysis. *Am. J. Clin. Nutr.* **2011**, *94* (4), 1088–1096. DOI:10.3945/ajcn.111.018978

Parodi, P.W. Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. *Journal of Dairy Science*, **1999**, *82* (6), 1339-1349 DOI:10.3168/jds.S0022-0302(99)75358-0

Parodi, P.W. (2003). Conjugated linoleic acid in food. In *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research,* J-L Sébédio, W.W. Christie, & R. Adlof (Eds.), AOCS Press., 2003, *2*, pp 101−122.

Parvar, R.; Ghoorchi, T.; Shams Shargh, M. Influence of dietary oils on performance, blood metabolites, prune derivatives, cellulase activity and muscle fatty acid composition in fattening lambs. *Small Ruminant Research*, **2017**, *150*, 22-29. 10.1016/j.smallrumres.2017.03.004

Patino, H.O.; Medeiros, F.S.; Pereira, C.H.; Swanson, K.C.; McManus, C. Productive performance, meat quality and fatty acid profile of steers finished in

confinement or supplemented at pasture. *Animal*, **2015**, *9* (6), 966-972. DOI: 10.1017/S1751731115000105

Pawlosky, R.J.; Hibbeln, J.R.; Novotny, J.A.; Salem, N.Jr. Physiological compartmental analysis of alpha-linolenic acid metabolism in adult humans. *J. Lipid Res*. **2001**, *42* (8), 1257-1265. DOI:10.1016/S0022-2275(20)31576-5

Pelliccia, F.; Marazzi, G.; Greco, C.; Franzoni, F.; Speziale, G.; Gaudio, C. Current evidence and future perspectives on *n-3* PUFAs. *Int. J. Cardiol*. **2013**, *170* (2, Suppl. 1), S3-S7. DOI: 10.1016/j.ijcard.2013.06.044

Penedo, L.A.; Nunes, J.C.; Gama, M.A.S.; Leite, P.E.C.; Quirico-Santos, T.F.; Torres, A.G. Intake of butter naturally enriched with cis9,*trans*11 conjugated linoleic acid reduces systemic inflammatory mediators in healthy young adults. J. Nutr. Biochem. **2013**, *24* (12), 2144-2151. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2013.08.006

Pereira, P.M.; Vicente, A.F. Meat nutritional composition and nutritive role in the human diet. *Meat Sci.* **2013**, *93* (3), 586-592. DOI:10.1016/j.meatsci.2012.09.018

Pérez, D.; Andújar, G. Cambios de coloración de los productos cárnicos. *Rev. Cubana Aliment. Nutr*. **2000**; *14* (2), 114-123.

Peripolli, E.; Banchero, G.; Pereira, A.S.C.; Brito, G.; La Manna, A.; Fernandez, E.; Montossi, F.; Baldi, F. Effect of growth path on the performance and carcass traits of Hereford steers finished either on pasture or in feedlot. *Anim.Prod. Sci.* **2017**, *58* (7), 1341-1348. DOI:10.1071/AN16061

Pestana, J.M.; Martins, S.I.V.; Alfaia, C.M.M.; Lopes, P.A.; Costa, A.S.H.; Bessa, R.J.B.; Castro, M.L.F.; Prates, J.A.M. Contents and distribution of conjugated linoleic acid (CLA) isomers in bovine milk, cheese and butter from Azores. *Dairy Science and Technology,* **2009**, *89* (2), 193-200. DOI: 10.1051/dst/2008040

Pestana, J.M.; Costa, A.S.; Alves, S.P.; Martins, S.V.; Alfaia, C.M.; Bessa, R.J.; Prates, J.A. Seasonal changes and muscle type effect on the nutritional quality of intramuscular fat in Mirandesa-PDO veal. *Meat Sci.* **2012**, *90* (3), 819–827. DOI:10.1016/j.meatsci.2011.11.023

Petri, R.M.; Mapiye, C.; Dugan, M.E.R.; McAllister, T.A. Subcutaneous adipose fatty acid profiles and related rumen bacterial populations of steers fed red clover or grass hay diets containing flax or sunflower-seed. *PLoS ONE*, **2014**, *9* (8), 1-16. DOI:10.1371/journal.pone.0104167

Phelps, K.J.; Drouillard, J.S.; O'Quinn, T.G.; Burnett, D,D.; Blackmon, T.L.; Axman, J.E.; Van Bibber-Krueger, C.L.; Gonzalez, J.M. Feeding microalgae meal (All-G RichTM; Schizochytrium limacinum CCAP 4087/2) to beef heifers. 1. Effects on longissimus lumborum steak colour and palatability. *J. Anim. Sci.* **2016**, *94* (9), 4016–4029. DOI: 10.2527/jas.2016-0487

Pires, A.V.; Eastridge, M.L.; Firkins, J.L.; Lin, Y.C. Effects of heat treatment and physical processing of cottonseed on nutrient digestibility and production performance by lactating cows. *Journal of Dairy Science*, **1997**, *80* (8), 1685-1694. DOI:10.3168/jds.S0022-0302(97)76100-9

Platter, W.J.; Tatum, J.D.; Belk, K.E.; Koontz, S.R.; Chapman, P.L.; *et al.* Effects of marbling and shear force on consumers' willingness to pay for beef strip loin steaks. *J. Anim. Sci*. **2005**, *83* (4), 890–899. DOI:10.2527/2005.834890x

Ponnampalam, E.N.; Butler, K.L.; Jacob, R.H.; Pethick, D.W.; Ball, A.J.; Edwards, J.E.H.; Geesink, G.; Hopkins, D.L. Health beneficial long chain omega-3 fatty acid levels in Australian lamb managed under extensive finishing systems. *Meat Sci*. **2014b**, *96* (2, Part B), 1104–1110. DOI:10.1016/j.meatsci.2013.04.007

Ponnampalam, E.N.; Butler, K.L.; Pearce, K.M.; Suzanne, I.M.; Pethick, D.W.; Ball, A.J.; Hopkins, D.L. Sources of variation of health-claimable long-chain omega-3 fatty acids in meat from Australian lamb slaughtered at similar weights. *Meat Sci*. **2014a**, *96* (2, Pt B), 1095–1103. DOI: 10.1016/j.meatsci.2012.11.039Ponnampalam, E.N.; Hopkins, D.L.; Jacobs, J.L. Increasing omega-3 levels in meat from ruminants under pasture-based systems. *Rev. Sci. Tech.* **2018**, *37* (1), 57–70. DOI:10.20506/rst.37.1.2740

Ponnampalam, E.N.; Mann, N.J.; Sinclair, A.J. Effect of feeding systems on omega-3 fatty acids, conjugated linoleic acid and *trans* fatty acids in Australian beef cuts, potential impact on human health. *Asia Pac. J. Clin. Nutr*. **2006**, *15*, 21–29. Disponible en: http://apjcn.nhri.org.tw/server/APJCN/15/1/21.pdf

Pottier, J.; Focant, M.; Debier, C.; De Buysser, G.; Goffe, C.; Mignolet, E.; Froidmont, E.; Larondelle, Y. Effect of dietary vitamin E on rumen biohydrogenation pathways and milk fat depression in dairy cows fed high-fat diets. *Journal of Dairy Science*, **2006**, *89* (2), 685–692. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72131-2

Prates, J.A.M.; Bessa, R.J.B. *Trans* and *n-3* fatty acids. En *Handbook of Muscle Foods Analysis*; Nollet, L.M.L., Toldrá, F. (Eds.), 2009; 1, 399–417.

