

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

ESCOLA TÈCNICA SUPERIOR D'ENGINYERIA
AGRONÒMICA I DEL MEDI NATURAL



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



Escuela Técnica Superior
de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural

INCLUSIÓN DE SUBPRODUCTOS DE PULPA DE CÍTRICOS EN DIETAS DE CERDOS DE CEBO: RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS Y ESTUDIO DE LA SALUD INTESTINAL

TRABAJO FIN DE GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS
ALIMENTOS

ALUMNA: Dña. Victoria Valverde Sempere

TUTORA: Dña. Ana Isabel Jiménez Belenguer

COTUTOR: D. Pablo Ferrer Riera

DIRECTOR EXPERIMENTAL: D. Salvador Calvet Sanz

Curso académico: 2019-2020

VALENCIA, SEPTIEMBRE DE 2020

Licencia *Creative Commons* "Reconocimiento no Comercial - Sin Obra Derivada".



RESUMEN

En la actualidad, la carne de cerdo es una de las más consumidas en el mundo, por lo que se espera que su producción aumente en los próximos años. Por lo tanto, la industria alimentaria proporciona posibles materias primas alternativas para la alimentación animal a través de sus subproductos, que tienen una menor carga ambiental. Existen gran variedad de subproductos que pueden ser utilizados en alimentación porcina, entre los que se encuentra la pulpa cítrica, que es un subproducto típicamente mediterráneo que se obtiene de la extracción de zumo de cítricos. El hecho de que se pueda deshidratar, aumenta el interés de su utilización. El principal objetivo de este trabajo es determinar el efecto de la inclusión de subproductos de pulpa de cítricos en dietas de cerdos de cebo: Rendimientos productivos y estudio de la salud intestinal. Para el ensayo productivo, que se llevó a cabo en la unidad experimental de cebo del Centro de Investigación y Tecnología Animal (CITA) del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), se utilizaron 160 cerdos de 25 kg de peso. Éstos fueron distribuidos de forma homogénea en 32 corrales a razón de 5 animales por corral. Después, se le asignó un tratamiento experimental a cada corral. Durante el periodo experimental, a los animales se les realizaron controles de peso quincenales y ecografías del espesor de la grasa dorsal y profundidad del lomo. También se llevó a cabo el control del consumo por corral. Una vez fueron sacrificados, en matadero se tomaron medidas de espesor de grasa, pH, color de las canales y se tomaron muestras de grasa subcutánea para analizar los ácidos grasos. Para el ensayo de la microbiota intestinal, se tomaron muestras de heces de 2 animales de cada corral, con las que se realizó un pool, obteniendo de esa manera una sola muestra por corral. Después, las muestras se sembraron en distintos medios de cultivo para finalmente proceder a la lectura de las colonias crecidas en cada uno de los medios. El análisis de ácidos grasos de las muestras obtenidas en matadero se llevó a cabo mediante cromatografía de gases.

Los resultados obtenidos en los recuentos microbiológicos, no mostraron diferencias significativas en ninguno de los grupos de microorganismos analizados, aunque el aumento de los niveles de pulpa cítrica en las dietas disminuye las enterobacterias fecales, los anaerobios totales y el recuento de lactobacilos en las heces y aumenta la cantidad de bifidobacterias. No se encontraron diferencias significativas en relación a la calidad de la carne y la canal para los parámetros peso y rendimiento de la canal, profundidad de lomo y color de la carne, entre los distintos tratamientos. En el perfil de ácidos grasos, fue menor la concentración de ácidos grasos totales, de ácidos grasos saturados y ácidos grasos poliinsaturados y mayor la de ácidos grasos monoinsaturados para el tratamiento 4 (24% de inclusión de pulpa cítrica).

En conclusión, es posible modificar la composición de los piensos de cerdos de engorde con la inclusión de un 24% de pulpa cítrica sin efectos negativos sobre la salud intestinal, calidad de la carne y la canal y perfil de ácidos grasos de la grasa subcutánea.

Palabras clave: Porcino, pulpa cítrica, subproductos, salud intestinal, características de la canal.

ALUMNA: Victoria Valverde Sempere

TUTORA: Ana Isabel Jiménez Belenguer

COTUTOR: Pablo Ferrer Riera

DIRECTOR EXPERIMENTAL: Salva Calvet Sanz

Valencia, septiembre de 2020

RESUM

En l'actualitat, la carn de porc és una de les més consumides en el món, per la qual cosa s'espera que la seua producció augmente en els pròxims anys. Per tant, la indústria alimentària proporciona possibles matèries primeres alternatives per a l'alimentació animal a través dels seus subproductes, que tenen una menor càrrega ambiental. Hi ha gran varietat de subproductes que poden ser utilitzats en alimentació porcina, entre els quals es troba la polpa cítrica, que és un subproducte típicament mediterrani que s'obté de l'extracció de suc de cítrics. El fet que es pugui deshidratar, augmenta l'interés de la seua utilització. El principal objectiu d'aquest treball és determinar l'efecte de la inclusió de subproductes de polpa de cítrics en dietes de porcs d'esquer: Rendiments productius i estudi de la salut intestinal. Per a l'assaig productiu, que es va dur a terme en la unitat experimental d'esquer del Centre d'Investigació i Tecnologia Animal (CITA) de l'Institut Valencià d'Investigacions Agràries (IVIA), es van utilitzar 160 porcs de 25 kg de pes. Aquests van ser distribuïts de forma homogènia en 32 corrals a raó de 5 animals per corral. Després, se li va assignar un tractament experimental a cada corral. Durant el període experimental, als animals se'ls van realitzar controls de pes quinzenals i ecografies de la grossària del greix dorsal i profunditat del llom. També es va dur a terme el control del consum per corral. Una vegada van ser sacrificats, en escorxador es van prendre mesures de grossària de greix, pH, color de les canals i es van prendre mostres de greix subcutani per a analitzar els àcids grassos. Per a l'assaig de la microbiota intestinal, es van prendre mostres d'excrements de 2 animals de cada corral, amb les que es va realitzar un pool, obtenint d'eixa manera una sola mostra per corral. Després, les mostres es van sembrar en distints medis de cultiu per a finalment procedir a la lectura de les colònies crescudes en cada un dels medis de cultiu. L'anàlisi d'àcids grassos de les mostres recollides a l'escorxador es van analitzar mitjançant la cromatografia de gasos.

Els resultats obtinguts al recompte microbiològic, no es van trobar diferències significatives en cap dels grups de microorganismes analitzats, encara que l'augment dels nivells de polpa cítrica en les dietes disminueix les enterobacteries fecals, els anaerobis totals i el recompte de lactobacils en els excrements i augmenta la quantitat de bifidobactèries. No es van trobar diferències significatives relacionades amb la qualitat de la carn i la canal per als paràmetres pes i rendiment de la canal, profunditat del llom i color de la carn, entre els diferents tractaments. En el perfil d'àcids grassos, va ser menor la concentració d'àcids grassos totals, d'àcids grassos saturats i d'àcids grassos poliinsaturats i major la d'àcids grassos monoinsaturats per al tractament 4 (24% d'inclusió de polpa cítrica).

En conclusió, és possible modificar la composició dels pinsos de porcs d'engreixament amb la inclusió d'un 24% de polpa cítrica sense efectes negatius per a la salut intestinal, qualitat de la carn i la canal i perfil d'àcids grassos de la grassa subcutània.

Paraules clau: Porcí, polpa cítrica, subproductes, salut intestinal, característiques de la canal.

ALUMNA: Victoria Valverde Sempere

TUTORA: Ana Isabel Jiménez Belenguer

COTUTOR: Pablo Ferrer Riera

DIRECTOR EXPERIMENTAL: Salva Calvet Sanz

Valencia, septiembre de 2020

ABSTRACT

At present, pork is one of the most consumed in the world, so its production is expected to increase in the coming years. Therefore, the food industry provides possible alternative raw materials for animal feed through its by-products, which have a lower environmental burden. There is a wide variety of by-products that can be used in pig feed, among which is citrus pulp, which is a typically Mediterranean by-product obtained from the extraction of citrus juice. The fact that it can be dehydrated, increases the interest of its use. The main objective of this work is to determine the effect of the inclusion of citrus pulp by-products in diets of fattening pigs: productive yields and study of intestinal health. For the productive trial, which was carried out in the experimental fattening unit of the Animal Research and Technology Center (CITA) of the Valencian Institute of Agricultural Research (IVIA), 160 pigs weighing 25 kg were used. These were distributed homogeneously in 32 farmyards at the rate of 5 animals per farmyard. Afterwards, an experimental treatment was assigned to each farmyard. During the experimental period, the animals were subjected to fortnightly weight controls and ultrasound scans of the thickness of the back fat and the depth of the back. Consumption control per farmyard was also carried out. Once the animals were slaughtered, measurements were taken in the slaughterhouse of the thickness of the fat, pH and color of the carcasses and samples of subcutaneous fat were taken to analyze the fatty acids. For the intestinal microbiota test, stool samples were taken from 2 animals from each farmyard, which were pooled, thus obtaining only one sample per farmyard. Then, the samples were sown in different culture media to finally read the grown colonies in each of the media. The fatty acid analysis of the samples obtained at the slaughterhouse was carried out by gas chromatography.

The results obtained in the microbiological counts, did not show significant differences in any of the groups of microorganisms analyzed, although the increase in the levels of citrus pulp in the diets decreases the faecal enterobacteria, total anaerobes and the count of lactobacilli in the faeces and increases the amount of bifidobacteria. No significant differences in meat and carcass quality were found for carcass weight and yield, loin depth and meat colour parameters between the different treatments. In the fatty acid profile, the concentration of total fatty acids, saturated fatty acids and polyunsaturated fatty acids was lower and the concentration of monounsaturated fatty acids was higher for treatment 4 (24% of citrus pulp inclusion).

In conclusion, it is possible to modify the composition of feed for fattening pigs with the inclusion of 24% citric pulp without negative effects on intestinal health, meat and carcass quality and the fatty acid profile of the subcutaneous fat.

Keywords: Pigs, citrus pulp, by-products, intestinal health, carcass characteristics

ALUMNA: Victoria Valverde Sempere

TUTORA: Ana Isabel Jiménez Belenguer

COTUTOR: Pablo Ferrer Riera

DIRECTOR EXPERIMENTAL: Salva Calvet Sanz

Valencia, septiembre de 2020

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, a mi tutora, Ana Jiménez, por confiar en mí y darme la oportunidad de realizar este trabajo y ayudarme en todo momento. A Pablo Ferrer, por guiarme y prestarme su ayuda siempre que la he necesitado. A Salva Calvet, por la ayuda facilitada cuando me ha hecho falta. A los tres, gracias por todo.

Doy gracias a Elia Sanchis, mi compañera de carrera y de Trabajo de Fin de Grado, por ayudarme en todo. Gracias por hacer más llevaderas todas las horas de granja y laboratorio. Sin ti, no habría sido lo mismo.

A David, por aguantarme y apoyarme en todos mis años de carrera y estar ahí en todo momento, compartiendo buenos y malos momentos.

A mis padres y hermana. Especialmente a mi madre, porque aunque ya no estés con nosotros, si he llegado hasta aquí, ha sido gracias a ti.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. SOSTENIBILIDAD DEL SECTOR PORCINO.....	1
1.1.1. IMPORTANCIA DEL SECTOR PORCINO.....	1
1.1.2. SUBPRODUCTOS AGROINDUSTRIALES Y SOSTENIBILIDAD GANADERA.....	1
1.1.3. SUBPRODUCTOS UTILIZADOS EN ALIMENTACIÓN PORCINA	2
1.2. PULPA DE CÍTRICOS COMO INGREDIENTE EN ALIMENTACIÓN PORCINA....	3
1.2.1. SECTOR CITRÍCOLA	3
1.2.2. LOS SUBPRODUCTOS DE LA INDUSTRIA CITRÍCOLA	3
1.2.3. LA PULPA CÍTRICA	4
1.3. SALUD INTESTINAL EN PORCINO	5
1.3.1. CARCTERIZACIÓN DE LA MICROBIOTA INTESTINAL EN CERDOS	6
1.3.2. MICROORGANISMOS INDICADORES	7
1.4. ALIMENTACIÓN ANIMAL Y CALIDAD DE LOS PRODUCTOS CÁRNICOS.....	9
1.4.1. ALIMENTACIÓN PORCINA	9
1.4.2. CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL.....	10
1.4.3. CALIDAD DE LA CARNE	11
2. OBJETIVOS	13
3. MATERIAL Y MÉTODOS	14
3.1. UBICACIÓN DEL ESTUDIO E INSTALACIONES	14
3.2. ANIMALES Y TRATAMIENTOS EXPERIMENTALES.....	14
3.3. PERIODO EXPERIMENTAL	15
3.4. REGISTROS Y MUESTREOS	16
3.4.1. RENDIMIENTO PRODUCTIVO	16
3.4.2. ANÁLISIS DE LA MICROBIOTA.....	17
3.4.3. CALIDAD DE LA CARNE Y LA CANAL.....	18
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	21
4.1. RESULTADOS DE GANANCIA MEDIA DIARIA, CONSUMO MEDIO DIARIO E ÍNDICE DE CONVERSIÓN	21
4.2. ESTUDIO DE LA MICROBIOTA Y SALUD INTESTINAL.....	21
4.3. CALIDAD DE LA CARNE Y DE LA CANAL	23
4.4. ANÁLISIS DE ÁCIDOS GRASOS	24
5. CONCLUSIONES.....	26
6. BIBLIOGRAFÍA	27

1. INTRODUCCIÓN

1.1. SOSTENIBILIDAD DEL SECTOR PORCINO

1.1.1. IMPORTANCIA DEL SECTOR PORCINO

El sector porcino español tiene una importancia clave en la economía de nuestro país ya que supone en torno al 14% de la Producción Final Agraria. Dentro de las producciones ganaderas, el sector porcino ocupa el primer lugar en cuanto a su importancia económica alcanzando cerca del 39% de la Producción Final Ganadera.