Precht, D.; Molkentin, J.; Destaillats, F.; Wolff, R. Comparative studies on individual isomeric 18:1 acids in cow, goat, and ewe milk fats by low-temperature high-resolution capillary gas–liquid chromatography. *Lipids*, **2001**, *36* (8), 827–832. DOI: 10.1007/s11745-001-0791-8

Priolo, A.; Micol, D.; Agabriel, J. Effects of grass feeding systems on ruminant meat colour and flavour. A review. *Animal Research,* **2001**, *50* (3), 185-200. DOI: 10.1051/animres:2001125Provenza, F.D.; Kronberg, S.L.; Gregorini, P. Is Grassfed Meat and Dairy Better for Human and Environmental Health? *Front. Nutr.* **2019**, *6*, 26 pp. DOI: 10.3389/fnut.2019.00026

Provenza, F.D.; Meuret, M.; Gregorini, P. Our landscapes, our livestock, our- selves: Restoring broken linkages among plants, herbivores, and humans with diets that nourish and satiate. *Appetite*, **2015**, *95*, 500–519. DOI: 10.1016/j.appet.2015.08.004

Purchas, R.W.; Knight, T.W.; Busboom, J.R. The effect of production system and age on concentrations of fatty acids in intramuscular fat of the longissimus and triceps brachii muscles of Angus-cross heifers. *Meat Sci*. **2005**, *70* (4), 597-603. DOI: 10.1016/j.meatsci.2004.12.020

Raes, K.; De Smet, S.; Balcaen, A.; Claeys, E.; Demeyer, D. Effect of diets rich in *n-3* polyunsatured fatty acids on muscle lipids and fatty acids in Belgian Blue double-muscled young bulls. *Reprod. Nutr. Dev.* **2003***, 43* (4), 331-345. DOI: 10.1051/rnd:2003029. PMID: 14971825

Raes, K.; De Smet, S.; Demeyer, D. 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. *Anim. Feed Sci. Tech.* **2004a**, *113* (1-4), 199-221. DOI:10.1016/j.anifeedsci.2003.09.001

Raes, K.; Fievez, V.; Chow, S.S.; Ansorena, D.; Demeyer, D.; De Smet, S. Effect of diet and dietary fatty acids on the transformation and incorporation of C18 fatty acids in double-muscled Belgian Blue Young Bulls. *J. Agric. Food Chem.* **2004b**, *52* (19), 6035-6041. DOI:10.1021/jf035089h

Raes, K.; Haak, L.; Balcaen, A.; Claeys, E.; Demeyer, D.; De Smet, S. Effect of linseed feeding at similar linoleic acid levels on the fatty acid composition of double-muscled Belgian Blue young bulls. *Meat Sci.* **2004c**, *66* (2), 307–315. DOI:10.1016/S0309-1740(03)00105-0

Ratnayake, W.M. N.; Galli, C. Fat and fatty acid terminology, methods of analysis and fat digestion and metabolism: a background review paper. *Ann. Nutr. Metab.* **2009**, *55* (1-3), 8-43. DOI: 10.1159/000228994

Razminowicz, R.H.; Kreuzer, M.; Leuenberger, H.; Scheeder, M.R.L. Efficiency of extruded linseed for the finishing of grass-fed steers to counteract a decline of omega-3 fatty acids in the beef. *Livestock Science*, **2008**, *114* (2-3), 150-163. DOI:10.1016/j.livsci.2007.04.019

Realini, C.E.; Duckett, S.K.; Brito, G.W.; Dalla Rizza, M.; De Mattos, D. Effect of pasture vs. concentrate feeding with or without antioxidants on carcass characteristics, fatty acid composition, and quality of Uruguayan beef. *Meat Sci.* **2004**, *66* (3), 567-577. DOI: 10.1016/S0309-1740(03)00160-8

Realini, C.E.; Kallas, Z.; Pérez-Juan, M.; Gómez, I.; Olleta, J.L.; Beriain, M.J.; Albertí, P.; Sañudo, C. Relative importance of cues underlying Spanish consumers' beef choice and segmentation, and consumer liking of beef enriched with *n-3* and CLA fatty acids. *Food Quality and Preference*, **2014**, *33*, 74-85. DOI:10.1016/j.foodqual.2013.11.007

Renna, M.; Brugiapaglia, A.; Zanardi, E.; Destefanis, G.; Prandini, A.; Moschini, M.; Sigolo, S.; Lussiana, C. Fatty acid profile, meat quality and flavour acceptability of beef from double muscled Piemontese young bulls fed ground flaxseed. *Ital. J. Anim. Sci*. **2019**, *18*, 355-365. DOI: 10.1080/1828051X.2018.1530958

Reynolds, C.M.; Roche, H.M. Conjugated linoleic acid and inflammatory cell signalling. *Prostaglandins, Leukot. Essent. Fatty Acids*, **2010**, *82* (4–6), 199–204. DOI: 10.1016/j.plefa.2010.02.021

Robinson, P.H.; Wiseman, J.; Udén, P.; Mateos, G. Some experimental design and statistical criteria for analysis of studies in manuscripts submitted for consideration for publication. *Anim. Feed Sci. Tech.* **2006**, *129* (1-2), 1–11. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2006.05.011

Rodríguez-Rebollo, M. *Manual de Industrias Cárnicas*. Publicaciones Técnicas y Alimentarias-Cárnica 2000, Madrid, 1998.

Román-Trufero A.; García-Prieto, V.; Martínez, A.; Osoro, K.; Celaya, R. Beef steer production from two local breeds under two management systems differing in the utilisation of mountain pastures. *Ital. J. Anim. Sci.* **2019**, *18* (1), 1174-1185. DOI: 10.1080/1828051X.2019.1638837

Rosa, H.; Rego, O.; Silva, C.; Alves, S.; Alfaia, C.; Prates, J.; Bessa, R. Effect of corn supplementation of grass finishing of Holstein bulls on fatty acid composition of meat lipids. *J. Anim. Sci.* **2014**, *92* (8), 3701-3714. DOI:10.2527/jas.2013-6982

Rouquete, F.M.; Riley, R.R.; Savell, J.W. Electrical stimulation, stocking rate and creep feed effects on carcass traits of calves slaughtered at weaning. *J. Anim. Sci*. **1983**, *56* (5), 1012-1020. DOI:10.2527/jas1983.5651012x

Roy, A.; Chardigny, J.M.; Bauchart, D.; Ferlay, A.; Lorenz, S.; Durand, D.; *et al.* Butter rich in *trans*10-C18:1 plus *cis*9, *trans*11-CLA differentially affects plasma lipids and aortic streak in experimental atherosclerosis in rabbits. *Animal*, **2007**, *1* (3), 467–476. DOI: 10.1017/S175173110770530X

Royo, M.Á. (coord.). *Nutrición en salud pública*. Manual Docente de la Escuela Nacional de Sanidad, Instituto de Salud Carlos III, 2017. Agencia Estatal Boletín Oficial del Estado. Disponible en: Catálogo general de publicaciones oficiales: http://publicacionesoficiales.boe.es. NIPO: 062170368 ó http://publicaciones.isciii.es

Russo, G.L. Dietary *n-6* and *n-3* polyunsaturated fatty acids: From biochemistry to clinical implications in cardiovascular prevention. *Biochemical Pharmacology*, **2009**, *77* (6), 937–946. DOI:10.1016/j.bcp.2008.10.020

Sackmann, J.R.; Duckett, S.K.; Gillis, M.H.; Realini, C.E.; Parks, A.H.; Eggelston, R.B. Effects of forage and sunflower oil levels on ruminal biohydrogenation of fatty acids and conjugated linoleic acid formation in beef steers fed finishing diets. *J. Anim. Sci.* **2003**, *81* (12), 3174-3181. DOI: 10.2527/2003.81123174x

Saini, R.K.; Keum, Y.S. Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: Dietary sources, metabolism, and significance. A review. *Life Sciences*, **2018**, 203, 255-267. DOI:10.1016/j.lfs.2018.04.049

Salter, A.M. Dietary fatty acids and cardiovascular disease. *Animal*, **2013**, *7*, 163–171. DOI: 10.1017/S1751731111002023

Sanz Egaña, C. *Enciclopedia de la carne*. Ed. Espasa-Calpe, Madrid, 1967.

Sanz, M.C.; Verde, M.T.; Fernández, A. Estrés pre-sacrificio y aparición de carnes oscuras en terneros. *Medicina Veterinaria,* **1996**, *13* (10), 554-559.

Sañudo, C. Calidad organoléptica de la carne. En *Ponencias del curso Tecnología y calidad de los productos cárnicos* celebrado en Pamplona, 8-12 de junio de 1992. Gobierno de Navarra. Departamento de Agricultura, Ganadería y Montes, 1993.

Sañudo, C. Calidad de la carne. *Producción Animal*, **1998**, *131*, 27-60.

SAS (2009). Statistical Analysis Systems Institute. SAS User's Guide: Statistics. SAS for Windows. Release 9.2. Cary NC: SAS Institute Inc.

Schlegel, P.; Wyss, U.; Arrigo, Y.; Hess, H.D. Mineral concentrations of fresh herbage from mixed grassland as influenced by botanical composition, harvest time and growth stage. *Anim. Feed Sci. Tech.* **2016**, *219*, 226–233. DOI:10.1016/j.anifeedsci.2016.06.022

Schlegel, P.; Wyss, U.; Arrigo, Y.; Hess, H.D. Changes in macro- and micromineral concentrations in herbage during the harvesting and conservation processes. *Grass Forage Sci.* **2018***, 73* (4), 918–925. DOI:10.1111/gfs.12382

Schmid, A.; Collomb, M.; Sieber, R.; Bee, G. Conjugated linoleic acid in meat and meat products: a review. *Meat Sci.* **2006**, 73, 29-41. DOI:10.1016/j.meatsci.2005.10.010

Schroeder G.F.; Gagliostro G.A.; Bargo F.; Delahoy J.E.; Muller L.D. Effects of fat supplementation on milk production and composition by dairy cows on pasture: a review. *Livest. Prod. Sci.* **2004**, *86* (1–3), 1-18. DOI:10.1016/S0301-6226(03)00118-0

Schwingshackl, L.; Hoffmann, G. Adherence to Mediterranean diet and risk of cancer: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *Int. J. Cancer*, **2014**, *135* (8), 1884-1897 DOI: 10.1002/ijc.28824

Scollan, N.; Hocquette, J.F.; Nuernberg, K.; Dannenberger, D.; Richardson, I.; Moloney, A. Innovations in beef production systems that enhance the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. *Meat Sci.* **2006a**, *74*, 17-33. DOI:10.1016/j.meatsci.2006.05.002

Scollan, N.D.; Choi, N.J.; Kurt, E.; Fisher, A.V.; Enser, M.; Wood, J.D. Manipulating the fatty acid composition of muscle and adipose tissue in beef cattle. *Br. J. Nutr.* **2001**, *85*, 115–24. DOI: 10.1079/bjn2000223

Scollan, N.D.; Costa, P.; Hallett, K.G.; Nute, G.R.; Wood, J.D.; Richardson, R.I. The fatty acid composition of muscle fat and relationships to meat quality in Charolais steers: influence of level of red clover in the diet. *Proc. Brit. Soc. Anim. Sci*. **2006b**, 23. DOI:10.1017/S1752756200017002

Scollan, N.D.; Dannenberger, D.; Nuernberg, K.; Richardson, I.; MacKintosh, S.; Hocquette, J.F.; Moloney, A.P. Enhancing the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. *Meat Sci.* **2014**, *97* (3), 384-394. DOI:10.1016/j.meatsci.2014.02.015

Scollan, N.D.; Price, E.M.; Morgan, S.A.; Huws, S.A.; Shingfield, K.J. Can we improve the nutritional quality of meat? *Proc. Nutr. Soc.* **2017**, *76* (4), 603–618. DOI:10.1017/S0029665117001112

Scott, T.W.; Cook, L.J.; Mills, S.C. Protection of dietary polyunsaturated fatty acids against microbial hydrogenation in ruminants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **1971**, *48* (7), 358–64. DOI:10.1007/BF02890762