A nivel mundial, la UE-28 es el segundo productor de carne de porcino, después de China. Individualmente, España es la cuarta potencia productora (después de China, EEUU, y Alemania), mientras que, a nivel europeo, España ocupa el segundo en producción con un 19% de las toneladas producidas (datos 2018, Fuente: EUROSTAT y SG Análisis, Coordinación y Estadística, MAPA), por detrás de Alemania, y es el primer país de la UE en censo, con cerca del 21% del censo comunitario (datos 2018, Fuente: EUROSTAT y SG Análisis, Coordinación y Estadística, MAPA).

Durante los últimos años el sector porcino ha crecido notablemente, tanto en producción, como en censos y en número de explotaciones, gracias al empuje de los mercados exteriores apoyado, a su vez, en la competitividad del sector en el mercado mundial.

Este aumento de la producción, ha incrementado la ya elevada tasa de autoabastecimiento, (170,9 % en 2018, Fuente: SG Análisis, Coordinación y Estadística, Datacomex-AEAT, INE) lo que convierte a la exportación en un elemento esencial para el equilibrio del mercado. Con una balanza comercial muy positiva, España se ha consolidado como segundo mayor exportador de porcino de la UE, solo por detrás de Alemania, aumentando espectacularmente las exportaciones a terceros países, especialmente a China y otros países del Sudeste asiático (MAGRAMA. Servicio general de estadísticas, 2018).

1.1.2. SUBPRODUCTOS AGROINDUSTRIALES Y SOSTENIBILIDAD GANADERA

Los subproductos agroindustriales constituyen hoy en día una alternativa útil al empleo de las materias primas utilizadas habitualmente en la elaboración de los piensos que permiten abaratar costes y promover la eficiencia global del sector ganadero, mediante el uso de recursos locales. Por un lado, la utilización de subproductos en alimentación animal permite reducir la dependencia del ganado de los granos de cereales y oleaginosas que son utilizados para la alimentación humana. Por otro lado, esto ofrece ventajas a nivel medioambiental, ya que estos subproductos pueden generar gran cantidad de residuos que deberían destruirse o eliminarse mediante la implantación de un programa de manejo y eliminación de residuos que, en general, suele ser bastante costoso para la industria (Grasser, *et al.*, 1995).

En la industria alimentaria se generan multitud de subproductos con elevado potencial de aprovechamiento que en la actualidad no se utilizan y suponen un gasto y problemas medioambientales. Existe una gran diferencia entre considerar estos productos como residuos, en cuyo caso acabarían en un vertedero controlado, a gestionarlos como subproductos, donde se puede obtener un beneficio económico derivado de esta gestión. Por lo tanto, los subproductos pueden utilizarse para la extracción de sustancias de alto valor añadido, alimentación animal, obtención de compost, aprovechamiento energético y elaboración de nuevos alimentos y obtención de materias primas (Fernández Ginés *et al.*, 2008).

Las principales ventajas que presenta la utilización de subproductos para la alimentación animal son:

- No se emplea superficie agrícola para su cultivo, como ocurre en el caso de los cereales.
- Reducción del impacto ambiental asociado a la elaboración de los piensos; menor uso de recursos naturales, fertilizantes, maquinaria para cosecharlos, etc.

- Menor emisiones derivadas del transporte, como ocurre con la soja que se emplea para la fabricación de los piensos, que es importada de América.
- Permite incrementar la disponibilidad de alimentos al servicio de los ganaderos.
- Posibilita la disminución de costes.
- Contribuye a reducir la contaminación ambiental que estos residuos podrían generar al ser liberados al medio sin gestión y control.

Resumiendo, el aprovechamiento de subproductos de origen agroindustrial en alimentación animal puede suponer una ventaja económica y medioambiental para el sector, incrementando su rentabilidad y sostenibilidad.

1.1.3. SUBPRODUCTOS UTILIZADOS EN ALIMENTACIÓN PORCINA

La región mediterránea cuenta con una importante tradición agroindustrial. Los subproductos agroindustriales disponibles para alimentación animal en esta zona pueden ser de origen muy diverso y variable, e incluyen restos de frutas y hortalizas y productos derivados de procesos industriales como pulpas de frutas, subproductos de cereales o de la producción de biocombustibles (tortas de oleaginosas y granos secos de destilerías (DDGS)).

Para poder utilizar con seguridad una materia prima en alimentación animal que sea poco conocida o en una especie distinta a la habitual es importante conocer los factores que afectan a su variabilidad, valor nutritivo y grado de aprovechamiento, así como su impacto en el producto final (carne, huevo y leche) mediante ensayos in vivo (Zijlstra y Beltranena, 2013).

La industria agroalimentaria a través de sus subproductos ofrece potenciales materias primas alternativas para alimentación animal que, por su condición de subproductos, conllevan una menor carga ambiental asociada. En este sentido estudios recientes sugieren que la inclusión de subproductos en los piensos puede contribuir a la reducción de la huella de carbono de los productos animales, debido a su carácter local (Del Prado *et al.*, 2013).

Algunos subproductos agroindustriales como la harina de colza o los DDGS ya se utilizan con éxito en alimentación de porcino. Su valor nutricional es conocido e incluso cuentan con ecuaciones de predicción que lo estiman en función de su composición. Sin embargo, en España, existen otros subproductos fácilmente disponibles durante todo el año, para los que la información sobre composición, valor nutritivo y límites de inclusión en las raciones es prácticamente escasa. Esta falta de información puede llevar a realizar un mal uso de ellos e incluso a infravalorarlos o desestimarlos por no cumplir expectativas cuando se incluyen en los piensos. Este es el caso de subproductos típicamente mediterráneos como los subproductos del olivar y de los cítricos. Éstos han sido principalmente estudiados en alimentación de rumiantes (Bampidis y Robinson, 2006; Gharbi y Benarif, 2011). Sin embargo, su composición y la incorporación de sistemas de deshidratación a las industrias que generan estos subproductos hace que su uso resulte cada vez más interesante en monogástricos, especialmente porcino. Además, teniendo en cuenta la importancia del sector porcino español, la utilización de subproductos en la alimentación de esta especie constituye una vía rápida de valorización contribuyendo a la sostenibilidad y rentabilidad del sistema productivo.

Uno de los países donde se han utilizado los residuos agroindustriales para la alimentación de animales como el ganado vacuno, el porcino y otras especies es Cuba. Con relación a esto, según el Instituto de Investigación Porcina y la FAO (1994) en la isla se han utilizado algunos subproductos agrícolas en la alimentación de los cerdos, como follaje del boniato, foliares del plátano y residuos de frutas cítricas. Por ejemplo, el follaje del boniato o batata se caracteriza por ser principalmente una fuente de proteína y vitaminas que ha sido usado para reemplazar un 10 % de los piensos comerciales consumidos por cerdos destetados (6 a 12 kg) con resultados satisfactorios (Vargas y Pérez, 2018).

Algunos alimentos naturales como las pasturas, o subproductos de la industrialización de alimentos como las pulpas, pueden ser efectivos como promotores de la fermentación en el intestino grueso. En este sentido, las dietas para cerdos podrían verse beneficiadas con la incorporación de cantidades moderadas de este tipo de insumos, que pueden ser potencialmente utilizados como fuentes de fibra fermentable en dietas para cerdos, especialmente en los lechones de destete (Cajarville *et al.*, 2011).

1.2. PULPA DE CÍTRICOS COMO INGREDIENTE EN ALIMENTACIÓN PORCINA

1.2.1. SECTOR CITRÍCOLA

España figura entre los 10 primeros productores mundiales de cítricos, frutas y hortalizas. Ocupa la quinta posición como productor mundial de naranjas (junto con China, Brasil, Estados Unidos, y México) y de mandarinas (junto con China y Japón).

La producción mundial de cítricos ha aumentado un 17 % por el crecimiento en países como China y la India (IVACE, 2018).

Al terminar 2018, en España había 304.619 hectáreas dedicadas al cultivo de los cítricos, un 2% más que en 2017, que se concentraban en el litoral este y suroeste de la península, especialmente en la Comunidad Valenciana (60%), exportando las tres cuartas partes (76%) del total de España (IVACE, 2018), Andalucía (25%), Murcia (10%) y Cataluña (3%).

En cuanto a las actividades relativas a la confección y comercialización de cítricos para su comercio en fresco, éstas se concentran mayoritariamente en la Comunidad Valenciana (MERCASA, 2019).

Si hablamos de la Comunidad Valenciana, la superficie de cultivo dedicada a frutales cítricos se aproxima a un 31% del total de la Comunidad y aportan un 50% del valor final producido, frente al 10 % que representan otras frutas.

Destaca la producción de la provincia de Valencia, con un 62% de la producción citrícola total de la CV y principalmente en naranjas, Castellón en mandarina y Alicante en limón (IVACE, 2018).

1.2.2. LOS SUBPRODUCTOS DE LA INDUSTRIA CITRÍCOLA

Los residuos de la industria cítrica pueden clasificarse como líquidos o sólidos. Los principales residuos líquidos identificados en el proceso de transformación de cítricos incluyen: los de la línea de extracción de jugo, los del lavado de la cáscara, y aquellos obtenidos en el proceso de centrifugación en la línea de recuperación de aceites esenciales, teniendo diferentes usos y aplicaciones, como pueden ser:

- **Recuperación y aplicaciones de ingredientes bioactivos:** Las frutas y vegetales contienen gran variedad de sustancias con actividad biológica, como las vitaminas (A, E y C), compuestos fenólicos, carotenoides, tocoferoles, ácidos orgánicos, fibra dietética, entre otros, han sido ampliamente estudiados.
- **Aplicaciones como aditivos en alimentos:** Son múltiples las aplicaciones de residuos de cítricos como aditivos en alimentos.
- **Cáscara de cítricos como matriz alimentaria:** La ingeniería de matrices utiliza la técnica de impregnación al vacío como mecanismo de incorporación de disoluciones suspensiones o emulsiones que contienen componentes fisiológicamente activos sobre estructuras alimentarias porosas, como es el caso de la corteza de los cítricos.
- **Aplicaciones farmacéuticas:** El interés farmacéutico de los compuestos presentes en los residuos de cítricos se basa en el uso de estos materiales en medicina tradicional y la descripción reciente de sus propiedades farmacológicas.
- **Producción de alimentos para animales:** El aumento de los costos de disposición de residuos ha aumentado el interés en la utilización de los subproductos cítricos como

alimentos alternativos para animales, especialmente pulpa de cítricos frescos, ensilado de cítricos, pulpa seca, harina de cáscaras de cítricos y melazas de cítricos.

- **Aplicaciones de la pectina cítrica:** La fibra dietética abarca una gran variedad de macromoléculas, mostrando una amplia gama de propiedades fisicoquímicas. En los cítricos, los componentes químicos de la fibra son: pectina, lignina, celulosa y hemicelulosa. De hecho, la pectina cítrica tiene mejor calidad que otras fuentes de fibra dietética debido a la presencia de compuestos bioactivos asociados (flavonoides y vitamina C) con propiedades antioxidantes, que pueden ejercer efectos biológicos beneficiosos.
- **Biocombustibles:** Los residuos de cítricos contienen carbohidratos solubles e insolubles, siendo una materia prima ideal para la conversión biológica a biocombustibles como el etanol y el biogás (Londoño-Londoño, *et al.*, 2012).

1.2.3. LA PULPA CÍTRICA

La pulpa cítrica es el subproducto resultante de la extracción de zumo de los cítricos y el proceso de obtención es el siguiente:

1. LAVADO. El proceso de extracción del zumo comienza con el lavado de la fruta que elimina hojas, suciedad y aceites de la corteza que pueden contener residuos de pesticidas.
2. SEPARACIÓN DE ACEITES Y CÁSCARA. En una primera etapa se separan los aceites esenciales de la cáscara (d-limoneno de alto amargor) por presión del fruto entero.
3. EXTRACCIÓN DEL ZUMO. A continuación, se realizan cortes en la corteza para la extracción del zumo.
4. SEPARACIÓN DE LA PULPA. Piel, membranas, pulpa y semillas.

El zumo obtenido se filtra para separar la pulpa flotante, y el residuo se añade a la pulpa. La pulpa se conduce a silos de almacenaje para su transporte y consumo directo en explotaciones próximas de rumiantes, o bien se seca para su despectinizado y para producir pellets para alimentación animal. Durante el secado se añade hidróxido o carbonato cálcico para facilitar la liberación del agua unida y se realiza un prensado para separar las melazas. El residuo se seca en tambores giratorios y, entre el 20 al 50% de las melazas se incorporan a la pulpa, lo que oscurece su color, aumenta su contenido en azúcares y disminuye proporcionalmente el contenido en fibra insoluble. La pulpa fresca también se ensila fácilmente, sin necesidad de ningún tratamiento por estar triturada, aunque se recomienda ensilarla junto con paja de cereales para reducir efluentes y pérdida de azúcares, y aumentar la fibra efectiva del ensilado (García Rebollar, 2019).