Seideman, S.C.; Cross, H.R.; Smith, G.C.; Durland, P.R. Factors associated with fresh meat color: a review. *Journal of Food Quality*, **1984**, *6* (3), 211-237. DOI:10.1111/j.1745-4557.1984.tb00826.x

Sentandreu, M.A.; Coulis, G.; Ouani, A. Role of muscle endopeptidases and their inhibitors in meat tenderness. *Trends in Food Science and Technology*, **2002**, *13* (12), 400-421. DOI:10.1016/S0924-2244(02)00188-7

Serra-Majem, L.; Ribas, L.; Treserras, R.; Ngo, J.; Salleras, L. How could changes in diet explain changes in coronary heart disease mortality in Spain? The Spanish paradox. *American Journal of Clinical Nutrition*, **1995**, *61* (6), 1351S-1359S. DOI: 10.1093/ajcn/61.6.1351S

Sevane, N.; Nute, G.; Sañudo, C.; Cortes, O.; Cañón, J.; Dunner, S. Muscle lipid composition in bulls from 15 European breeds. *Livest. Sci*. **2014**, *160*, 1–11. DOI:10.1016/j.livsci.2013.11.001

Shackelford, S.D.; Wheeler, T.L.; Koohmaraie, M. Relationship between shear force and trained sensory panel tenderness ratings of 10 major muscles from Bos indicus and Bos Taurus cattle. *J. Anim. Sci.* **1995***, 73* (11), 3333-3340. DOI: 10.2527/1995.73113333x

Shingfield, K.J.; Bonnet, M.; Scollan, N.D. Recent developments in altering the fatty acid composition of ruminant-derived foods. *Animal*, **2013**, *7*, 132–162. DOI: 10.1017/S1751731112001681

Shingfield, K.J.; Wallace, R.J. Synthesis of conjugated linoleic acid in ruminants and humans. In: *Conjugated Linoleic Acids and Conjugated Vegetable Oils;* Sels B. and Philippaerts A. (eds.); Royal Society of Chemistry, London, UK; 2014, pp 1-64.

Simopoulos, A. Evolutionary aspects of diet and essential fatty acids. *World Rev. Nutr. Diet*, **2001**, *88*, 18-27. DOI: 10.1159/000059742

Simopoulos, A.P. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomed. Pharmacother.* **2002**, *56* (8), 365–379. DOI: 10.1016/s0753-3322(02)00253-6

Simopoulos, A.P. Evolutionary aspects of diet, the omega-6/omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic diseases. *Biomed. Pharmacother.* **2006**, *60* (9), 502-507. DOI: 10.1016/j.biopha.2006.07.080

Simopoulos, A.P. The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Experimental Biology and Medicine*, **2008**, *233* (6), 674-688. DOI:10.3181/0711-MR-311

Simopoulos, A.P. Evolutionary aspects of diet: the omega-6/omega-3 ratio and the brain. *Mol. Neurobiol.* **2011**, *44* (2), 203-215. DOI:10.1007/s12035-010-8162-0

Simpson, J.D.; Brown, A.H. y Spears, J.W. (1985). *Supplemental Feeding of the Cow-calf Unit: Replacement Heifers and Yearling Stocker Cattle*, Volumen 879 de Bulletin, Arkansas Agricultural Experiment Station Ed., 1985, 17pp.

Smit, L.A.; Mozaffarian, D.; Willett, A. Review of fat and fatty acid requirements and criteria for developing diatary guidelines. *Ann. Nutr. Metab.* **2009**, *55* (1-3), 44-55. DOI: 10.1159/000228995

Smith, S.B.; Gill, C.A.; Lunt, D.K.; Brooks, M.A. Regulation of fat and fatty acid composition in beef cattle. *Asian Austral. J. Anim*. **2009a**, *22* (9), 1225-1233. DOI: 10.5713/ajas.2009.r.10

Smith, S.B.; Kawachi, H.; Choi, C.B.; Choi, C.W.; Wu, G.; Sawyer, J.E. Cellular regulation of bovine intramuscular adipose tissue development and composition. *J. Anim. Sci*. **2009b**, *87* (14), E72-E82. DOI: 10.2527/jas.2008-1340

Smith, S.B.; Lunt, D.K.; Chung, K.Y.; Choi, C.B.; Tume, R.K.; Zembayashi, M. Adiposity, fatty acid composition, and delta-9 desaturase activity during growth in beef cattle. *J. Anim. Sci*. **2006**, *77* (5), 478-486. DOI:10.1111/j.1740-0929.2006.00375.x

Sofi, F.; Buccioni, A.; Cesari, F; Gori, A.M.; Minieri, S.; Mannini, L.; Casini, A.; Gensini, G.F.; Abbate, R.; Antongiovanni, M. Effects of a dairy product (pecorino cheese) naturally rich in *cis*-9, *trans*-11 conjugated linoleic acid on lipid, inflammatory and haemorheological variables: A dietary intervention

study. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis*. **2010**, *20* (2), 117-124. DOI:10.1016/j.numecd.2009.03.004

Solakivi, T.; Jaakkola, O.; Kalela, A.; Pispa, M.; Salomaki, A.; Lehtimaki, T.; ... Nikkari, S.T. Lipoprotein docosapentaenoic acid is associated with serum matrix me- talloproteinase-9 concentration. *Lipids Health Dis*. **2005**, *4* (8), 1-5. DOI: 10.1186/1476-511X-4-8

Srivastava, A; Srivastava, N.; Varma, A.; Tyagi, A. Effect of supplementing diferent oils on conjugated linoleic acid (CLA) production by *Butytivibrio Fibrisolvens* F7 *in vitro. Biochem. Cell. Arch.* **2018**, *18* (2), 1601-1604. https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20193476778

St-Pierre, N.R. Design and analysis of pen studies in the animal sciences. *J Dairy Sci.* **2007**, *90*, (E Suppl.), E87–E99. DOI:10.3168/jds.2006-612

St. John, L.C.; Lunt, D.K; Smith, S.B. Fatty acid elongation and desaturation enzyme activities of bovine liver and subcutaneous adipose tissue microsomes. *J. Anim. Sci.* **1991**, *69* (3), 1064-1073. DOI:10.2527/1991.6931064x

Stender, S.; Astrup, A.; Dyerberg, J. Ruminant and industrially produced *trans* fatty acids: health aspects. *Food Nutr. Res.* 2008, 52. DOI: 10.3402/fnr.v52i0.1651

Sterk, A.; Hovenier, R.; Vlaeminck, B.; Van Vuuren, A.M.; Hendriks, W.H.; Dijkstra, J. Effects of chemically or technologically treated linseed products and docosahexaenoic acid addition to linseed oil on biohydrogenation of C18:3n-3 in vitro. *J. Dairy Sci.* **2010***, 93* (11), 5286-5299. DOI:10.3168/jds.2010-3144

Stricker, J.A.; Matches, A.G.; Thompson, G.B.; Jacobs, V.E.; Martz, F.A.; Wheaton, H.N.; Currence, H.D. y Krause G.F. Cow-calf production on tall fescue-ladino clover pastures with and without nitrogen fertilization on creep feeding: spring calves. *J. Anim. Sci*. **1979**, *48*, 13-25. DOI:10.2527/jas1979.48113x

Sueiro, R.M.; Fernández, B.; Sánchez, L.; Vallejo, M. Canales de la denominación específica "Ternera Gallega". I. Características subjetivas y factores de variación. *ITEA*, **1995a**, *vol. Extra 16*, 612-614.

Sueiro, R.M.; Fernández, B.; Sánchez, L.; Vallejo, M. Canales de la denominación específica "Ternera Gallega". II. Medidas cuantitativas de conformación y factores de variación. *ITEA,* **1995b**, *vol. Extra 16*, 615-617.

Sukhija, P.S.; Palmquist, D.L. Rapid method for determination of total fatty acid content and composition of feedstuffs and feces. *J. Agric. Food Chem.* **1988**, *36* (6), 1202–1206. DOI:10.1021/jf00084a019

Szczesniak, A.S. Texture is a sensory property. *Food Quality and Preference*, 2002, 13 (4) 215–225. DOI:10.1016/S0950-3293(01)00039-8

Szczesniak, A.S.; Kleyn, D.H. Consumer awareness of texture and other food attributes. *Food Technology,* **1963**, *17*, 74–77.

Tabacco, E.; Comino, L.; Borreani. G. Production efficiency, costs and environmental impacts of conventional and dynamic forage systems for dairy farms in Italy. *Eur. J. Agr.* **2018**, *99*, 1-12, DOI:10.1016/j.eja.2018.06.004

Taormina, V.M.; Unger, A.L.; Schiksnis, M.R.; Torres-Gonzalez, M.; Kraft, J. Branched-chain fatty acids-an underexplored class of dairy-derived fatty acids. *Nutrients,* **2020**, *12* (9), 2875. DOI:10.3390/nu12092875

Ternera Gallega. Informe anual de la actividad comercial de la Indicación Geográfica Protegida Ternera Gallega, 2019. Disponible en: http://www.terneragallega.com/pdf/es/informe.pdf

Thompson J. Managing meat tenderness. *Meat Sci.* **2002**, *62* (3), 295–308. DOI:10.1016/S0309-1740(02)00126-2

Thompson J. The effects of marbling on flavour and juiciness scores of cooked beef after adjusting to a constant tenderness. *Australian Journal of Experimental Agriculture* **2004**, *44* (7), 645–652. DOI:10.1071/EA02171

Toral, P.; Monahan, F.; Hervás, G.; Frutos, P.; Moloney, A. Review: Modulating ruminal lipid metabolism to improve the fatty acid composition of meat and milk. Challenges and opportunities. *Animal*, **2018**, *12* (s2), s272-s281. DOI:10.1017/S1751731118001994

Torrescano, G.R.; Sánchez, A.; Vásquez, M.G.; Paz, R.; Pardo, D.A. Caracterización de canales y de carne de bovino de animales engordados en la zona centro de Sonora. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias,* **2010**, *1* (2), 157-168. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=265620276007

Troegeler-Meynadier, A.; Bret-Bennis, L.; Enjalbert, F. Rates and efficiencies of reactions of ruminal biohydrogenation of linoleic acid according to pH and polyunsaturated fatty acids concentrations. *Reprod. Nutr. Dev.* **2006**, *46* (6), 713-724. DOI:10.1051/rnd:2006046

Troegeler-Meynadier, A.; Puaut, S.; Farizon, Y.; Enjalbert, F. Effects of the heating process of soybean oil and seeds on fatty acid biohydrogenation in vitro. *J. Dairy Sci*. **2014**, *97* (9), 5657-5667. DOI:10.3168/jds.2013-7783

Ulbricht, T.L.V.; Southgate, D.A.T. Coronary heart disease: seven dietary factors - review. *Lancet,* **1991**, *338* (8773), 985-992. DOI:10.1016/0140-6736(91)91846-m

Vadiveloo, J.; Holmes, W. Supplementary feeding of grazing cattle. *Grass and forage Science*, **1979**, *34* (3), 173-179. DOI:10.1111/j.1365-2494.1979.tb01464.x

Vahmani, P.; Aalhus, J.L.; Rolland, D.C.; McAllister, T.A.; Prieto, N.Á.; Block, H.C.; Proctor, S.D.; Guan, L.L.; Dugan, M.E. Sequential feeding of lipid supplement enriches beef adipose tissues with 18:3*n-3* biohydrogenation intermediates. *Lipids*, **2017a**, *52* (7)*,* 641-649. DOI:10.1007/s11745-017-4259-9

Vahmani, P.; Mapiye, C.; Prieto, N.; Rolland, D.C.; McAllister, T.A.; Aalhus, J.L.; *et al.* The scope for manipulating the polyunsaturated fatty acid content of beef: a review. *J. Anim. Sci. Biotechnol*. **2015a**, *6* (29), 1-13. DOI:10.1186/s40104-015-0026-z

Vahmani, P.; Meadus, W.J.; Turner, T.D.; Duff, P.; Rolland, D.C.; Mapiye, C., *et al.* Individual *trans* 18:1 isomers are metabolized differently and have distinct effects on lipogenesis in 3 T3-L1 adipocytes. *Lipids* **2015b**, *50* (2), 195–204. DOI: 10.1007/s11745-014-3982-8

Vahmani, P.; Ponnampalam, E.N.; Kraft, J.; Mapiye, C.; Bermingham, E.N.; Watkins, P.J.; Proctor, S.D.; Dugan, M.E.R. Bioactivity and health effects of ruminant meat lipids. Invited Review. *Meat Sci.* **2020**, *165*, 108-114. DOI:10.1016/j.meatsci.2020.108114

Vahmani, P.; Rolland, D.C.; Mapiye, C.; Dunne, P.G.; Aalhus, J.L.; Juarez, M.; McAllister, T.A.; Prieto, N.; Dugan, M.E.R. Increasing desirable polyunsaturated fatty acid concentrations in fresh beef intramuscular fat. *CAB Reviews*, **2017b**, *12* (20), 1-17. DOI:10.1079/PAVSNNR201712020