La pulpa resultante está formada por la piel (60-65%), segmentos del fruto (30-35%) y semillas (0-10%). En el proceso de extracción del zumo, la pulpa representa un 60% del peso fresco del producto a exprimir, aunque la variabilidad del dato es elevada (49 a 69%). El contenido medio en materia seca de la pulpa es de un 20%. No se observan diferencias significativas en la composición química correlacionadas con el contenido de materia seca, aunque éste es variable. La forma de utilización de este subproducto puede ser en fresco, ensilado o deshidratado. Dado que en el proceso de deshidratación se añade sodio o hidróxido de calcio para aumentar el pH y facilitar la liberación de agua, la pulpa de cítricos fresca suele tener un contenido de calcio menor respecto a la pulpa deshidratada. El uso de pulpa de cítricos húmeda es casi exclusivo para el rumiante, y sólo se justifica en zonas cercanas al centro de producción por el coste de transporte.

La composición química de la pulpa de cítricos depende de su origen (naranja, limón...). Cuando el contenido de limón aumenta, el contenido en pectinas aumenta y el de proteína disminuye. En general, tiene un contenido bajo en proteína bruta (8% sobre materia seca) y en extracto etéreo (3% sobre materia seca). El contenido en hidratos de carbono estructurales es de un 26% de FND y un 23% de FAD, sobre materia seca, siendo esta fibra poco efectiva (33%) para el rumiante. El

contenido en lignina es muy bajo y el de cenizas de un 5%, sobre materia seca. Este contenido en cenizas varía en función de la cantidad de neutralizante (óxido o hidróxido de calcio) que a menudo se usa para neutralizar el pH de este subproducto. La pulpa de cítricos tiene un elevado contenido en carbohidratos solubles (20%) y en pectinas (30%) (FEDNA, 2018).

La pulpa seca de cítricos contiene cantidades relativamente grandes de pectinas y carbohidratos solubles. Además, se han identificado varios compuestos bioactivos que promueven la salud, como el limoneno, la hesperidina, la naringina, la quercetina y los bioflavonoides en la pulpa de cítricos. Contreras Esquivel *et al.*, (1999) y Sen *et al.*, (2011) informaron que los subproductos de la industria del jugo de cítricos tienen las características necesarias requeridas para los sustratos de crecimiento probiótico durante la fermentación.

Por su composición (niveles elevados de fibra, niveles moderados de grasa y contenido en polifenoles), este subproducto estaría inicialmente indicado en las fases de cebo y gestación en ganado porcino, donde podrá ejercer un efecto importante sobre el consumo de pienso, microbiota intestinal y bienestar animal.

1.3. SALUD INTESTINAL EN PORCINO

Un tracto gastrointestinal (GIT) que funcione de manera óptima claramente es importante para el metabolismo general, fisiológico, estado de la enfermedad y rendimiento de los cerdos en todas las etapas del crecimiento y desarrollo. Recientemente, la "salud" del GIT ("salud intestinal") ha atraído mucha atención a pesar de la falta de una definición clara de término o su etiología, aunque en términos generales, "salud intestinal" abarca una serie de características funcionales que incluyen digestión y absorción de nutrientes, metabolismo del huésped y generación de energía, una microbiota estable y apropiada, mecanismos de defensa que incluyen la función de barrera y mecanismos inmunes de la mucosa y las interacciones entre estos componentes (Pluske *et al.*, 2018).

Potenciar la salud intestinal de los cerdos se ha convertido en una prioridad para el sector porcino, ya que permite mejorar su rendimiento productivo, minimizando los costes de producción y logrando el máximo nivel posible de Bienestar Animal que sea aceptado por la sociedad.

La definición de salud intestinal dependerá de a quién le preguntemos y de a qué circunstancias o factor nos refiramos.

Bischoff propone 5 criterios para medir la salud intestinal:

1. Digestión efectiva y absorción de nutrientes, agua y minerales.
 - Deposiciones regulares tiempo de tránsito normal y sin dolor abdominal.
 - Consistencia normal de las heces, ausencia de náuseas, vómitos, diarrea, estreñimiento y distensión abdominal.
2. Ausencia de enfermedades en el tracto gastrointestinal (TGI), sin enfermedades del estómago, como ulceraciones, ni intolerancias a carbohidratos o deficiencias enzimáticas.
3. Microbiota normal y estable, sin crecimientos anormales de unas especies bacterianas sobre otras y sin diarreas asociadas a infecciones o parasitaciones.
4. Un estado inmunitario efectivo, con una función eficaz de la barrera gastrointestinal:
 - Producción efectiva y normal de moco, sin translocaciones bacterianas.
 - Niveles normales de IgA.
 - Tolerancia inmunológica y actividad normal de las células inmunes con ausencia de hipersensibilidad de la mucosa.
5. Un estado de bienestar difícil de identificar en animales de producción pero que puede ser medido con niveles de serotonina normales y en ausencia de marcadores de estrés (Morillo Alujas, 2019).

1.3.1. CARACTERIZACIÓN DE LA MICROBIOTA INTESTINAL EN CERDOS

La microbiota intestinal de los mamíferos tiene muchas funciones favorables para el huésped, como la digestión y la fermentación de carbohidratos, la producción de vitaminas, el mantenimiento de la función normal de las vellosidades intestinales, la regulación de la respuesta inmune y la resistencia a las bacterias patógenas.

En el intestino del cerdo se encuentran alrededor de 100 billones de bacterias (1.000 especies). Este conjunto de bacterias se denomina microbiota. En cada fase de producción del animal, esta microbiota es diferente. No solo varía dependiendo de la edad del animal, sino que en cada tramo del intestino vamos a encontrar diferencias tanto cualitativas como cuantitativas. Es decir, estamos ante una estructura extremadamente compleja que se ve alterada fácilmente por numerosos factores. Si se enumeran las principales áreas de producción porcina (genética, alimentación, sanidad, bioseguridad...) vamos a darnos cuenta de que todos ellos, ya sea de forma directa o indirecta, van a condicionar lo que acabamos de definir como microbiota intestinal (Pérez Esteruelas, 2019). Es por ello, que factores como la alimentación (y en este caso, la inclusión de productos como la pulpa cítrica en el pienso), puede incidir en la microbiota intestinal de los cerdos.

Un tracto gastrointestinal que funcione de manera óptima es claramente importante para el metabolismo general, la fisiología, el estado de la enfermedad y el rendimiento de los cerdos en todas las etapas de crecimiento y desarrollo. La importancia de las bacterias en el tracto gastrointestinal de los animales es ampliamente reconocida como sustancial. Sin embargo, se sabe muy poco acerca de la composición y distribución de la población microbiana en el tracto intestinal inferior de los animales. Debido a que la mayoría de las especies bacterianas en los intestinos de cerdo no se han cultivado, ha sido difícil analizar la diversidad bacteriana mediante métodos de cultivo convencionales (Hyeun, *et al.*, 2011).

Como hemos dicho, actualmente, es imposible aislar y caracterizar todas las bacterias mediante el cultivo bacteriológico, pero gracias a los avances de las técnicas moleculares como la secuenciación masiva, se pueden caracterizar grupos específicos de bacterias (Pérez Esteruelas, 2019).

La diversidad genética de la microbiota intestinal contribuye al desarrollo general y las necesidades metabólicas del animal, y proporciona al huésped muchas funciones beneficiosas, incluida la producción de ácidos grasos volátiles, el reciclado de sales biliares, la producción de vitamina K, la digestión con celulosa y la Desarrollo del sistema inmunológico (Hyeun y Richard, 2015).

Existen bacterias comensales y beneficiosas en el intestino, además de bacterias patógenas. La mayoría de las bacterias comensales y beneficiosas pertenecen a los filos *Firmicutes* y *Bacteroidetes*. Las bacterias patógenas que se suelen encontrar son *Proteobacterias* (Pérez Esteruelas, 2019).

A modo de conocimiento para situar cada especie en su lugar, se esquematiza a continuación (**Figura 1**) dónde se colocaría cada una de las especies más conocidas.

En un cerdo sano, se sabe que los filos más prevalentes son *Firmicutes* y *Bacteroidetes*. Estos dos filos suponen más del 90% de la población. Los géneros más prevalentes de *Firmicutes* son los Clostridiales (la mayoría son bacterias comensales que no causan patogenicidad como *Clostridium butyricum*) y los Bacilli. En el caso de *Bacteroidetes* son Bacteroides y Prevotella. Hay que tener en cuenta que aunque estos dos filos constituyan un alto porcentaje de la microbiota intestinal, existen otros filos de especial importancia como *Proteobacteria*, la cual incluye a todas las enterobacterias (*E.coli*, *Salmonella*...), *Actinobacteria*, *Spirochaetes* y *Verrucomicrobia*.

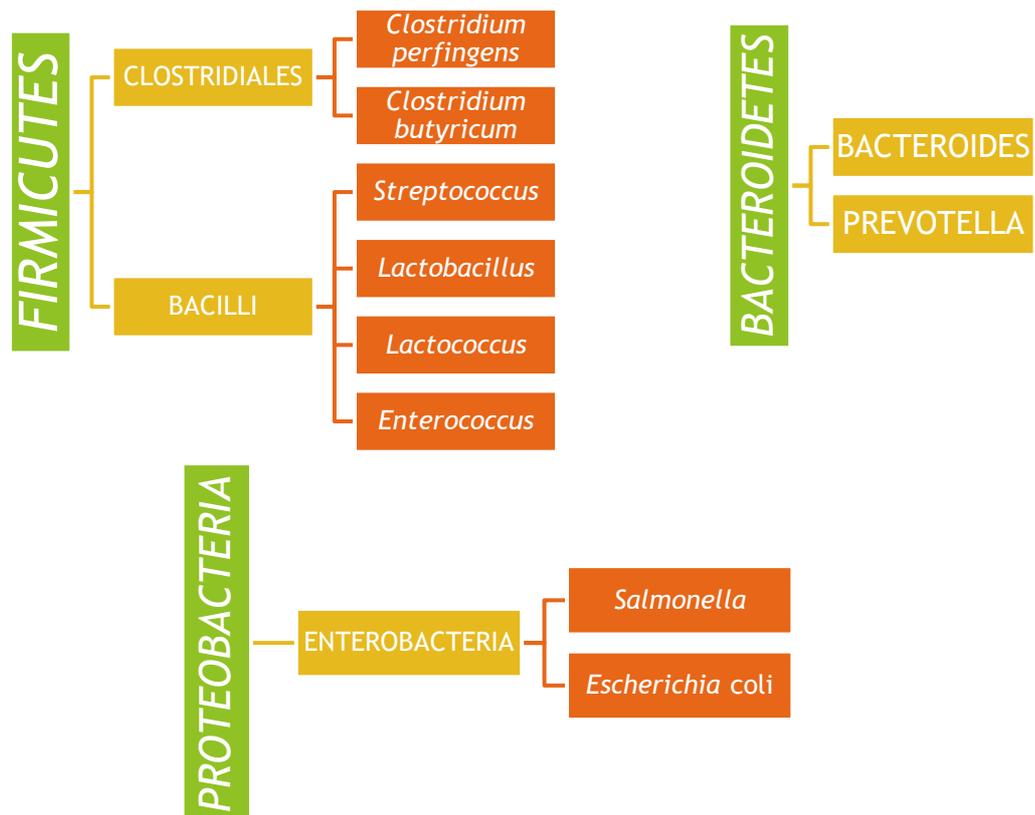


Figura 1: Clasificación de los filos (verde), géneros (amarillo) y especies (rojo) más representativos (Adaptación de Argüello et al., 2018).

Se consideran bacterias beneficiosas para la salud intestinal microorganismos del género y *Bifidobacterium* y bacterias del ácido láctico (*Lactobacillus spp*, algunas especies de *Streptococcus*), mientras que algunas especies de los géneros *Bacteroides*, *Clostridium* y de la familia de *Enterobacteriaceae*, debido a sus actividades metabólicas o a su potencial patógeno, se consideran perjudiciales. Así, mediante la utilización de ingredientes con capacidad prebiótica, se pretende potenciar los grupos bacterianos considerados beneficiosos para el huésped y controlar los grupos bacterianos considerados perjudiciales (Roca Canudas, 2008).

Conforme a lo descrito por Adams y Moss (1997), los microorganismos anaerobios estrictos tales como *Bacteroides* y *Bifidobacterium* constituyen hasta el 99% de la microbiota del intestino grueso y de las heces. Los representantes de *Enterobacteriaceae*, en particular *Escherichia coli*, normalmente se hallan presentes a razón de aproximadamente 10^6g^{-1} , los enterococos se encuentran en torno a 10^5g^{-1} , *Lactobacillus*, *Clostridium* y *Fusobacterium* en recuentos se observan de a 10^3g^{-1} a 10^5g^{-1} , además de otros muchos organismos, como por ejemplo levaduras, estafilococos y *Pseudomonas*, aunque en menores cantidades.

Cabe destacar que durante la fase de lactación la microbiota de los lechones es más homogénea y, además, el número de especies diferentes (riqueza) es inferior. Esto se debe fundamentalmente al tipo de alimentación que reciben durante sus primeros días de vida (leche materna) (Pérez Esteruelas, 2019).