Vahmani, P.; Salazar, V.; Rolland, D.C.; Gzyl, K.E.; Dugan, M.E.R. Iso- but not anteiso-branched chain fatty acids exert growth-inhibiting and apoptosis-inducing effects in MCF-7 cells. *J. Agric. Food Chem.* **2019**, *67* (36), 10042–10047. DOI:10.1021/acs.jafc.9b03549

Valsta, L.M.; Tapanainen, H.; Männistö, S. Meat fats in nutrition. *Meat Sci.* **2005**, *70* (3), 525-530. DOI: 10.1016/j.meatsci.2004.12.016

Van Elswyk, M.E.; McNeill, S.H. Impact of grass/ forage feeding versus grain finishing on beef nutrients and sensory quality: The U.S. experience. *Meat Sci.* **2014**, *96*, 535-540. DOI:10.1016/j.meatsci.2013.08.010

Van Nevel, C.; Demeyer, D. Influence of pH on lipolysis and biohydrogenation of soybean oil by rumen contents *in vitro*. *Reprod Nutr Dev*. **1996**, *36*, 53–63. DOI:10.1051/rnd:19960105

Van Ranst, G.; Lee, M.; Fievez, V. Red clover polyphenol oxidase and lipid metabolism. *Animal,* **2011**, *5* (4), 512–21. DOI: 10.1017/S1751731110002028

Van Soest, P.J. *Nutritional ecology of the ruminant*. 2nd Edition, Cornell University Press, 1994, pp 325-336.

Van Soest, P.J.; Robertson, J.B. *Analysis of forages and fibrous foods a laboratory manual for Animal Science*. Cornell University Press, 1985.

Vannice, G.; Rasmussen, H. Position of the academy of nutrition and dietetics: dietary fatty acids for healthy adults. *J Acad Nutr Diet*. **2014**, *114*, 136-53. DOI: 10.1016/j.jand.2013.11.001.

Varela, A. Estudio de las variables que afectan a la producción del tipo 'Cebón'. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela, 2002.

Varela, A.; Oliete, B.; Moreno, T.; Portela, C.; Monserrat, L.; Carballo, J.A.; Sánchez, L. Effect of pasture on the meat characteristics and intramuscular fatty acid profile of steers of Rubia Gallega breed. *Meat Sci.* **2004**, *67* (3), 515-522. DOI: 10.1016/j.meatsci.2003.12.005

Varela, A.; Sánchez, L.; Monserrat, L.; Carballo, J.A. y Dios, A. Efecto del sexo y la edad en la composición tisular de terneros de la Indicación Geográfica Protegida Ternera Gallega. *Buiatría Española,* **1997**, *7* (2 A-B), 125-130.

Vargas, J.E.; Andrés, S.; Snelling, T.J.; López-Ferreras, L.; Yáñez-Ruíz, D.R.; García-Estrada, C.; López, S. Effect of sunflower and marine oils on ruminal microbiota, *in vitro* fermentation and digesta fatty acid profile. *Front. Microbiol*. **2017**, *8* (Article 1124), 1-15. DOI:10.3389/fmicb.2017.01124

Varnan, A.; Sutherland, J. The colour of meat. In *Meat and meat products-technology, chemistry and microbiology.* Chapman & Hall, 1995; p. 26.

Vartha, E.W.; Matches, A.G.; Thompson, G.B. Yield and quality trends of tall fescue grazed with different subdivisions of pasture. *Agronomy J.* **1977***, 69* (6), 1027-1029. DOI:10.2134/agronj1977.00021962006900060031x

Vasta, V.; Bessa, R.J.B. Manipulating Ruminal Biohydrogenation by the Use of Plants Bioactive Compounds. In: *Dietary Phytochemicals and Microbes*, Patra, A.K. (ed.), Springer, Dordrecht, 2012, pp 263-284. DOI 10.1007/978-94-007-3926-0_9

Vasta, V.; Daghio, M.; Cappucci, A.; Buccioni, A.; Serra, A.; Viti, C.; Mele, M. Invited review: Plant polyphenols and rumen microbiota responsible for fatty acid biohydrogenation, fiber digestion, and methane emission: Experimental evidence and methodological approaches. *J. Dairy Sci.* **2019**, *102* (5), 3781–3804. DOI:10.3168/jds.2018-14985

Vasta, V.; Makkar, H.P.S.; Mele, M.; Priolo, A. Ruminal biohydrogenation as affected by tannins *in vitro*. *Br. J. Nutr*. **2009a**, 102, 82–92. DOI: 10.1017/S0007114508137898

Vasta, V.; Mele, M.; Serra, A.; Scerra, M.; Luciano, G.; Lanza, M.; Priolo, A. Metabolic fate of fatty acids involved in ruminal biohydrogenation in sheep fed concentrate or herbage with or without tannins. *J. Anim. Sci.* **2009b**, 87 (8), 2674–2684. DOI: 10.2527/jas.2008-1761

Vestergaard, M.; Madsen, N.T.; Bligaard, H.B.; Bredahl, L.; Rasmussen, P.T.; Andersen, H.R. Consequences of two or four months of finishing feeding of culled dry dairy cows on carcass characteristics and technological and sensory meat quality. *Meat Sci.* **2007**, *76* (4), 635-643. DOI: 10.1016/j.meatsci.2007.02.001

Vestergaard, M.; Therkildsen, M. Henckel, P.; Jensen, L.R.; Andersen, H.R. y Sejrsen, K. Influence of feeding intensity, grazing and finishing feeding on meat and eating quality of young bulls and the relationships between muscle fibre characteristics, fibre fragmentation and meat tenderness. *Meat Sci.* **2000**, *54* (2), 187-195. DOI: 10.1016/s0309-1740(99)00098-4

Vlaeminck, B.; Fievez, V.; Demeyer, D.; Dewhurst, R.J. Effect of forage: concentrate ratio on fatty acid composition of rumen bacteria isolated from ruminal and duodenal digesta. *Journal of Dairy Science*, **2006b**, *89* (7), 2668-2678. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72343-8

Vlaeminck, B.; Fievez, V.; Cabrita, A.R.J.; Fonseca, A.J.M.; Dewhurst, R.J. Factors affecting odd- and branched-chain fatty acids in milk: A review. *Anim. Feed Sci. Tech.* **2006a**, *131* (3-4), 389–417. DOI:10.1016/j.anifeedsci.2006.06.017

Vlaeminck, B.; Gervais, R.; Rahman, M.M.; Gadeyne, F.; Gorniak, M.; Doreau, M. *et al*. Postruminal synthesis modifies the odd- and branched chain fatty acid profile from the duodenum to milk. *J. Dairy Sci.* **2015***, 98* (7), 4829-4840. DOI:10.3168/jds.2014-9207

Walker, C.G.; Browning, L.M.; Mander, A.P.; Madden, J.; West, A.L.; Calder, P.C.; Jebb, S.A. Age and sex differences in the incorporation of EPA and DHA into plasma fractions, cells and adipose tissue in humans. *Br. J. Nutr*. **2014**, *111* (4), 679-689. DOI:10.1017/S0007114513002985

Wang, X.; Gupta, J.; Kerslake, M.; Rayat, G.; Proctor, S.D.; Chan, C.B. *Trans*-11 vaccenic acid improves insulin secretion in models of type 2 diabetes in vivo and in vitro. *Molecular Nutrition & Food Research,* **2016**, *60* (4), 846–857. DOI:10.1002/ mnfr.201500783

Wang, Y.; Jacome-Sosa, M.; Proctor, S. The role of ruminant *trans* fat as a potential nutraceutical in the prevention of cardiovascular disease. *Food Res. Int.* **2012**, *46* (2), 460-468.

Wang, Y.; Jacome-Sosa, M.; Vine, D.F.; Proctor, S.D. Beneficial effects of vaccenic acid on postprandial lipid metabolism and dyslipidemia: Impact of natural *trans*-fats to improve CVD risk. *Lipid Technology,* 2010, *22* (5), 103–106. DOI:10.1002/lite.201000016

Waters, S.M.; Kelly, J.P.; O'Boyle, P.; Moloney, A.P.; Kenny, D.A. Effect of level and duration of dietary *n-3* polyunsaturated fatty acid supplementation on the transcriptional regulation of Δ9-desaturase in muscle of beef cattle. *J. Anim. Sci.* **2009**, *87*, 244-252. DOI:10.2527/jas.2008-1005

Webb, E.C.; O'Neill, H.A. The animal fat paradox and meat quality: review. *Meat Sci.* **2008**, *80*, 28-36. DOI: 10.1016/j.meatsci.2008.05.029

Weglarz, A. Meat quality defined based on pH and colour depending on cattle category and slaughter season. *Czech Journal of Animal Science*, **2010a**, *55* (12), 548–556. DOI:10.17221/2520-CJAS

Weglarz, A. Quality of beef from semi-intensively fattened heifers and bulls. *Animal Science Papers and Reports*, **2010b**, *28* (3), 207-218. http://free-journal.umm.ac.id/files/file/str_207-218.pdf

Wei, J.; Hou, R.; Xi, Y.; Kowalski, A.; Wang, T.; Yu, Z.; Hu, Y.; Chandrasekar, E.K.; Sun, H.; Ali, M.K. The association and dose-response relationship between dietary intake of α-linolenic acid and risk of CHD: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Br. J. Nutr.* **2018**, *119* (1), 83-89. DOI: 10.1017/S0007114517003294. PMID: 29355094

Welch, A.A.; Shakya-Shrestha, S.; Lentjes, M.A.; Wareham, N.J.; Khaw, K.T. Dietary intake and status of *n-3* polyunsaturated fatty acids in a population of fish-eating and non-fish-eating meat-eaters, vegetarians, and vegans and the precursor-product ratio of α-linolenic acid to long-chain *n-3* polyunsaturated fatty acids: results from the EPIC-Norfolk cohort. *Am. J. Clin. Nutr*. **2010**, *92* (5), 1040-1051. DOI: 10.3945/ajcn.2010.29457

Wheeler, T.L.; Shackelford, S.D.; Koohmaraie, M. The accuracy and repeatability of untrained laboratory consumer panelists in detecting differences in beef longissimus tenderness. *J. Anim. Sci.* **2004**, *82* (2), 557–562. DOI:10.2527/2004.822557x

WHO/FAO. Joint WHO/FAO Expert Consultation on Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. *WHO Technical Report Series*, **2003**, *916*. http://www.fao.org/DOCREP/005/AC911E/AC911E00.HTM y http://www.who.int/hpr/NPH/docs/who_fao_expert_report.pdf.

Wijendran, V.; Hayes, K.C. Dietary *n-6* and *n-3* fatty acid balance and cardiovascular health. *Annu. Rev. Nutr*. **2004**, *24*, 597–615. DOI:10.1146/annurev.nutr.24.012003.132106

Williams, C. Dietary fatty acids and human health. *Annales de Zootechnie*, **2000**, *49* (3), 165–180. DOI: 10.1051/animres:2000116

Williams, C.D.; Whitley, B.M.; Hoyo, C.; Grant, D.J.; Iraggi, J.D.; Newman, K.A.; Gerber, L.; Taylor, L.A.; McKeever, M.G.; Freedland, S.J. A high ratio of

dietary *n-6*/*n-3* polyunsaturated fatty acids is associated with increased risk of prostate cancer. *Nutr. Res.* **2011**, *31*, 1-8. DOI:10.1016/j.nutres.2011.01.002

Williamson, C.S.; Foster, R.K.; Stanner, S.A.; Buttriss, J.L. Red meat in the diet. *Nutrition Bulletin,* 2005, *30* (4), 323-355. DOI:10.1111/j.1467-3010.2005.00525.x

Winger, R.; Hagyard, C. Juiciness—Its importance and contributing factors. In: *Quality Attributes and Their Measurement in Meat, Poultry and Fish Products*. Pearson, A.M., Dutson, T.R., Eds; Gaithersburg, MA: Aspen Publishing, **1999**; pp. 94–116.

Wismer-Pedersen, J. Química de los tejidos animales. En: *Ciencia de la carne y los productos cárnicos.* Price, J.F. y Schweigert, B.S. Edit. Acribia, 1994; Cap. 3, p. 125.

Wongtangtintharn, S.; Oku, H.; Iwasaki, H.; Toda, T. Effect of branched-chain fatty acids on fatty acid biosynthesis of human breast cancer cells. *J. Nutr. Sci. Vitaminol*. **2004**, *50* (2), 137-143. DOI: 10.3177/jnsv.50.137

Wood, J.D.; Richardson, R.I.; Nute, G.R.; Fisher, A.V.; Campo, M.M.; Kasapidou, E.; Sheard, P.R.; Enser, M. Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat Sci.* **2004**, *66*, 21-32. DOI: 10.1016/S0309-1740(03)00022-6

Wood, J.D.; Enser, M.; Fisher, A.V.; Nute, G.R.; Sheard, P.R.; Richardson, R.I.; Hugles, S.I.; Whittington, F.M. Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Sci.* **2008**, *78* (4), 343-358. DOI:10.1016/j.meatsci.2007.07.019

Woods, V.B.; Fearon, A.M. Dietary sources of unsaturated fatty acids for animals and their transfer into meat, milk and eggs: A review. *Livest Sci.* **2009**, *126* (1-3), 1–20. DOI:10.1016/j.livsci.2009.07.002