1.3.2. MICROORGANISMOS INDICADORES

1.3.2.1. *Lactobacillus*

Los microorganismos del género *Lactobacillus* son bacilos grampositivos anaerobios facultativos, no esporulados, delgados, de tamaño variable y que pueden formar cadenas. Son parte de la flora normal de la cavidad bucal, el tracto gastrointestinal y genitourinario femenino. Su presencia en

muestras clínicas pasa frecuentemente desapercibida debido a sus especiales requerimientos de crecimiento y a su elevado tiempo de incubación (Cabrera, *et al.*, 2010).

En cuanto a su temperatura óptima de crecimiento, pueden ser mesófilos o termófilos. Suelen crecer entre 2°C y 53°C, aunque su temperatura óptima es de 30-40°C. El pH óptimo de crecimiento oscila entre 5,5 y 6,2. Son anaerobios aerotolerantes y su crecimiento se ve favorecido en atmósfera microaerófila con un 5-10% de CO₂. Desde el punto de vista fenotípico y atendiendo a sus características metabólicas, se pueden clasificar en tres grupos en función de la presencia o ausencia de los enzimas *fructosa-1,6- difosfato aldolasa* y *fosfoacetolasa* (Kandler y Weiss, 1986): homofermentativos obligados, homofermentativos facultativos y heterofermentativos.

1.3.2.2. *Bifidobacterium*

Las bifidobacterias son microorganismos Gram-positivos, anaerobios estrictos (aunque el grado de sensibilidad al oxígeno depende de la especie), inmóviles, no esporulados y catalasa negativos. Presentan una gran variedad de formas: cocoide, con protuberancias y/o bifurcaciones, con extremos espatulados o cadenas estrelladas. Su nombre hace referencia a las formas bífidas con dos ramas en Y o V que presentan en ocasiones (Delgado, 2005).

Las bifidobacterias fueron descritas por vez primera por Tissier a comienzos del siglo pasado, quien las denominó *Bacillus bifidus*. A partir de los años 50 pasaron a denominarse *Lactobacillus bifidus*, para constituir más tarde el género *Bifidobacterium*. Aunque poseen algunas características comunes con las BAL, y en muchas ocasiones se incluyen dentro de éstas por razones prácticas, el género *Bifidobacterium* pertenece en realidad a la subdivisión *Actinomycetes* con un alto contenido cromosómico en G+C (>50%) (Axelsson, 1998).

Su temperatura de crecimiento oscila entre 36-38°C para las especies de origen humano y 41-43°C para las especies de origen animal. No existe crecimiento a temperaturas menores de 20°C y las bacterias pertenecientes a este género no resisten bien temperaturas mayores de 46°C, *Bifidobacterium bifidum* muere a 60°C (Rasic y Kurmann, 1983).

El pH óptimo para el crecimiento de las bifidobacterias se sitúa entre 6 y 7 y la temperatura óptima de crecimiento alrededor de los 37°C, aunque según Scardovi (1986), a pHs menores o iguales, el crecimiento es muy lento o incluso nulo. No existe crecimiento a pH menor de 4,0 o mayor de 8,0.

1.3.2.3. Enterobacterias

La familia Enterobacteriaceae constituye un grupo grande y heterogéneo de bacterias gramnegativas. Reciben su nombre por la localización habitual como saprofitos en el tubo digestivo, aunque se trata de gérmenes ubicuos, encontrándose de forma universal en el suelo, el agua y la vegetación, así como formando parte de la flora intestinal normal de muchos animales además del hombre. *Escherichia coli* es el microorganismo de vida libre que mejor se ha estudiado. Estas bacterias pueden ser móviles (la mayoría) o inmóviles, la mayor parte de ellas fermentan la lactosa y son capaces de producir indol a partir de triptófano (Puerta-García y Mateos-Rodríguez, 2010).

E. coli, es un organismo mesófilo que crece a temperaturas entre 7-10°C hasta 50°C, con una temperatura óptima en torno a 37°C. No obstante, según Pascual Anderson (1989), lo que ocurre es que muchas de sus reacciones bioquímicas funcionan mejor a 44°C que a 37°C. El calor los destruye a 60°C en 15 minutos y a 55°C en 1 hora. Un pH casi neutro es óptimo para su crecimiento, aunque puede crecer a pH inferior a 4,4 siendo por otra parte óptimas las demás condiciones de crecimiento. Su actividad del agua (a_w) mínima para su crecimiento es de 0,95 (Adams y Moss, 1997).

1.3.2.4. Anaerobios totales

Anaerobios son aquellos microorganismos que sólo pueden desarrollarse en ausencia de cantidades significativas de oxígeno (O₂) y bajo condiciones de potenciales redox (Eh) muy reducidos, por tanto, son estrictos en cuanto a sus exigencias ambientales. Las formas vegetativas mueren cuando son expuestos al oxígeno molecular libre en la atmósfera, aunque el grado de resistencia bajo estas condiciones es variable (aerotolerancia) (Rivas y Mota, 2018).

Las bacterias anaerobias constituyen un grupo heterogéneo de microorganismos desde un punto de vista morfológico, estructural, fisiológico y genético, pues engloban cocos, bacilos y espiroquetas, grampositivos y gramnegativos, aespurulados y esporulados, móviles o inmóviles, con cápsula o sin ella... con vías evolutivas diferenciadas que tienen en común que necesitan la ausencia de oxígeno para crecer (García-Sánchez, *et al.*, 2015).

Uno de los microorganismos anaerobios más comunes en el tracto gastrointestinal es el *Clostridium perfringens* normalmente se encuentra en el suelo y en el tracto gastrointestinal del hombre y de los animales bovinos y porcinos (Heymann, 2005). En cultivo sus colonias son negras con halo de bordes regulares y su temperatura óptima de crecimiento es de 43°C a 47°C, como máximo 50°C, un pH de 7,5 y a_w de 0,9 (Burgeois y Mescle, 1994).

1.4. ALIMENTACIÓN ANIMAL Y CALIDAD DE LOS PRODUCTOS CÁRNICOS

1.4.1. ALIMENTACIÓN PORCINA

La alimentación representa alrededor del 65% de los costes de producción, por ello debe establecerse como una prioridad. No es suficiente que una dieta cumpla con las necesidades nutricionales de los cerdos, la formulación debe obedecer las normativas oficiales que rigen en cada país para el uso y fabricación de alimentos. Asimismo, el alimento debe ser fácil de conservar y suministrar, asumiendo la gran variedad de instalaciones (comederos y bebederos) utilizadas en las distintas etapas de los cerdos. Sin embargo, el objetivo fundamental de la formulación de una dieta es que contenga los nutrientes necesarios en las cantidades correctas y equilibradas (García-Contreras *et al.*, 2012).

El consumo voluntario en los cerdos es regulado por varios factores. Estos factores directamente afectan la ingesta de alimento y pueden aumentar o disminuir la ingesta total.

La comprensión y el control de estos factores es necesario para maximizar el consumo de alimento. Si el consumo de alimento se limita, el animal no puede lograr la deposición de proteínas máxima, y como resultado, la tasa de crecimiento será limitada.

Es esencial controlar los factores que afectan el consumo de alimento para asegurar una alimentación adecuada del animal y que la ingesta no se restrinja. El consumo de alimento es el factor más significativo que hará determinar si los cerdos en crecimiento alcanzan un rendimiento óptimo.

Esos factores que influyen en el consumo del alimento son:

- a) Factores fisiológicos: Género y genotipo.
- b) Factores ambientales: Espacio en los corrales, diseño del comedero, enfermedades, etc.).
- c) Factores nutricionales: Forma del alimento, uso de antibióticos u otros aditivos, etc.)

(Paulino, 2016).

De acuerdo con Ricardo (2013), los parámetros para la valoración de las necesidades nutricionales se clasifican según el contenido de los nutrientes y son los siguientes:

- **Energía:** La energía en sí no se considera como nutriente, pero se libera a través de alimentos que contienen lípidos (grasas) y carbohidratos. La principal fuente de energía en la alimentación porcina son los cereales o derivados.
- **Proteína:** Habitualmente se propone un rango del contenido en proteína bruta por la falta de información sobre el contenido en aminoácidos, que es lo realmente limitante

para el pienso. Se clasifican en completas o incompletas. La completa es de origen animal y posee nueve aminoácidos esenciales y la incompleta de origen vegetal y carecen mínimo de uno de los aminoácidos esenciales, pero se pueden combinar y generar una completa. El más limitante es la lisina y por tanto para las necesidades se deberán realizar en función de este aminoácido.

- **Fibra dietética:** Las fuentes de fibra se suelen proporcionar en mayor número de ocasiones como Fibra Neutro Detergente (FND) que como Fibra Bruta (FB). Contiene lignina, celulosa... y se digiere de forma limitada por lo que es difícil recomendar una cantidad óptima. Generalmente se emplea para mejorar el confort intestinal sin provocar reducciones en la ingesta del pienso por parte de los cerdos.
- **Minerales:** Los minerales se pueden clasificar en 2 grupos (macrominerales y microminerales), en función de la cantidad que los ingredientes aportan al pienso para realizar las funciones fisiológicas pertinentes. Dependiendo de la forma química con la que se introduzca estos minerales en la dieta del porcino, será aprovechado de una forma diferente por el animal, o lo que se conoce también como biodisponibilidad.
- **Vitaminas y oligoelementos:** Las vitaminas y oligoelementos son sustancias aditivas que hasta el momento no se conoce en detalle sus necesidades en la producción de porcino y se incorporan tanto en el pienso como en el agua de los bebederos.

1.4.2. CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL

De manera general, se entiende por canal el cuerpo del animal tras el desangrado y la retirada de las partes no adecuadas para consumo humano, las vísceras y otras porciones (Prändl, 1994).

De una forma más específica, el Reglamento 1308/2013, y a efectos del reciente R.D. 814/2018, se define «canal de cerdo» como el cuerpo de un cerdo sacrificado, sangrado y eviscerado, entero o partido por la mitad, sin la lengua, las cerdas, las pezuñas, los órganos genitales, pero con la manteca, los riñones y el diafragma.

Los factores y parámetros que determinan la calidad de la canal son: El peso y rendimiento de la canal y el espesor del tocino dorsal (ETD).

Tanto peso como el rendimiento de la canal vienen determinados por diversos factores, entre los que figuran factores intrínsecos (raza, individuo, sexo, edad), factores productivos (alimentación, sistema de explotación, aditivos y finalizadores) y factores pre-sacrificio y post-sacrificio (ayuno y transporte, temperatura y tiempo de refrigeración) (Sañudo *et al.*, 1997).

El rendimiento de la canal se refiere al coeficiente entre el peso de la canal y el peso vivo al sacrificio del animal, siendo éste mayor o menor dependiendo de la inclusión o no de la cabeza dentro de la canal. En el porcino se incluyen la piel, la cabeza y las patas íntegras (Poto, 2003).

El crecimiento muscular es el principal determinante del rendimiento de los animales productores de carne. La cantidad de carne producida está relacionada con la cantidad de fibras musculares y el crecimiento de la fibra muscular individual (Andersen, *et al.*, 2004).

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

Según Lakshmanan *et al.*, (1984), como durante el proceso de enfriamiento de la canal, esta sufre unos procesos de retraimiento, rugosidad y deformación, tanto de la grasa subcutánea como de la piel, es importante considerar el momento de toma de la medida, si es con la canal en caliente o ya enfriada.

En los últimos años, existe la tendencia de buscar canales y carne cada vez más magras y con menor contenido en grasa, por lo que en el mercado se ha establecido un predominio de razas con un ETD menor.

Wood *et al.*, (2004) informaron que en cerdos, cuando se acumulan cantidades excesivas de grasa, la consistencia de la grasa subcutánea puede disminuir de nuevo y esto se debe a la acumulación de mayores proporciones de predominio de ácido oleico (C18:1).

1.4.3. CALIDAD DE LA CARNE

Durante los últimos años, la industria porcina mundial ha experimentado un gran desarrollo, que involucra una creciente demanda en la calidad del producto final. El cliente no solamente exige cortes magros y que estos reúnan características deseables de color, textura, sabor y aroma, sino que además en muchos mercados, se exige que se cumplan estándares de bienestar animal (Jerez-Timaure, *et al.*, 2013).

No existe una calidad ideal, pero una de las definiciones más extendidas fue propuesta por Hammond (1955): “La calidad se puede definir como aquello que gusta al consumidor y por lo que está dispuesto a pagar más que el precio medio”.

Tanto la calidad de la canal como de la carne de cerdo se ve afectada por una serie de factores como la raza, el sexo o el sistema de cría, pero la alimentación se presenta como el principal factor de variación sobre estas características (De Jesús, *et al.*, 2017).

El color, la ternura, el sabor, la jugosidad y el aroma son uno de los principales parámetros para medir la calidad de la carne y se convertirán en uno de los factores más importantes que determinarán la elección y aceptación de la carne por parte del consumidor, que a su vez determinará el valor del producto en el momento de la comercialización. Según Nold (2006), el color del músculo, la firmeza o la humedad y el veteado son medidas que ayudan a predecir la calidad final de la carne de cerdo. Los rasgos de la carcasa de magra y musculación y la presencia del gen del estrés pueden afectar la calidad de la carne de cerdo.

La determinación del color de la grasa y del músculo es fundamental para ofrecer un producto tipificado al consumidor. No obstante, en el caso del músculo la medida es mucho más compleja debido a que la apariencia del color varía al estar condicionada por los procesos de oxidación y oxigenación de la mioglobina (Alberti *et al.*, 2005).

El pH de la carne va a influir sobre las características de color, terneza, sabor, capacidad de retención de agua y conservabilidad, de modo que va a afectar a las propiedades organolépticas de esa carne y, además, a su calidad higiénica y a su aptitud tecnológica para la elaboración de productos cárnicos (Galián, 2007). La medida de los valores de pH sobre los diferentes músculos de la canal tiene como finalidad comprobar la evolución de este parámetro durante los procesos de transformación en carne.

El pH desciende en los músculos hasta valores de 5,4 - 5,5 (Garrido y Bañón, 2000), pero una bajada inadecuada del pH puede producir una carne con mayor destrucción de proteína y por lo tanto, una mayor exudación y carnes más pálidas (Galián, 2007).

Se ha observado en varios estudios que la raza también es un factor que puede influir en el pH de la carne. Algunos resultados de comportamiento de razas puras demuestran que la raza Duroc presenta valores de pH final de 5,72, proporcionando carne más suave que la de los cerdos Landrace con un pH final de 5,64 (Rodney, 1999).

Otro factor que puede ser determinante en la calidad de la carne es la capacidad de retención de agua (CRA), que según Offer y Knight, (1988) es el término empleado para la propiedad de la carne por la que ésta conserva su agua de constitución durante la manipulación y retiene agua añadida durante el procesado. Es importante destacar que la pérdida o el aumento de agua afecta

al peso y al valor económico de la carne. El contenido y la distribución del agua afectarán a las características de la carne, especialmente a su jugosidad, ternura y apariencia.

Tras el sacrificio, parte de esta agua se pierde con la manipulación de la carne: por evaporación durante el enfriamiento de las canales; por goteo, como consecuencia de la sección de los tejidos; las mayores pérdidas de agua, sin embargo, se producen como consecuencia del cocinado de la carne, pérdidas que pueden superar el 40%. Los valores de capacidad de retención de agua, medidos por el método de presión oscilan entre 65-82% (Pla Torres, 2005).

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

A medida que el animal crece empieza a desarrollarse en mayor cantidad la producción de las grasas neutras, que son más pobres en ácidos grasos poliinsaturados. Wood *et al.* (2004) observaron cierta diferencia en la raza Duroc, donde los niveles de (18:2) son mayores y los de (18:1) menores de lo esperados, en comparación a otras razas como Large White, Tamworth y Berkshire, por lo que vemos un efecto también de la genética. Así a medida que el animal crece, la cantidad del esteárico (18:0) y oleico (18:1) aumentan, mientras que la del linoleico (18:2) decrece (Wood *et al.*, 2008). Esto se debe a que a medida que el animal va creciendo, la síntesis de novo de ácidos grasos es cada vez mayor (Wood *et al.*, 1984). Esto puede también explicar el hecho de que se haya una correlación negativa entre el grosor del panículo dorsal y la cantidad de 18:2n-6. Por ello la castración también afecta la cantidad de este ácido graso que es mayor en machos enteros que en castrados, los cuales tienen un menor grosor del panículo (Wood *et al.*, 2008).

2. OBJETIVOS

El aprovechamiento de subproductos de origen agroindustrial en alimentación animal puede suponer una ventaja económica y medioambiental para el sector, incrementando su rentabilidad y sostenibilidad.

En sectores como el porcino, alimentado mayoritariamente a base de concentrados y con un peso relevante en la agricultura y economía española, se espera que la inclusión de subproductos agroindustriales en los piensos conlleve un impacto económico positivo y la reducción de su carga medioambiental.

Además, para la industria agroalimentaria, la canalización de sus subproductos hacia alimentación animal debería suponer una vía prioritaria de eliminación frente a otras que no valoricen los nutrientes que éstos contienen.

Entre los subproductos agroindustriales más importantes en España se encuentra la pulpa de cítricos, característica de la zona mediterránea y su disponibilidad es elevada durante prácticamente todo el año. Además, este subproducto ofrece posibilidad de deshidratación, lo que incrementa su interés en especies monogástricas como el porcino. Por su composición, su valor nutricional puede ser aceptable en porcino y su uso beneficioso a nivel de fisiología digestiva, bienestar animal, calidad del producto final y características del purín.

Por todo ello, el objetivo principal del presente trabajo es determinar el efecto de la inclusión de subproductos de pulpa de cítricos en dietas de cerdos de cebo, más concretamente en los rendimientos productivos y la salud intestinal.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. UBICACIÓN DEL ESTUDIO E INSTALACIONES

En primer lugar, la formulación de los piensos se llevó a cabo en la unidad de Alimentación del Centro de Investigación y Tecnología Animal (CITA) del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA) en colaboración con el departamento de Producción Agraria de la Universidad Politécnica de Madrid (UPM). La fabricación de los piensos se llevó a cabo en la fábrica de piensos de la empresa NANTA S. A.

Los estudios productivos se realizaron en la unidad experimental de cebo porcino del CITA-IVIA, ubicado en Segorbe (Castellón).

Los análisis posteriores se llevaron a cabo en laboratorios de la Universitat Politècnica de Valencia (UPV). Los análisis microbiológicos de las heces se realizaron en laboratorios del departamento de Biotecnología y el análisis de ácidos grasos en laboratorios del departamento de Ciencia Animal.

Por último, el sacrificio de los animales tuvo lugar en el matadero “Cárnicas Frivall”, situado en Villar de Olalla (Cuenca).

3.2. ANIMALES Y TRATAMIENTOS EXPERIMENTALES

Para el ensayo productivo se dispuso de 160 cerdos machos castrados (Landrace x Large White) con un peso inicial de $25,3 \pm 3,02$ kg, los cuales fueron distribuidos de forma homogénea (dependiendo del peso inicial) en 32 corrales, a razón de 5 animales por corral, empleando como factor de bloqueo el peso. Posteriormente, a cada corral se le asignó uno de los 4 tratamientos experimentales, por lo que cada tratamiento contó con un total de 8 corrales.

Los animales fueron alimentados con un pienso comercial común a todos los animales desde su llegada a las instalaciones del CITA-IVIA hasta los 70 kg de peso vivo, momento en el que se inició la administración de los piensos experimentales.

Los 4 piensos experimentales (tratamientos) consistieron en un pienso basal formulado con cereales y soja (T1) y 3 piensos más con niveles crecientes de inclusión de pulpa cítrica (T2-8%, T3-16% y T4-24%). Los piensos experimentales se formularon para ser isonutritivos, reemplazando parte de la cebada por el porcentaje de pulpa cítrica correspondiente, ajustando los niveles de energía y proteína con soja y aceite de palma. De forma que, independientemente del tratamiento asignado, los animales obtuvieran los mismos nutrientes.

En la siguiente tabla (Tabla 1) se muestra la composición de los piensos (ingredientes) de los distintos tratamientos.

Tabla 1: *Ingredientes de los diferentes piensos expresados en %.*

MATERIA PRIMA	Tratamiento			
	1	2	3	4
CEBADA 2C (PB=9,6%)	24,0	16,0	8,0	0,0
MAIZ NACIONAL	20,0	20,0	20,0	20,0
TRIGO BLANDO (PB=10,2%)	35,0	34,3	33,6	33,0
HNA.SOJA 47	15,9	16,3	16,7	17,2
PULPA CIT-COPIG	0,0	8,0	16,0	24,0
AC. PALMA	1,74	2,18	2,62	3,06
CARBONATO CALCICO	1,19	0,89	0,60	0,31
FOSFATO MONOCALCICO	0,89	0,96	1,03	1,11
SAL MINA 96	0,33	0,32	0,31	0,30
BICARBONATO SÓDICO	0,20	0,20	0,20	0,20
DL METIONINA	0,034	0,042	0,050	0,058
SULFATO DE L-LISINA	0,348	0,359	0,369	0,380
L-TREONINA	0,054	0,059	0,064	0,069
CLORURO COLINA 75	0,06	0,06	0,06	0,06
PREMIX 0.3%	0,30	0,30	0,30	0,30

A continuación, se muestra en la **Tabla 2** la composición nutricional de los piensos ensayados.

Tabla 2: *Composición nutricional de los piensos expresados como porcentaje sobre materia seca (excepto la energía bruta).*

	Tratamiento			
	1	2	3	4
Materia Seca	89,23	89,05	88,46	88,58
Cenizas	5,06	5,38	5,21	5,13
Extracto Etéreo	3,32	3,68	3,90	4,31
Energía bruta (kcal/kg)	4391	4400	4420	4472
FND⁽¹⁾	12,56	13,55	13,98	13,22
FAD⁽²⁾	3,39	3,94	5,41	4,61
LAD⁽³⁾	0,40	0,41	0,41	0,19
Fibra Soluble	3,62	5,29	7,20	7,81
Proteína Bruta	18,00	17,60	17,55	17,49

⁽¹⁾Fibra neutro detergente. ⁽²⁾Fibra ácido detergente. ⁽³⁾Lignina

A lo largo de todo el periodo experimental los animales fueron alimentados con pienso peletizado del que dispusieron, así como del agua, *ad libitum*. Para ello, cada corral disponía de un comedero tipo tolva holandesa con bebedero de tetina.

3.3. PERIODO EXPERIMENTAL

La primera semana de ensayo se alimentó a los animales con pienso de pre-engorde y se realizó un control individual de peso y consumo por corral. A partir de esa primera semana los controles fueron quincenales, a excepción de las semanas próximas al cambio de pienso en que se intensificó la frecuencia de los mismos.

De la semana 2 a la 7, los animales se alimentaron con un pienso de crecimiento, siendo en ese periodo (semana 6) la realización de las primeras ecografías del espesor de grasa dorsal y profundidad del lomo.

Desde el inicio de la semana 8 hasta el final del ensayo (semana 14), los animales fueron alimentados con el pienso experimental. En la semana 13 se llevaron a cabo los muestreos de heces para su análisis microbiológico y en la semana 14 se volvieron a realizar ecografías. Al final de esta fase, tuvo lugar el sacrificio de los animales, (practicándose un ayuno durante aproximadamente 12 h antes del sacrificio en todos los animales), con el posterior muestreo en matadero y análisis de calidad de la canal.

En la **Figura 2** se muestra de manera gráfica la duración de las fases del experimento.

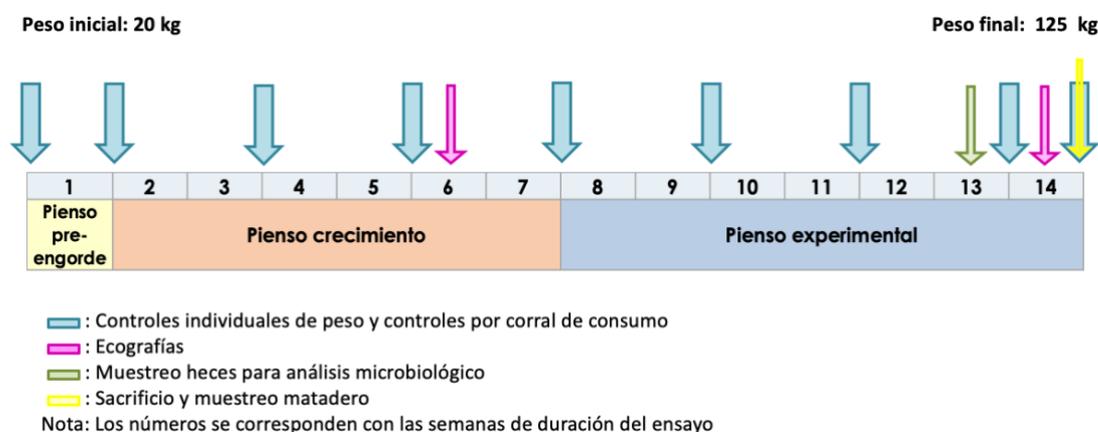


Figura 2: Detalle de las fases del ensayo en semanas

3.4. REGISTROS Y MUESTREOS

3.4.1. RENDIMIENTO PRODUCTIVO

A lo largo de todo el ensayo experimental, se fueron realizando controles quincenales de peso de forma individual, utilizando una balanza con estabilización de peso y tarado automático (Eziweigh 5, Tru Test, Nueva Zelanda).

Para el control de consumo, se registró el pienso añadido a cada tolva y el rechazo en el momento del control de peso de los animales (pienso que quedaba en la tolva). Con estos datos se calculó para cada periodo el Consumo Medio Diario (CMD), la Ganancia Media Diaria (GMD) y el Índice de Conversión (IC):

$$CMD = \frac{(Pienso_{añadido} - Pienso_{rechazado}) \times corral}{(Fecha_{fin} - Fecha_{inicio}) \times n^{\circ} animales}$$

$$GMD = \frac{P_f - P_i}{n^{\circ} días}$$

Siendo P_i peso inicial y P_f peso final

$$IC = \frac{CMD}{GMD} = \frac{kg pienso}{kg animal}$$

Una vez finalizado el suministro de pienso experimental, se registró la medida del espesor de la grasa dorsal y del músculo, de manera individual en 3 animales de peso medio de cada corral. Para ello, se realizaron ecografías donde se midió la grasa dorsal in vivo (BF) y la profundidad del lomo (LD). Ambas medidas se tomaron en la posición P2 (por encima de la última costilla, a 6,0 – 6,5 cm aproximadamente de la línea media), empleando un dispositivo de ultrasonido en modo B (Agroscan A16, Angoulême, Francia).

3.4.2. ANÁLISIS DE LA MICROBIOTA

3.4.2.1. Toma de muestras

Para el análisis de la microbiota intestinal, se tomaron muestras de heces del recto de 2 animales de peso medio de cada corral, muestreándose un total de 16 animales por tratamiento.

Para obtener la muestra de forma estéril se introdujo un depresor estéril en el recto de los animales recogiendo la muestra en un bote de plástico estéril. Posteriormente, las muestras se mantuvieron en refrigeración a 4 °C hasta su posterior análisis. Las muestras fueron analizadas en el laboratorio dentro de las 4 horas posteriores a su obtención en la granja experimental.

La toma de muestras se realizó en 2 días consecutivos, a causa del gran volumen de animales a muestrear.

3.4.2.2. Recuentos microbiológicos

Para la caracterización de la microbiota y salud intestinal se determinó la concentración de los géneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y de las enterobacterias totales en la microbiota intestinal de cada animal, de acuerdo con Pierce *et al.* (2005). Se ha demostrado que las bifidobacterias y los lactobacilos tienen efectos positivos en la salud intestinal (De Lange, 2000). A su vez, también se llevó a cabo la determinación de los microorganismos anaerobios totales.

Para determinar *Lactobacillus* se utilizó el medio selectivo agar MRS (MRS, Liofilchem, Roseto degli Abruzzi, Teramo, Italy), medio que fue desarrollado por Man, Rogosa y Sharpe, y por su formulación permite el adecuado desarrollo de lactobacilos y otras bacterias ácido lácticas. Se incubó a 37 °C durante 48 horas, en cámaras con atmósfera anaeróbica (AnaeroGen™ 3,5L de Thermo scientific).

En el análisis de *Bifidobacterium* se utilizó el medio selectivo BD Bifidobacterium Agar, Modified (Becton Dickinson GmbH, Germany). Es un medio parcialmente selectivo para el aislamiento de los microorganismos pertenecientes a *Bifidobacterium* en muestras fecales. Se incubó a 37°C durante 48 horas, en cámaras con atmósfera anaeróbica con sobre de anaerobiosis (AnaeroGen™ 3,5L de Thermo scientific).

Los microorganismos pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* se determinaron mediante el uso del medio MacConkey Agar (Liofilchem, Roseto degli Abruzzi, Teramo, Italy). El medio contiene sales biliares y cristal violeta, que son los agentes selectivos que inhiben los organismos grampositivos y permiten que las bacterias gramnegativas crezcan. Se incubó a 37°C durante 48 horas.

Para la determinación de anaerobios totales el medio utilizado fue Fluid Thioglycollate Medium (Liofilchem, Roseto degli Abruzzi, Teramo, Italy). El tioglicolato de sodio y L-cistina reducen el potencial redox del medio y crean una atmósfera anaeróbica. Al ser este medio líquido, se le añadió agar como agente solidificante. Se incubó a 37°C durante 48 horas, en cámaras con atmósfera anaeróbica con sobre de anaerobiosis (AnaeroGen™ 3,5L de Thermo scientific).

3.4.2.3. Preparación de la muestra

El método de análisis utilizado fue el mismo, independientemente del microorganismo a determinar o del medio de cultivo utilizado. En primer lugar, se procedió a realizar un *pool* de heces con las dos muestras obtenidas de cada corral, obteniéndose así una única muestra por corral.

Después, con esa muestra se realizaron una serie de diluciones decimales seriadas, según la norma ISO: UNE-EN-ISO 4833-1 “Método horizontal para el recuento de microorganismos. Parte 1: Recuento de colonias a 30 °C mediante la técnica de siembra en profundidad” y la UNE-EN ISO 4833-2 “Método horizontal para el recuento de microorganismos. Parte 2: Recuento de colonias a 30 °C mediante la técnica de siembra en superficie”.

Para ello, se pesó 1 g de la muestra una vez homogeneizada, y se introdujo en un tubo con 9 mL de caldo común y se homogeneizó con el Vórtex durante 1 min. A partir de esta dilución (1:10) se realizaron las sucesivas diluciones decimales seriadas en agua destilada estéril. Una vez realizadas las correspondientes diluciones, se sembraron por duplicado en los medios detallados en la **Tabla 3**.

Una vez sembradas, las placas se incubaron a las condiciones adecuadas para cada microorganismo tal y como se muestra la Tabla 3 y pasado el tiempo correspondiente, se llevó a cabo el recuento de las colonias sospechosas en cada medio de cultivo.

Tabla 3: Condiciones de incubación según medio y microorganismo.

Microorganismo	Medio de cultivo	Condiciones de incubación	Incubación en anaerobiosis
<i>Lactobacillus</i>	MRS	37 °C/48h	Sí
<i>Bifidobacterium</i>	BD Bifidobacterium Agar, Modified	37 °C/48h	Sí
<i>Enterobacteriaceae</i>	MacConkey Agar	37 °C/48h	No
<i>Anaerobios totales</i>	Thioglycollate	37 °C/48h	Sí

Para la lectura de los resultados se escogieron las placas de la misma dilución que contenían entre 30 y 300 colonias. Posteriormente se realizó la media aritmética del recuento de las 2 placas y se calculó las UFC/mL mediante la siguiente ecuación (**Ecuación 1**):

$$\frac{\sum C}{(n_1 + 0,1 \times n_2) \times d}$$

Ecuación 1, donde:

$\sum C$: Sumatorio de las colonias de todas las placas

n_1 : Número de placas que se cuentan en la primera dilución

n_2 : Número de placas que se cuentan en la segunda dilución

d : Dilución

3.4.3. CALIDAD DE LA CARNE Y LA CANAL

3.4.3.1. Sacrificio y medidas automáticas en matadero

Una vez finalizada la prueba (semana 14), a los animales se les dejó de suministrar pienso durante 12 horas antes de su traslado al matadero. Una vez sacrificados los animales, de inmediato se registraron el peso y la composición (porcentaje de grasa y magro) de la canal y de piezas nobles mediante un escáner 3D de ultrasonidos (AutoFomTM, Carometec food technology, Dinamarca). Los parámetros registrados por el AutoFomTM fueron:

- Rendimiento canal, %
- Grasa jamón, %
- Grasa costilla 3 – 4, mm
- Magro costilla 3 – 4, %
- Magro canal, %
- Magro jamón, %
- Magro lomo, %
- Magro bacon, %
- Magro paleta, %

3.4.3.2. Color, pH y espesor de grasa

Pasadas 2 horas post-mortem, las canales se encontraban en la cámara de estabilización, donde se tomaron en la canal medidas de color y espesor de la grasa.

La medida del color se tomó a nivel del músculo *Gracillis* con un colorímetro Minolta (Konica Minolta, Osaka, Japan), como se muestra en la **Figura 3**. Para la determinación del color se emplearon los valores CIE 1976 $L^*a^*b^*$ de la “Comission Internationale de l’Eclairage”, donde L^*

se corresponde con la luminosidad, a^* con las coordenadas rojo/verde y b^* con las coordenadas amarillo/azul.

La determinación de pH en el músculo *Semimebranosus* se llevó a cabo con un equipo de medición de pH (Crison, Barcelona, Spain). Para ello, se realizó una incisión en el músculo con un bisturí y se introdujo la sonda de medición de pH. Después de tomar las primeras medias, el equipo de medición se averió y no pudimos terminar, por lo que, no se pudieron incluir resultados de pH en el presente trabajo. Las medidas de pH debían realizarse *in situ*, pasadas unas horas tras el sacrificio de los animales, por lo que no se pudieron realizar en otro momento.

En el músculo *Gluteus medius* se tomó la medida del espesor de la grasa con la ayuda de una regla graduada, como muestra la **Figura 4**.

A parte de las medidas descritas, también se cogió una muestra de grasa subcutánea (a nivel de la segunda vértebra cervical), como se puede ver en la **Figura 5** y de músculo *Splenius*, para posteriormente analizar su perfil de ácidos grasos. Ambas muestras se mantuvieron a 4 °C durante su transporte al laboratorio y una vez allí, las muestras se almacenaron en bolsas opacas y selladas al vacío a - 80 °C hasta su análisis.



Figura 3: Determinación del color



Figura 4: Medida espesor grasa dorsal



Figura 5: Toma de muestra de grasa subcutánea

3.4.3.3. Ácidos grasos de la carne y del tejido adiposo.

Mediante la técnica de cromatografía de gases se determinó el perfil de ácidos grasos en las muestras de grasa obtenidas en el matadero. Para esta determinación se siguió la metodología propuesta por O'Fallon *et al.*, (2007).

Lo primero que se hizo fue preparar 50 mL de cada uno de los reactivos. Para elaborar el patrón interno C13 (0,5 mg de C13/mL de etanol), se pesaron 25 mg de C13. Para preparar el KOH 10N se pesaron 33 g de KOH y se enrasó hasta 50 mL con agua destilada. Para la última preparación de reactivo, el H₂SO₄ 24N, se tomó un volumen de 33,33 mL de H₂SO₄ con una pureza del 95 – 97%, enrasando posteriormente con agua destilada hasta 50 mL. Los siguientes dos reactivos, hexano y metanol, ya se encontraban preparados en el laboratorio.

Una vez preparados los reactivos, se procedió a pesar 1 g de muestra fresca en tubos Pyrex (de 15 mL) a los cuales se añadieron 1 mL de la disolución de patrón interno, 0,7 mL de KOH 10N y 5,3 mL de metanol. Después, los tubos se incubaban en un baño de agua o termoblock a 55 °C durante 90 minutos, agitando cada tubo vigorosamente cada 20 minutos. Una vez pasados los 90 minutos, se enfriaron los tubos con agua corriente hasta alcanzar la temperatura ambiente. Seguidamente, se añadieron 0,58 mL de H₂SO₄ 24N y se mezcló invirtiendo los tubos y agitando con ayuda de un agitador para despegar el precipitado. Después se repitió el mismo proceso de incubación hasta volver a enfriar los tubos a temperatura ambiente para terminar añadiendo 2 mL de hexano. A continuación, los tubos se agitaron durante 5 minutos en un agitador multitubo y pasado el tiempo, se centrifugaron 5 minutos a 3000 rpm. Finalmente se cogió la fase orgánica (parte superior) para introducirla en viales y analizar en un cromatógrafo de gases Focus (Thermo, Milán, Italia).

3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los análisis estadísticos se realizaron empleando el paquete estadístico SAS® System Software (SAS 9.1, SAS Inst. Inc., Cary, NC). Todos los resultados, tanto recuentos microbiológicos, como calidad y características de la canal, como los rendimientos productivos (peso medio, CMD, GMD e IC), se estudiaron con un análisis de la varianza, utilizando el procedimiento GLM (PROC GLM) de SAS y considerándose como efecto principal el tratamiento.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

4.1. RESULTADOS DE GANANCIA MEDIA DIARIA, CONSUMO MEDIO DIARIO E ÍNDICE DE CONVERSIÓN

Analizando los datos de la **Tabla 4**, se puede decir que no se encontraron diferencias significativas ($P>0,05$) entre tratamientos en ninguno de los parámetros estudiados. En el parámetro “profundidad de lomo” se vio una tendencia ($P<0,1$) a reducirse con la inclusión de pulpa cítrica.

En este estudio, se puede observar como el valor de las medidas de profundidad de lomo obtenidas disminuye según va aumentando el nivel de inclusión. Esto puede ser debido a que en estudios anteriores (Márquez y Ramos, 2007; Cerisuelo *et al.*, 2010), observaron que la adaptación a la digestión de pulpa de cítricos o dietas que incluyen residuos de frutas y pescado, requerían una adaptación de 3 a 4 semanas, lo cual pudo condicionar la deposición en el lomo.

Tabla 4: Efecto de la inclusión de pulpa cítrica en las dietas sobre el rendimiento del crecimiento.

	Tratamiento				EEM*	P-VALOR
	1	2	3	4		
Peso Inicial (kg)	71,8	70,6	71,8	70,8	2,16	0,963
Peso final (kg)	129	127	128	127	2,58	0,949
GMD ⁽¹⁾ (kg animal/día)	1,16	1,16	1,15	1,14	0,029	0,984
CMD ⁽²⁾ (kg pienso/día)	3,33	3,20	3,19	3,18	0,068	0,339
IC ⁽³⁾ (kg pienso/kg animal)	2,85	2,78	2,78	2,78	0,071	0,887
Espesor del tocino (mm)	13,4	13,6	12,5	12,4	0,644	0,389
Profundidad del lomo (mm)	53,9	51,3	50,5	50,2	1,04	0,0567

⁽¹⁾Ganancia Media Diaria. ⁽²⁾Consumo Medio Diario. ⁽³⁾Índice de Conversión

*Error Estándar de la Media

4.2. ESTUDIO DE LA MICROBIOTA Y SALUD INTESTINAL

En las siguientes tablas se muestran los resultados obtenidos en los recuentos.

Como se puede ver en la **Tabla 5**, referente a las enterobacterias, no se encontraron diferencias significativas ($P>0,05$). Comparado con los valores obtenidos en el estudio de Cerisuelo *et al.*, (2010), se observó el mismo comportamiento, a mayor porcentaje de inclusión, los recuentos de enterobacterias son más bajos en comparación con los cerdos alimentados con la dieta basal.

Tabla 5: Resultados estadísticos obtenidos en cada tratamiento para enterobacterias.

ENTEROBACTERIAS				
TRATAMIENTO	PROMEDIO	DESVIACIÓN	EEM*	P-VALOR
1	6,22	0,488		
2	6,32	0,659	0,233	0,923
3	6,34	0,900		
4	6,14	0,509		

*Error Estándar de la Media

Como se observa en la **Tabla 6**, en los microorganismos anaerobios totales no se encuentran diferencias significativas ($P>0,05$) y disminuyen con la inclusión de pulpa cítrica.

Tabla 6: Resultados estadísticos obtenidos en cada tratamiento para anaerobios totales.

ANAEROBIOS TOTALES				
TRATAMIENTO	PROMEDIO	DESVIACIÓN	EEM*	P-VALOR
1	7,97	0,736		
2	7,51	0,961		
3	7,40	1,015	0,289	0,466
4	7,41	0,419		

*Error Estándar de la Media

Respecto a las bifidobacterias, en la **Tabla 7** observamos que tampoco hay diferencias significativas ($P>0,05$). Comparando con el estudio de Heinritz, *et al.*, (2016), en el que se comparaban dos tipos de alimentación en porcino (un alta en fibra y otra baja), coinciden en que la dieta alta en fibra presenta mayor número de bifidobacterias, esto es debido a la presencia de fibra soluble que actúa como prebiótico en el caso de bifidobacterias.

Tabla 7: Resultados estadísticos obtenidos en cada tratamiento para bifidos.

BIFIDOBACTERIAS				
TRATAMIENTO	PROMEDIO	DESVIACIÓN	EEM*	P-VALOR
1	8,21	0,134		
2	8,62	0,689		
3	8,30	0,574	1,66	0,138
4	8,69	0,251		

*Error Estándar de la Media

Por último, tampoco se encontraron diferencias significativas ($P>0,05$) en los lactobacilos tras consultar la **Tabla 8**, coincidiendo con los valores obtenidos por Cerisuelo *et al.*, (2010), ya que también disminuye la cantidad de lactobacilos al aumentar la inclusión de pulpa cítrica.

Tabla 8: Resultados estadísticos obtenidos en cada tratamiento para lactobacilos.

LACTOBACILOS				
TRATAMIENTO	PROMEDIO	DESVIACIÓN	EEM*	P-VALOR
1	9,51	0,466		
2	9,69	0,401		
3	9,50	0,563	0,156	0,330
4	9,28	0,286		

*Error Estándar de la Media

Como indicador de salud intestinal se ha utilizado un parámetro que es la ratio *Lactobacillus:Enterobacterias*. De esta forma, se asume que una mayor ratio *Lactobacillus:Enterobacterias* es beneficiosa para la salud animal (Ewing y Cole, 1994). El interés de estas dos bacterias se debe a que se asocia un efecto favorable a los *Lactobacillus spp.* mientras que las *Enterobacterias* han sido relacionadas con problemas patológicos. Por este motivo, el objetivo de nuevas dietas que diseñan especialmente para cerdos jóvenes, es mantener una ratio *Lactobacillus:Enterobacterias* favorable.

Los valores obtenidos de la ratio *Lactobacillus:Enterobacterias* se pueden observar en la **Tabla 9**:

Tabla 9: Valores de la ratio *Lactobacillus:Enterobacterias* para los distintos tratamientos.

Tratamiento	Promedio Lactobacilos	Promedio Enterobacterias	Ratio L:E
1	9,51	6,22	1,53
2	9,69	6,32	1,53
3	9,50	6,34	1,50
4	9,28	6,14	1,51

Como ocurre en el estudio de Cerisuelo *et al.*, (2010), los recuentos de enterobacterias fueron más bajos a medida que aumentaba el porcentaje de pulpa y los recuentos de lactobacilos también disminuyeron con la inclusión de pulpa cítrica en la dieta. En consecuencia, la ratio *Lactobacillus:Enterobacterias* no fue diferente entre tratamientos y no aumenta a medida que aumenta la concentración de pulpa en el pienso.

Otro parámetro que se utiliza como indicador de la salud intestinal es la ratio *Bifidobacterias:Enterobacterias*, siendo su valor óptimo 2:1. Zhang *et al.*, (2018) calcularon esta ratio en su estudio para indicar el índice de resistencia a la colonización intestinal, para así evaluar los cambios en la microbiota intestinal. Los valores obtenidos se reflejan en la **Tabla 10**:

Tabla 10: Valores de la ratio *Bifidobacterias:Enterobacterias* para los distintos tratamientos.

Tratamiento	Promedio Bifidobacterias	Promedio Enterobacterias	Ratio B:E
1	8,21	6,22	1,32
2	8,62	6,32	1,36
3	8,30	6,34	1,31
4	8,69	6,14	1,41

Aunque en ninguno de los casos se obtenga su valor óptimo (2:1), comparando T1 (dieta basal) con T4 (24% de inclusión), se observa que al aumentar la cantidad de pulpa cítrica aumenta el valor de la ratio.

Por lo general, aumentar la cantidad de fibra fermentable en la dieta estimula la fermentación microbiana en el intestino posterior de los cerdos (Montagne *et al.*, 2003), y la fermentación genera ácido láctico y ácidos grasos volátiles, que son capaces de inhibir algunos patógenos intestinales como *E. coli* y *Salmonella spp.*, en nuestro estudio no se observaron efectos significativos después de la inclusión de pulpa cítrica (ingrediente con elevado contenido en fibra) en los piensos, manteniéndose el ratio *Bifidobacterias:Enterobacterias* por debajo del óptimo.

Mantener o mejorar la salud intestinal es esencial para mejorar la eficiencia alimenticia, promover el rendimiento del crecimiento y mantener la salud general de los animales monogástricos (Jha *et al.*, 2019).

4.3. CALIDAD DE LA CARNE Y DE LA CANAL

Relativo a las características de la calidad de la carne y la canal, en la **Tabla 10** se muestran las medidas tomadas en matadero después del sacrificio de los animales.

La inclusión de pulpa cítrica en las dietas de cerdo no tuvo efectos significativos en las características de la canal ni en los rasgos de peso y rendimiento de la canal. En la profundidad de la grasa en el glúteo medio tampoco se encontraron diferencias significativas entre los distintos tratamientos. En los parámetros que sí se encontraron diferencias significativas ($P < 0,05$), se observa que las diferencias se encuentran principalmente en el tratamiento 2, por lo que dichas diferencias no deben ser debidas al tratamiento.

En cuanto al color, tampoco se hallaron diferencias significativas en los parámetros L* a* y b* entre los distintos tratamientos.

Tabla 11: Medidas relativas a la calidad de la carne y la canal. Superíndices con diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0,05$). Los parámetros sin unidades, se expresan en (mm).

	Tratamiento				EEM*	P-VALOR
	1	2	3	4		
Características de la canal						
Peso de la canal (kg)	95,38	94,38	93,02	92,09	1,280	0,275
Rendimiento canal (%)	74,60	74,55	73,08	73,00	1,370	0,736
Carne magra (%)	60,42	58,01	60,74	59,70	0,657	0,003
Grasa de jamón	11,28	14,09	11,10	12,57	0,528	<0,001
Magro Jamón	72,71	70,67	72,90	72,06	0,607	0,010
Magro bacon	58,11	54,92	58,19	57,07	0,918	0,010
Magro lomo	61,34	58,00	61,65	59,85	0,938	0,006
Magro paleta	66,97	65,52	66,96	66,48	0,546	0,089
Grasa en la costilla 3-4	60,42	58,01	60,74	59,70	0,657	<0,001
Calidad de la carne						
Profundidad de la grasa en el glúteo medio	1,77	1,71	1,55	1,68	0,074	0,169
Color de la carne						
L*	36,73	36,22	36,16	37,16	0,521	0,838
a*	8,43	9,01	9,12	8,00	0,411	0,434
b*	3,18	3,26	3,35	3,33	0,132	0,476

*Error Estándar de la Media

4.4. ANÁLISIS DE ÁCIDOS GRASOS

Con respecto al perfil de ácidos grasos de la grasa subcutánea (**Tabla 12**), se observa que el contenido total de ácidos grasos (AG) y la concentración total de ácidos grasos saturados (AGS) fue menor ($P < 0,01$) y la concentración total de ácidos grasos monoinsaturados (AGM) fue mayor en el tejido graso de los animales que recibieron dietas T4, en comparación con la dieta de control ($P < 0,001$). Por lo tanto, la proporción AGM / AGS fue mayor en los cerdos que ofrecieron la dieta suplementadas con un 24% de inclusión de pulpa cítrica en comparación con los cerdos que ofrecieron la dieta de control ($P < 0,001$). En cuanto a la concentración de ácidos grasos poliinsaturados (AGP), no se encontraron diferencias significativas ($P > 0,05$) entre T1 (0% de inclusión) y T4 (24% de inclusión).

Tabla 12: Resultado del contenido de ácidos grasos y el perfil de ácidos grasos en la grasa subcutánea de los cerdos. Todos los valores sin unidades están expresados en (mg/g de tejido fresco).

	Tratamiento		EEM*	P-VALOR
	1	4		
AG⁽¹⁾ total (mg/g de tejido fresco)	68,25	67,48	0,733	0,015
AGS⁽²⁾ (mg/g total AG)	331	323	2,831	0,002
Ácido cáprico	0,037	0,032	0,001	0,001
Ácido láurico	0,042	0,038	0,001	0,018
Ácido mirístico	0,865	0,828	0,018	0,234
Ácido pentadecanoico	0,062	0,07	0,003	0,005
Ácido palmítico	15,01	14,35	0,212	0,118
Ácido heptadecanoico	0,375	0,419	0,015	0,001
Ácido esteárico	6,02	5,86	0,15	0,56
AGM⁽³⁾ (mg/g total AG)	480	500	2,96	<0,001
Ácido palmitoleico	1,8	1,77	0,047	0,689
Ácido eicosatrienoico cis 11,14,17	0,084	0,085	0,002	0,007
Ácido eicosatrienoico cis 8,11,14	0,097	0,101	0,003	0,011
Ácido heptadecenoico	0,277	0,332	0,014	<0,001
Ácido oleico	26,61	26,81	0,373	0,064
Ácido vaccénico	3,23	3,34	0,056	0,145
Ácido erúcido	0,015	0,016	0,001	0,874
Ácido eicosaenoico	0,512	0,527	0,012	0,761
AGP⁽⁴⁾ (mg/g total AG)	189	183	2,62	0,279
Ácido linoleico	11,21	10,88	0,185	0,084
Ácido linolénico	0,544	0,531	0,011	0,004
Ácido eicosadienoico	0,448	0,441	0,009	0,073
Ácido araquidónico	0,196	0,185	0,005	<0,001
Ácido docosadienoico	0,004	0,006	0,001	0,308
Ácido docosapentaenoico	0,045	0,047	0,002	0,007
Ácido docosahexaenoico	0,014	0,014	0,001	0,027
AGP/AGS	0,572	0,566	0,01	0,16
AGM/AGS	1,45	1,54	0,021	<0,001
Ácido oleico/Total AG	0,67	0,653	0,011	0,497

⁽¹⁾Ácidos Grasos. ⁽²⁾Ácidos Grasos Saturados. ⁽³⁾Ácidos Grasos Monoinsaturados. ⁽⁴⁾Ácidos Grasos Poliinsaturados.

*Error Estándar de la Media

5. CONCLUSIONES

La pulpa cítrica puede ser utilizada con una inclusión de hasta un 24% en piensos para cerdos en crecimiento, ya que éstos pueden adaptar su tracto gastrointestinal a esta fuente de fibra sin afectar negativamente en el crecimiento, rendimiento de la canal, la calidad de la carne, y en el perfil de ácidos grasos.

Los microorganismos indicadores estudiados para determinar el estado de la microbiota intestinal: Lactobacilos, bifidobacterias, enterobacterias y anaerobios totales, no mostraron diferencias significativas entre los distintos tratamientos de pulpa cítrica realizados, suponiendo en este caso una rápida adaptación por los microorganismos de la microbiota a los distintos porcentajes de inclusión de pulpa cítrica estudiados.

La ratio Lactobacillus:Enterobacterias no fue diferente entre tratamientos y se mantuvo en los valores dentro del rango esperado, confirmando que la salud intestinal no sufre cambios drásticos debido a la inclusión de distintos porcentajes de pulpa cítrica en la dietas de los animales.

La pulpa cítrica, además, es una alternativa que puede resultar interesante desde el punto de vista productivo y de sostenibilidad del sector porcino, ya que su uso puede ayudar a reducir costes en la alimentación.

6. BIBLIOGRAFÍA

- ANDERSEN H.J., OKSBJERG N., YOUNG J.F., THERKILDSEN M. (2004). Feeding and meat quality – a future approach. *Meat Science* 70 (2005) 543–554.
- AXELSSON LT. (1998). Lactic acid bacteria: classification and physiology. En: Salminen S, von Writh A (eds). *Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects*. 2ª Ed. Marcel Dekker Inc, Nueva York. pp 1-72.
- BAMPIDIS V.A., ROBINSON P.H. (2006). Citrus by-products as ruminant feeds: A review. *Animal Feed Science and Technology* 128: 175-217.
- BURGEUIS, C. M., & MESCLE, J. F. (1994). Clostridium perfringens. In Acibia (Ed.), *Microbiología alimentaria. Aspectos microbiológicos de la seguridad y calidad alimentaria* (pp. 93-107).
- CABRERA, J.J., MORENO, E., MIRANDA, C., PÉREZ, M.D. (2010). Endocarditis por Lactobacillus casei/paracasei. *Carta científica*. Vol. 28. Núm. 7. Págs 474-475
- CAJARVILLE, C., BRAMBILLASCA, S., ZUNINO, P. (2011). Utilización de prebióticos en monogástricos: Aspectos fisiológicos y productivos relacionados al uso de sub-productos de agroindustrias y de pasturas en lechones. *Rev Porcicultura Iberoam* 1:2
- CERISUELO, A., CASTELLÓ, L., MOSET, V., MARTÍNEZ, M., HERNÁNDEZ, P., PIQUER, O., GÓMEZ, E., GASA, J., LAINEZ, M. (2010). The inclusion of ensiled citrus pulp in diets for growing pigs: Effects on voluntary intake, growth performance, gut microbiology and meat quality. *Livestock Science* 134 (2010) 180–182.
- CONTRERAS ESQUIVEL JC, HOURS RA, VOGET CE, MIGNONE CF. (1999). *Aspergillus kawachii* produces an acidic pectin releasing enzyme activity. *J Biosci Bioeng*. 1999; 88:48–52. doi: 10.1016/S1389-1723(99)80174-1.
- DE JESÚS, M. C., DOMÍNGUEZ, R., CANTALAPIEDRA, J., IGLESIAS, A., & LORENZO, J. M. (2017). Efecto de la inclusión de castaña en la formulación de piensos sobre calidad de la canal y la carne de cerdo industrial. *ITEA Información Técnica Económica Agraria*, 113(1), 36–51.
- DEL PRADO, A., MAS, K., PARDO, G., GALLEJONES, P. (2013). Modelling the interactions between C and N farm balances and GHG emissions from confinement dairy farms in northern Spain. *Science of the Total Environment* 465: 156-165.
- DELGADO PALACIO, S., (2005). Microbiota intestinal humana: análisis y evolución de poblaciones representativas e identificación de bacterias probióticas. Tesis Doctoral. Departamento de biología funcional. Área de microbiología. Universidad de Oviedo.
- EWING, W.N., AND COLE, D.J.A. (1994). The microbiology of the gastrointestinal tract. *The living gut. An introduction to microorganisms in nutrition*. Ewing W.N. and Cole D.J.A. eds. Context Publications, Dungannon, Ireland, 45-65.
- FEDNA (Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal). Pulpa de cítricos (2018). Visto el 16 de junio de 2019.
http://www.fundacionfedna.org/subproductos_fibrosos_humedos/pulpa-de-c%C3%ADtricos
- FERNÁNDEZ GINÉS, J.M., TUDELA CARRASCO, M., CABALLERO SANTOS, B., MORENO GONZÁLEZ, M., MADERA BRAVO, E. (2008). Generación de subproductos de la industria agroalimentaria: Situación y alternativas para su aprovechamiento y revalorización. *Alimentaria: Revista de tecnología e higiene de los alimentos*, ISSN 0300-5755, Nº Extra 1, 2008, págs. 39-42.

- GALIÁN JIMÉNEZ, M. (2007). Características de la canal y calidad de la carne, composición mineral y lipídica del cerdo Chato Murciano y su cruce con Ibérico. Efecto del sistema de manejo. Tesis Doctoral, Departamento de Tecnología De Los Alimentos, Nutrición y Bromatología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia.
- GARCÍA-CONTRERAS AC, DE LOERA ORTEGA YG, YAGÜE AP, GUEVARA GONZÁLEZ JA Y GARCÍA ARTIGA C. (2012). Alimentación práctica del cerdo. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias* 2012 6(1):21-50.
- GARCÍA-SÁNCHEZ, J. E., GARCÍA-SÁNCHEZ, E., MARTÍN-DEL-REY, A., GARCÍA-MERINO, E. (2015). Las bacterias anaerobias 150 años después de su descubrimiento por Pasteur. Revisión. Vol. 33. Núm. 2. Págs. 119-128.
- GARCÍA REBOLLAR, P. Materias primas. Pulpa de cítricos. *Revista: NutriNews - Marzo 2019*, págs. 22-27.
- GARRIDO, M.D. Y BAÑÓN, S. (2000). Medidas del pH. En: Metodología para el estudio de la calidad de la canal y de la carne en rumiantes. Ministerio de Ciencia y Tecnología-INIA. Madrid, España. pp 147-155.
- GHARBI, F. R., BENARIF, T. (2011). Economical impacts of the use of olive cakes in animal nutrition in Tunisia. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement* 15 (2): 259-270.
- GRASSER, L.A., FADEL, J.G., GARNETT, I., DEPETERS, E.J. (1995). Quantity and Economic Importance of Nine Selected By-products Used in California Dairy Rations. *Journal of Dairy Science*, 78: 962–971.
- HAMMOND, J. (1955). Quality meat production. *J. of Yorkshire Agriculture Society*. 1, 19–32
- HEINRITZ SN, WEISS E, EKLUND M, AUMILLER T, LOUIS S, RINGS A, *et al.*, (2016) Intestinal Microbiota and Microbial Metabolites Are Changed in a Pig Model Fed a High-Fat/Low-Fiber or a Low-Fat/High-Fiber Diet. *PLoS ONE* 11(4): e0154329. doi:10.1371/journal.pone.0154329
- HEYMANN, D. L. (2005). Control de las Enfermedades Transmisibles. In C. Welchis (Ed.), Intoxicación alimentaria por *Clostridium perfringens* (18ª Edición Washintong D.C ed., pp. 391,392).
- HYEUN BUM KIM, KLAUDYNA BOREWICZ, BRYAN A. WHITE, RANDALL S. SINGER, SRINAND SREEVATSAN, ZHENG JIN TU, RICHARD E. ISAACSON (2011). Longitudinal investigation of the age-related bacterial diversity in the feces of commercial pigs. *Veterinary Microbiology* 153, 124–133.
- HYEUN BUM KIM, RICHARD E. ISAACSON (2015). The pig gut microbial diversity: Understanding the pig gut microbial ecology through the next generation high throughput sequencing. *Veterinary Microbiology* 177, 242–251.
- IVACE (Institut Valencià de Competitivitat Empresarial). Cítricos Comunitat Valenciana. (2018)
- JEREZ-TIMAURE, N., TERESA SÚLBARAN, M, ARENAS DE MORENO, L., RODAS-GONZÁLEZ, A., TROMPÍZ, J., ORTEGA, J. (2013). Determinación de defectos de calidad en la canal y carne de cerdo mediante el uso de auditorías. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.* (2013); 4(1):13-30.
- JHA R, FOUHSE JM, TIWARI UP, LI L AND WILLING BP (2019) Dietary Fiber and Intestinal Health of Monogastric Animals. *Front. Vet. Sci.* 6:48. doi: 10.3389/fvets.2019.00048
- LAKSHMANAN V., ANJANEYULU A.S.R., SHARMA N. Y RAINA B.L. (1984). Variations in carcass parameters of swine: Hot vs. cold carcass. *Indian J. Anim. Sci.* 54 (5). pp. 462-464.

- LODOÑO-LODOÑO, J., SIERRA, J., ÁLVAREZ, R., RESTREPO DUQUE, A. M., PÁSSARO CARVALHO, C. P. (2012). Aprovechamiento de los subproductos cítricos. Corporación Universitaria Lasallista, 343-367.
- KANDLER, O. Y WEISS, N. (1986). Regular, nonsporing Gram-positive rods. En: Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, Holt JG (eds). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. vol 2. Williams and Wilkins, USA. pp 1208-1234.
- MÁRQUEZ, M.C., RAMOS, P., (2007). Effect of the inclusion of food waste in pig diets on growth performance, carcass and meat quality. *Animal* 1, 595–599.
- MERCASA. *ALIMENTACIÓN EN ESPAÑA 2019. Producción, industria, distribución y consumo*. 22ª Edición. 2019/2020. Pág. 157
- MAGRAMA. (Ministerio de Agricultura y Pesca Alimentación y Medio Ambiente). Servicio general de estadísticas (2018). Visto el 24 de junio de 2020.
<https://www.mapa.gob.es/va/ganaderia/temas/produccion-y-mercados-ganaderos/sectores-ganaderos/porcino/>
- MONTAGNE, L., PLUSKE, J.R., HAMPSON, D.J., (2003). A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals. *Anim. Feed Sci. Technol.* 108, 95–117.
- MORILLO ALUJAS, A. (2019). Salud intestinal en lechón. *Revista PorciNews – Noviembre 2019*, págs.. 6-7.
- OFFER G. Y KNIGHT P. (1988). The structural basis of water-holding in meat; Part 2: Drip Losses. En: *Developments in Meat Sci.* 4, Ed.R. Lawrie, Elsevier, Oxford: 173-241.
- PASCUAL ANDERSON M. R. (1989). Microbiología Alimentaria: Detección de bacterias con significado higiénico sanitario. Ed. Centro Nacional de Alimentación, Majadahonda. Instituto de Salud Carlos III.
- PAULINO, J.A. (2016). Nutrición de los cerdos en crecimiento y finalización. NTECRD, S.R.L., Nutrición y Tecnología República Dominicana.
- PEDAUYÉ, J., BAÑÓN, S., QUIÑONERO, M., LÓPEZ, M. B., & GARRIDO, M. D. (1994). Calidad de la carne de cerdo: Influencia del espesor del panículo graso dorsal, el grado de infiltración grasa muscular y del sexo. *Anales de Veterinaria*. 9 (10), 17-24.
- PÉREZ ESTERUELAS, L. (2019). La microbiota intestinal. Características principales e interacción con la vacunación.
- PLA TORRES, M. (2005). Determinación de la textura. En: Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (Anim. vivo, canal, carne y grasa), editado por Cañeque V. Y Sañudo C. INIA. pp 243-250.
- PLUSKE, J. R., TURPIN, D. L., KIM, J. C. (2018). Gastrointestinal tract (gut) health in the young pig. *Animal Nutrition. Volume 4, Issue 2, June 2018, Pages 187-196*.
- POTO, A. (2003). Estudio de la calidad de la canal y de la carne del cerdo Chato Murciano. Tesis Doctoral, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia.
- PRÄNDL, O., FISCHER, A., SCHMIDHOFER, T. Y SINELL H-J. (1994). Tecnología e higiene de la carne. Ed. Acribia. Zaragoza.
- PUERTA-GARCÍA, A. Y MATEOS-RODRÍGUEZ. F. (2010). Enterobacterias. *Medicine*. 2010;10(51):3426-31
- RASIC, J.L., KURMANN, J.A. (1983). Bifidobacteria and their role. *Ann. Péd.* 241, 8-23

- RICARDO, MC (2013). Necesidades nutricionales para porcino. *Agroterra*. Visto el 11 de julio de 2019.
- <https://www.agroterra.com/blog/descubrir/necesidades-nutricionales-para-porcino/77812/>
- RIVAS, C. Y MOTA, M. (2018). Bacterias anaerobias. *Temas de bacteriología y virología médica*. Pág. 355.
- ROCA CANUDAS, M. (2008). Estudio del ecosistema bacteriano del tracto digestivo del cerdo mediante técnicas moleculares. Tesis Doctoral, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona.
- RODNEY, G., (1999). Genetics of choice for meat of choice. Disponible en: <https://www.nationalswine.com>. Consultado 15/08/00.
- SAÑUDO, C., CAMPO, M.M., SIERRA, I., MARÍA, G.A., OLLETA, J.L., SANTOLARIA, P. (1997). Breed effect on carcass and meat quality of suckling lambs. *Meat Sci.* 4: 357-365.
- SCARDOVI, V. (1986). *Bifidobacterium*. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th ed. Baltimore: Williams and Wilkins.
- SEN S, INGALE SL, KIM YW, KIM JS, KIM KH, KHONG C, LOHAKARE JD, KIM EK, KIM HS, KWON IK, CHAE BJ. (2011). Effect of supplementation of *Bacillus subtilis* LS 1–2 grown on citrus-juice waste and corn-soybean meal substrate on growth performance, nutrient retention, caecal microbiology and small intestinal morphology of broilers. *Asian-Aust J Anim Sci.* 2011;24:1120–1127. doi: 10.5713/ajas.2011.10443.
- VARGAS CORREDOR, Y.A., PÉREZ PÉREZ, L.I. (2018). Aprovechamiento de residuos agroindustriales para el mejoramiento de la calidad del ambiente. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*. ISSN 1900-4699. Vol. 14 (1) 2018, 59-72.
- WOOD, J. D., RICHARDSON, R. I., NUTE, G. R., FISHER, A. V., CAMPO, M. M., KASAPIDOU, E., SHEARD, P. R., ENSER, M. (2004). Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat science*, 66(1), 21-32.
- WOOD, J. D., NUTE, G. R., RICHARDSON, R. I., WHITTINGTON, F. M., SOUTHWOOD, O., PLASTOW, G., MANSBRIDGE, R., DA COSTA, N. & CHANG, K. C. (2004). Effects of breed, diet and muscle on fat deposition and eating quality in pigs. *Meat Sci.* 67, 651-667.
- WOOD, J. D. (1984). Fat deposition and the quality of fat tissue in meat Anim.s. In J. Wiseman (Ed.), *Fats in Anim. Nutrition*. London: Butterworths. pp 407–435.
- WOOD, J. D., ENSER, M., FISHER, A. V., NUTE, G. R., SHEARD, P. R., RICHARDSON, R. I., ... & WHITTINGTON, F. M. (2008). Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Sci.* 78(4), 343-358.
- ZHANG, J., WANG, C., WANG, J., & ZHANG, F. (2018). Relationship between intestinal flora and inflammatory factors in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 15(1), 723–726.
- ZIJLSTRA, R., BELTRANENA, E. (2013). Swine convert co-products from food and biofuel industries into animal protein for food. *Animal Frontiers*. Volume 3, Issue 2, Págs: 48-53