Wright, I.A. The response of spring born suckled calves to the provision of supplementation feeding when grazing two sward heights in autumn. *Anim. Prod.* **1992***, 54* (2), 197-202. DOI: 10.1017/S0003356100036801

Wright, I.; Russel, A.; Hunter, E. The effect of winter food level on compensatory growth of weaned, suckled calves grazed at two sward heights. *Anim. Sci*. **1986**, *43* (2), 211-223. DOI:10.1017/S0003356100002397

Yang, B.; Chen, H.; Stanton, C.; Ross, R.P.; Zhang, H.; Chen, Y.Q.; Chen, W. Review of the roles of conjugated linoleic acid in health and disease. *J. Func. Foods*, **2015**, 15, 314–325. DOI:10.1016/j.jff.2015.03.050

Yeates, N.T.M.; Edey, T.N.; Hill, M.K. The definition and measurement of meat quality. Tenderness. Animal science - reproduction, climate, meat, wool. Edit. N.T.M. Yeates, Edey, T.N.; Hill, M.K. Pergamon Press, 1975.

Yurawecz, M.P.; Kramer, J.K.G.; Yuoh, K. Methylation procedures for conjugated linoleic acid. In *Advances in Conjugated Linoleic Acid research*, 1999, Volume 1, Chapter 6, pp 64-88.

Yurawecz, M.P.; Morehouse, K.M. Silver-ion HPLC of conjugated linoleic acid isomers. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*. **2001**, *103* (9), 609-613. DOI:10.1002/1438-9312(200109)103:9<609::AID-EJLT6090>3.0.CO;2-8

Zea, J.; Díaz, M.D. Efecto de la raza, sexo y alimentación suplementaria sobre el acabado y la calidad de la carne de terneros acabados en pastoreo. *Memoria CRIDA-01*; 1980.

Zea, J.; Díaz, M.D. Efecto de la carga y la suplementación en el acabado a los 16-17 meses de terneros Frisones (enteros y castrados) o gallegos. *Memoria CRIDA-01*; 1981.

Zea, J.; Díaz, M.D. *Producción de carne con pastos y forrajes*. Edit. Mundi prensa; 1990, 389 pp.

Zea, J.; Díaz, M.D. (2008). *Producción de carne con forraxes ensiladas*. Ed Consellería do Medio Rural, Xunta de Galicia.

Zea, J.; Díaz, M.D.; Carballo, J.A. El efecto del sistema de producción y del sexo en la calidad de la carne de vacuno joven. *Arch. Zootec*. **2007**, *56* (216), 817-828.

Zened, A.; Enjalbert, F.; Nicot, M.C.; Troegeler-Meynadier, A. Starch plus sunflower oil addition to the diet of dry dairy cows results in a *trans*-11 to *trans*-10 shift of biohydrogenation. *J. Dairy Sci.* **2013***, 96*, 451-459. DOI:10.3168/jds.2012-5690

Zened, A.; Meynadier, A.; Cauquil, L.; Mariette, J.; Klopp, C.; Dejean, S.; Gonzalez I., Bouchez O., Enjalbert F., Combes, S. *Trans*-11 to trans-10 shift of ruminal biohydrogenation of fatty acids is linked to changes in rumen microbiota. Gut Microbiology 2016.In *Proceedings of the 10th Joint Symposium on Gut Microbiology*, 2016 June 20-23 (Clermont-Ferrand), 150.

Zhou, L.; Nilsson, A. Sources of eicosanoid precursor fatty acid pools in tissues. *J. Lipid Res.* **2001**, *42* (10), 1521-1542. DOI: 10.1016/S0022-2275(20)32206-9

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

ANEXO

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

10. ANEXO

A continuación, se presenta la relación de publicaciones derivadas de la investigación desarrollada por la doctoranda que se reproducen total o parcialmente en los capítulos indicados de la presente tesis. La contribución de la doctoranda engloba el tratamiento de datos, la discusión de resultados obtenidos y la redacción de los artículos, figurando por tanto como la autora correspondiente durante el seguimiento de las revisiones y/o correcciones pertinentes.

- CAPÍTULO I => **Effect of supplementing different oils: Linseed, sunflower and soybean, on animal performance, carcass characteristics, meat quality and fatty acid profile of veal from "Rubia Gallega" calves.**

Autores: Laura González [a,*], Teresa Moreno [a], Esperanza Bispo [a], Michael E.R. Dugan [b], Daniel Franco [a]

[a] Departamento de Producción Animal, Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (C.I.A.M), AGACAL, Apdo 10, 15080 A Coruña, España

[b] Lacombe Research Centre, Agriculture and Agri-Food Canada, Lacombe, Alberta T4L 1W1, Canada

Año Publicación: 2014

Revista: *Meat Science, Volume* 96, Issue 2, Part A, pp. 829-836.

Código de identificación: https://DOI.org/10.1016/j.meatsci.2013.09.027

Editorial: Elsevier BV (Netherlands)

ISSN: 03091740

Indicios de calidad: El factor de impacto de la revista *Meat Science* en el año 2014 fue de IF: 3,15 con un índice SCImago Journal Rank (SJR): 1,482 (Q1); ocupando ese año la posición 17 dentro de la categoría de *Food Science* perteneciente al área temática *Agricultural and Biological Sciences* según el *Scimago Journal & Country Rank*.

Autorización de la editorial para el uso de la publicación en la tesis: https://www.elsevier.com/about/policies/copyright

- CAPÍTULO II => **Feeding oilseeds and hay free choice to "Rubia Gallega" heifers does not substantially alter *trans*-18:1 in veal.**

Autores: Laura González [a,*], Teresa Moreno [a], Esperanza Bispo [a], Michael E.R. Dugan [b]

[a] Departamento de Producción Animal, Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (C.I.A.M), AGACAL, Apdo 10, 15080 A Coruña, España

[b] Lacombe Research Centre, Agriculture and Agri-Food Canada, Lacombe, Alberta T4L 1W1, Canada

Año Publicación: bajo revisión desde noviembre de 2020 (ID: AN20599)

Revista: *Animal Production Science*

Código de identificación:

Editorial: CSIRO (Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation) Publishing. (Australia)

ISSN: 18365787, 18360939

Indicios de calidad: El factor de impacto de la revista *Animal Production Science* en el año 2019 fue de SJR: 0,562 (Q2), ocupando las posiciones 112 y 125 dentro de las categorías de *Food Science* y *Animal Science and Zoology*, respectivamente, pertenecientes ambas al área temática *Agricultural and Biological Sciences* según el *Scimago Journal & Country Rank*.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA