

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

ESCOLA TÈCNICA SUPERIOR
D'ENGINYERIA AGRONÒMICA I DEL MEDI
NATURAL

*TRABAJO FIN DE GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE
LOS ALIMENTOS*



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



Inclusión de subproductos de orujo de aceituna en dietas de cerdos de cebo: rendimientos productivos y estudio de la salud intestinal.

ALUMNA: Elia Sanchis Esteve

TUTORA: Ana Isabel Jiménez Belenguer

COTUTOR: Salvador Calvet Sanz

DIRECTOR EXPERIMENTAL: Pablo Ferrer Riera

Curso académico: 2018-2019

VALENCIA, DICIEMBRE DE 2018

Tipo Licencia: Licencia *CreativeCommons* "Reconocimiento no Comercial –Sin Obra Derivada".



RESUMEN

Actualmente la carne de cerdo es la carne que más se consume a nivel mundial y se prevé que su producción aumente en los próximos años. Por ello, la industria alimentaria a través de sus subproductos ofrece potenciales materias primas alternativas para alimentación animal, que conllevan una menor carga ambiental.

En España existen subproductos, típicamente mediterráneos como los del olivar. El orujo de aceituna es un subproducto de la fabricación del aceite de oliva. Su disponibilidad es bastante elevada durante todo el año, pudiéndose deshidratar, por lo que incrementa su interés para la alimentación animal.

El objetivo principal de este trabajo es determinar los efectos de inclusión de orujo de aceituna parcialmente desengrasado en dietas de cerdos de cebo sobre el rendimiento del crecimiento, la salud intestinal y la calidad de la carne.

Los ensayos productivos se llevaron a cabo en la unidad experimental de cebo del Centro de Investigación y Tecnología Animal del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). En el ensayo productivo se utilizaron 160 animales de 20kg de peso, que fueron distribuidos en 32 corrales de cebo a razón de 5 animales/corral. Posteriormente, a cada corral se le asignó un tratamiento experimental. Durante el periodo experimental se realizaron controles quincenales de peso/animal y consumos por corral. Una vez sacrificados los animales se tomaron medidas de pH, espesor de grasa, color en las canales y se tomaron muestras de grasa subcutánea para su posterior análisis de ácidos grasos.

Para el ensayo de la salud intestinal se tomaron muestras de heces de dos animales por corral al azar. Por cada corral se homogeneizaron las dos muestras y se trató como una. Se sembró en los distintos medios de cultivo y posteriormente se procedió a la lectura de las colonias crecidas en cada medio.

Para el ensayo de ácidos grasos se utilizó la metodología propuesta por O'Fallon *et al.*, (2007).

No se encontraron diferencias significativas entre los distintos tratamientos en cuanto al rendimiento, la calidad de la canal y los recuentos microbiológicos. El perfil de ácidos grasos tampoco mostró diferencias entre los distintos tratamientos, pero la concentración de AGMI (ácidos grasos monoinsaturados) fue mayor y la de AGP (ácidos grasos poliinsaturados) fue menor en los animales alimentados con un 12% de inclusión de orujo de aceituna.

La falta de diferencias en los resultados obtenidos demostró que un 12% de inclusión de orujo de aceituna se puede suministrar a los animales sin ningún efecto negativo sobre los rendimientos, la calidad de la canal, la salud intestinal y que mejora el perfil de AG (ácidos grasos) de la grasa subcutánea.

Palabras clave: orujo de aceituna, subproductos, porcino, características de la canal, salud intestinal

ALUMNA: Elia Sanchis Esteve

TUTORA: Ana Isabel Jiménez Belenguer

COTUTOR: Salvador Calvet Sanz

DIRECTOR EXPERIMENTAL: Pablo Ferrer Riera

Valencia, diciembre de 2018

RESUMEN

Actualment la carn de porc és la carn que més es consumeix a nivell mundial i es preveu que la seua producció augmente en els pròxims anys. Per això, l'industria alimentaria, a través dels seus subproductes, ofereix potencials matèries primeres alternatives per a la producció animal, que comporten una menor càrrega ambiental.

En Espanya existeixen subproductes típicament mediterranis com els de l'olivar. La polpa d'oliva és un subproducte de la fabricació de l'oli d'oliva. La seua disponibilitat és prou elevada durant tot l'any, podent-se deshidratar, per el què incrementa el seu interès per a l'alimentació animal.

L'objectiu principal d'aquest treball és determinar els efectes d'inclusió de la polpa d'oliva parcialment desengreixada en dietes de porcs d'engreix sobre el rendiment del creixement, la salut intestinal i la qualitat de la carn.

Els assajos productius es van dur a cap en la unitat experimental de greix del Centre d'Investigació i Tecnologia animal de l'Institut Valencià d'Investigacions Agràries (IVIA). En l'assaig productiu es van utilitzar 160 animals de 20kg de pes que van ser distribuïts en 32 corrals d'engreix, a raó de 5 animals/corral. Posteriorment, a cada corral se li va assignar un tractament experimental. Durant el període experimental es van realitzar controls quinzenals de pes/animal i consums per corral. Una volta sacrificats els animals, es van prendre mesures de pH, espessor de greix i color en les canals, amés, es van agafar mostres de greix subcutani per a la seua posterior anàlisi d'àcids grassos.

Per a l'assaig de la salut intestinal es van agafar mostres de femta de dos animals per corral a l'atzar. Per cada corral s'homogeneïtzaren les dues mostres i foren tractades com a una. Es va sembrar en els diferents medis de cultiu.

Per a l'assaig d'àcids grassos es va utilitzar la metodologia proposada per O'Fallon *et al.*, (2007).

No es van trobar diferències significatives entre els diferents tractaments quant al rendiment, de la qualitat de la canal i els recomptes microbiològics. El perfil d'àcids grassos tampoc va mostrar diferències entre els diferents tractaments, però la concentració d'AGMI (Àcids Grassos Monoinsaturats) va ser major i la d'AGP (Àcids Grassos Poliinsaturats) va ser menor en els animals alimentats amb un 12 % d'inclusió de polpa d'oliva.

La falta de diferències en els resultats obtinguts va assenyalar que un 12% d'inclusió de polpa d'oliva es pot administrar als animals sense cap efecte negatiu sobre els rendiments, la qualitat de la canal i la salut intestinal i que millora el perfil de AG (àcids grassos) del greix subcutani.

Paraules clau: polpa d'oliva, subproducte porcí, característiques de la canal, salut intestinal.

ALUMNA: Elia Sanchis Esteve

TUTORA: Ana Isabel Jiménez Belenguer

COTUTOR: Salvador Calvet Sanz

DIRECTOR EXPERIMENTAL: Pablo Ferrer Riera

Valencia, diciembre de 2018

ABSTRACT

Pork meat is currently one of the most consumed meats worldwide and its production is expected to increase in the years to come. That is why the food industry offers alternative and potential raw material through its sub-products for the animal feed, which imply lower environmental burden.

In Spain there are sub-products typically Mediterranean, such as the ones derived from the olive grove. The olive cake is a sub-product which results from the manufacturing of olive oil. Its availability is quite high during the whole year, but it can be dehydrated, and that is why the animal feed industry's interest increases.

The main objective of this thesis is to determine the effects of the inclusion of partially-degreased olive cake in diets of fattening pigs on the growth performance, the intestinal health and the meat quality.

The productive tests were carried out in the fattening experimental unit of the Animal Research and Technology Centre of the Valencian Institute of Agricultural Research (IVIA). In the productive test 160 animals of 20 kg of weight were used, distributed in 32 fattening farmyards, at a rate of 5 animals per farmyard. During the experimental period, fortnightly controls were carried out, related to weight per animal and consumption per farmyard. Once the animals were sacrificed, several measures were adopted, regarding Ph., fat thickness and carcass color, and also several subcutaneous fat samples were taken in order to further analyze them in terms of fatty acids.

For the intestinal health test, stool samples from two animals were taken, chosen randomly per farmyard. These two samples per farmyard were homogenized in order to only work on one, which was sown in the different crops. Subsequently, the settlements grown in each crop were analyzed.

For the fatty acids test, the methodology suggested by O'Fallon *et al.*, (2007) was implemented.

No relevant differences were found among the different treatments regarding performance, carcass quality and microbiological recounts. The fatty acids profile also showed no differences among the different treatments, but the concentration of MUFAs (monounsaturated fatty acids) was higher and the concentration of polyunsaturated fats was lower in the animal fed with 12% of inclusion in olive cake.

The lack of differences in the results obtained proved that 12% of olive cake may be supplied to the animals without risk of having negative effects on performance, carcass quality and intestinal health, and that it even enhance the profile of fatty acids of the subcutaneous fat.

KEYWORDS: olive cake, sub-products, pork, carcass characteristics, intestinal health

ALUMNA: Elia Sanchis Esteve

TUTORA: Ana Isabel Jiménez Belenguer

COTUTOR: Salvador Calvet Sanz

DIRECTOR EXPERIMENTAL: Pablo Ferrer Riera

Valencia, diciembre de 2018

AGRADECIMIENTOS.

A mis padres, por apoyarme siempre y haberme enseñado a luchar por lo que quiero, por la paciencia infinita que han tenido conmigo durante todos estos años y por esa confianza incondicional que siempre han tenido en mí y en todo lo que hago. A Sandra, por ser mi referente, por animarme a seguir siempre, por “ponerme las pilas” en los momentos clave y por celebrar conmigo cada éxito de esta etapa.

A Josep Miquel Conca, Mario Muñoz y Selene Valero, por ser y estar siempre, por compartir conmigo los momentos de locura y de agobio, pero recordarme siempre que, aunque no iba a ser fácil, lo iba a conseguir, por confiar siempre en mí.

A Victoria, mi fiel compañera de batallas, por haberme enseñado a trabajar en equipo, por los sacos de pienso levantados y porque sin saber dónde nos metíamos, desde el principio tuvimos claro que queríamos hacerlo juntas, compañera de alegrías, triunfos y algún que otro fracaso, sabes que parte de este trabajo, también es tuyo.

A Ana Jiménez, por ofrecerme la oportunidad de realizar este trabajo, por la dedicación, la paciencia y el cariño con el que siempre me ha tratado. A Pablo Ferrer, por su apoyo, por guiarme y brindarme su ayuda siempre que la he necesitado, por haberme dado la oportunidad de aprender a trabajar en equipo. A Salva Calvet, por preocuparse y ayudarme siempre que ha hecho falta. A los tres, gracias por despertar en mí (Ministerio de Agricultura y Pesca Alimentación y Medio Ambiente. Servicio general de estadísticas 2017, 2017) el “gusanillo” en el mundo de la investigación, sin vosotros este trabajo no habría sido posible.

A todos, ¡muchísimas gracias! Porque habéis sido importantes para mí y porque sin vuestro granito de arena, nada de esto habría sido posible.

ÍNDICE

1.INTRODUCCIÓN	1
1.1 LA 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. ORUJO DE ACEITUNA COMO INGREDIENTE EN LA ALIMENTACIÓN PORCINA	2
1.2.1. Sector oleícola	2
1.2.2. Características de los subproductos de la industria oleícola.....	2
1.2.3. Contenido, tipo de grasa y polifenoles	3
1.3. SALUD INTESTINAL EN PORCINO	4
1.3.1. Caracterización de la microbiota intestinal en cerdos.....	4
1.3.2 Microorganismos indicadores	5
1.4. ALIMENTACIÓN ANIMAL Y CALIDAD DE LOS PRODUCTOS CÁRNICOS. ...	7
1.4.1 Características de la canal.....	8
1.4.2. Calidad de la carne	9
2.OBJETIVOS	11
3. MATERIAL Y MÉTODOS	12
1. UBICACIÓN DEL ESTUDIO E INSTALACIONES	12
2. ANIMALES Y TRATAMIENTOS EXPERIMENTALES	12
3. PERIODO EXPERIMENTAL	15
4. REGISTROS Y MUESTREOS	15
4.1 RENDIMIENTO PRODUCTIVO	15
4.2 ANÁLISIS MICROBIOTA.....	16
4.3 CALIDAD DE LA CARNE Y LA CANAL.....	18
5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	21
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	22
4.1 RESULTADOS OBTENIDOS PARA CMD, IC Y GMD	22
4.2. ANÁLISIS DE LA MICROBIOTA Y SALUD INTESTINAL	23
4.3. CALIDAD DE LA CARNE Y LA CANAL	25
4.4. ANÁLISIS DE ÁCIDOS GRASOS.....	26
5.CONCLUSIONES	28
6.BIBLIOGRAFÍA	29

1.INTRODUCCIÓN

1.1 LA SOSTENIBILIDAD DEL SECTOR PORCINO.

1.1.1. Importancia del sector porcino

La importancia del sector porcino presenta un especial interés en la economía española ya que supone el 12,7% de la Producción Final Agraria. Dentro de las producciones ganaderas, que representan en torno al 38% de la Producción Final Agraria, el sector porcino ocupa el primer lugar en cuanto a su importancia económica alcanzando el 36,4% de la Producción Final Ganadera.

A nivel mundial, la UE-28 ocupa el segundo lugar como productor de carne de porcino, por detrás de china. Después de China, EEUU y Alemania, España es la cuarta potencia productora y a nivel europeo, ocupa el segundo lugar en producción con un 17,5% de las toneladas producidas (datos 2016, Fuente: SG Estadísticas), liderado el primer puesto por Alemania.

En los últimos años el sector porcino ha crecido considerablemente, tanto a nivel de producción, como en censos y en número de explotaciones, esto ha sido posible gracias al empuje de los mercados exteriores viéndose recompensada, a su vez, la competitividad del sector en el mercado mundial. (Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. Servicio general de estadísticas. 2017)

En la actualidad, la carne de porcino es la carne de mayor consumo a nivel mundial y es previsible que su producción aumente en las próximas décadas (Philippe y Nicks,2015)

1.1.2. Subproductos agroindustriales y sostenibilidad ganadera.

La ganadería intensiva, fundamentalmente la producción de monogástricos es la principal consumidora de piensos concentrados que habitualmente incluyen materias primas nobles como los cereales y la soja. Sin embargo, estos ingredientes compiten directamente con la alimentación humana (Smith *et al.*, 2013) y son cada vez menos competitivos para alimentación animal.

Investigar la utilización de materias primas alternativas tales como los subproductos resultantes de actividades agroindustriales, es esencial a la hora de asegurar la sostenibilidad económica, social y ambiental de la ganadería actual y futura. En particular, el sector porcino es un sector clave para convertir estos subproductos en proteína animal de una forma sostenible, tanto por su importancia a nivel mundial como por su fisiología digestiva que lo hace potencial consumidor de subproductos (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, suelen conllevar una menor carga ambiental asociada que otras materias producidas expresamente para alimentar al ganado. Además, el uso de subproductos agroindustriales para alimentación animal ofrece una vía alternativa de eliminación de subproductos en las industrias, lo cual resulta esencial para cumplir con la presión legislativa que existe en la actualidad en el ámbito de la protección medioambiental. En definitiva, la utilización de subproductos agroindustriales en alimentación animal forma parte del concepto de economía circular basado en el reciclaje y reutilización de materiales a todos los niveles con el fin de cerrar los ciclos de nutrientes que promueve la Comisión Europea con fines medioambientales y económicos en su Plan de Acción para la economía circular (Comisión Europea, 2016).

En resumen, y desde un punto de vista global, los subproductos agroindustriales constituyen una alternativa útil para promover la eficiencia y sostenibilidad del sector agrario, con el uso de recursos locales para el desarrollo de la ganadería, ayudando a cerrar los ciclos de nutrientes a nivel local.

1.1.3. Subproductos utilizados en alimentación porcina

La zona 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)).

Es habitual que estos subproductos presenten una importante variabilidad debida a modificaciones en el proceso de obtención que se añade a la propia de las materias primas, tal como se ha descrito para los DDGS (Belyea *et al.*,2010). Esto limita su uso comercial en las fábricas de pienso. 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).

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 esca

1.2. ORUJO DE ACEITUNA COMO INGREDIENTE EN LA ALIMENTACIÓN PORCINA

1.2.1. Sector oleícola

España se sitúa en el primer lugar mundial en superficie y producción de aceite de oliva. La producción española representa aproximadamente el 60% de la producción de la UE y el 45% de la mundial. La superficie dedicada a este cultivo es de 2.584.564 ha, lo que representa el 14% de la SAU. De esas hectáreas el 28% se cultiva en regadío. En los últimos años la producción ha sido superior al millón de toneladas (de aceite) con tendencia a una producción creciente. Es importante destacar que, en el último decenio, la producción media se ha incrementado un 23% respecto al anterior periodo.

Se trata por tanto de una producción agraria mayoritaria, asociada a una industria de transformación bien establecida y con capacidad de aportar importantes cantidades de subproductos potencialmente útiles para la alimentación animal.

1.2.2. Características de los subproductos de la industria oleícola

Los subproductos típicamente mediterráneos como los subproductos del olivar y de los cítricos han sido principalmente estudiados en alimentación de rumiantes (Bampidis y Robinson,2006; Gharbi y Benarif,2011). No obstante, 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 en porcino. Si se tiene en cuenta la importancia del sector porcino español, la utilización de

subproductos en la alimentación de esta especie supone una vía rápida de valorización contribuyendo a la sostenibilidad y rentabilidad del sistema productivo.

El **orujo de aceituna** es un subproducto que procede de la fabricación del aceite de oliva. El orujo producido en las almazaras contiene entre un 18 y 32% de hueso; suele ser extraído para ser usado como biomasa por su alto valor para este fin y por su bajo valor nutritivo, y también por los posibles daños que pudiera ocasionar en el epitelio digestivo al incorporar el orujo en el pienso (FEDNA,2017; Base de datos feedipedia)

El **orujo deshuesado graso** contiene una cantidad significativa de aceite que puede extraerse con hexano y ser usado en la fabricación de biocombustibles. Ésta es la forma más habitual de comercialización en España y el producto resultante después de haber sido extraído recibe el nombre de **orujillo**. Una pequeña parte se destina a alimentación animal en forma de gránulos de color oscuro para animales rumiantes en régimen extensivo. En cualquier caso, es necesario una deshidratación previa del producto. El rendimiento final del proceso es de 25-40 kg por 100 kg de aceituna (Eraso *et al.*,1978), lo que implica una producción potencial en España de alrededor de 2.000.000 Tm/ año de orujo deshidratado. La deshidratación se realiza mediante diferentes procedimientos que varían en cuanto a la temperatura aplicada y el tiempo de desecación.

Los subproductos anteriormente mencionados, una vez desecados poseen cierto valor energético en función de la cantidad de aceite que todavía contengan y su materia orgánica en general es poco digerible.

1.2.3. Contenido, tipo de grasa y polifenoles

La composición química del orujo varía según las características de la aceituna, el clima y el proceso de fabricación utilizado. Estos factores definen los cambios en la proporción de sus distintos componentes (epicarpio, mesocarpio, endocarpio y restos de huesos) que tienen composiciones químicas sensiblemente diferentes (Eraso *et al.*,1978); Nefzaoui,1991). Según bases de datos consultadas (Base de datos del SIA y de la SEEP, CIHEAM (1990), FEDNA (2010), Base de datos Feedpedia), el **orujo deshuesado y extractado** se caracteriza por un elevado peso de la fracción fibrosa (altamente lignificada) y un contenido significativo de proteína (alrededor de un 10%) con una elevada proporción ligada a la fibra. El orujo graso, sin embargo, tiene una concentración apreciable de grasa (entre un 10 y un 20% sobre materia seca (MS)) de alta calidad (rica en oleico), por lo que presenta un gran interés para su inclusión en piensos de acabado o gestación de ganado porcino.

Los subproductos del olivo son ricos en componentes fenólicos (0,3-5% de MS) con una alta capacidad antimicrobiana y antioxidante (Leouifoudi *et al.*,2015). De manera colateral a su valor nutricional y la aceptación por parte de los animales, el orujo está compuesto principalmente por ortofenoles como oleuropeína (Vázquez *et al.*,1974). que puede ser valorizada en caso de su utilización para la alimentación animal. Además, el orujo contiene toda la carga contaminante del alpechín entre los que destacan los polifenoles (Cabrera *et al.*,2002).

Los polifenoles son capaces de modular la ecología intestinal, influyendo en la salud del huésped a través de los compuestos bioactivos generados por la microbiota colónica. Estudios *in vitro* en animales y humanos realizados con una selección de polifenoles a una concentración determinada reportaron modificaciones en el microbioma intestinal por la inhibición de bacterias patógenas y la estimulación del crecimiento de bacterias beneficiosas debido a modificaciones del ecosistema intestinal (Cardona *et al.*,2013)

Por tanto, se trata de un subproducto que puede condicionar la salud gastrointestinal del cerdo y modificar la calidad de su carne.

1.3. SALUD INTESTINAL EN PORCINO

1.3.1. Caracterización de la microbiota intestinal en cerdos

El tracto gastrointestinal de los mamíferos (GIT) se estima que contiene entre 500-1000 especies bacterianas diferentes que interactúan constantemente con el huésped y otros miembros de la comunidad microbiana. La microbiota del GIT, microorganismos que viven dentro del intestino, se estima que está compuesta aproximadamente por 10^{14} bacterias (Savage, 1977; Xu y Gordon, 2003).

La microbiota intestinal de los mamíferos tiene numerosas funciones que benefician al huésped, tales como la digestión y la fermentación de carbohidratos, producción de vitaminas, mantenimiento de las funciones normales de las vellosidades intestinales, regulación de las respuestas inmunitarias y protección contra las bacterias patógenas.

En el caso de los cerdos, la microbiota intestinal es un ecosistema muy complejo que presenta una composición dinámica y una diversidad que cambia con el tiempo y a lo largo del tracto gastrointestinal (Raphaële *et al.*, 2017).

Se cree que los animales están libres de bacterias antes de nacer, sin embargo, durante el proceso de parto los animales están expuestos a una variedad de bacterias en la vagina y de contaminación fecal en la madre o en el medio ambiente. El concepto de sucesión microbiana en los animales es un principio ecológico reconocido desde hace mucho tiempo: la composición de la microbiota intestinal no es estática y cambia con el tiempo. Por ejemplo, el intestino distal de los mamíferos es un biorreactor que contiene microorganismos anaerobios capaces de degradar una variedad de polisacáridos que de otro modo serían indigestibles (Backhed *et al.*, 2005). El tracto gastrointestinal es funcional y anatómicamente diverso. Isaacson *et al.*, (2012) y Looft *et al.*, (2014) han confirmado diferencias en las composiciones de la microbiota en diferentes lugares del intestino del cerdo. Hay una sucesión de microbios a lo largo del tiempo que culmina en una comunidad “climax” más estable (Palmer *et al.*, 2007).

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 10^6 g⁻¹, los enterococos se encuentran en torno a 10^5 g⁻¹, *Lactobacillus*, *Clostridium* y *Fusobacterium* en recuentos se observan de a 10^3 g⁻¹ a 10^5 g⁻¹, además de otros muchos organismos, como por ejemplo levaduras, estafilococos y *Pseudomonas* aunque en menores cantidades (Adams y Moss, 1997)

Algunos productos naturales y subproductos agroindustriales pueden ser potencialmente utilizados como fuentes de fibra fermentable en dietas para cerdos, especialmente en los lechones de destete (Cajarville *et al.*, 2011) Debido a sus características químicas, la fibra de la dieta puede tener diferentes efectos sobre la absorción de nutrientes. Las fibras solubles se relacionan con un aumento en la viscosidad luminal (Rodríguez-Palenzuela *et al.*, 2002) y en la capacidad de retención de agua de la digesta (Canibe y Bach Knudsen, 2002).

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 (Carajaville *et al.*,2011).

Se sabe que la microbiota intestinal proporciona otras funciones beneficiosas para el huésped, como el reciclaje de las sales biliares, la producción de vitamina K y la producción de fosfatasas alcalinas exógenas (Yolton and Savage,1976; Gililand and Speck,1977; Ramotar *et al.*, 1984).

Los prebióticos son fermentados por microorganismos benéficos, como *Lactobacillus spp.* y *Bifidobacterium spp.*, estimulando su crecimiento y de esta forma desplazando la población microbiana hacia este tipo de microorganismos por competición con otras especies patógenas (McDonald *et al.*,2006)

Las bacterias que conforman la microbiota intestinal proporcionan beneficios a los hospedadores. En este sentido, se ha descrito que la población microbiana que reside en el tracto digestivo tiene un impacto directo sobre la morfología, el sistema inmunitario y las características fisiológicas del tracto gastrointestinal. Parece ser que todos estos efectos dependen en gran medida del tipo de especie bacteriana. (McCracken y Gakins,1999).

Por último, la microbiota del tracto gastrointestinal tiene también como función fisiológica la prevención de la colonización de éste por nuevas especies bacterianas, especialmente especies patógenas (Rolfe,2000). Este hecho se debe a que las bacterias exógenas deben competir con las bacterias que habitan en el tracto gastrointestinal tanto por la disponibilidad de nutrientes como por los sitios de anclaje a la mucosa. Este fenómeno es conocido con el nombre de “exclusión competitiva” (Fuller,1977).

1.3.2 Microorganismos indicadores

1.3.2.1. *Lactobacillus*

Los lactobacilos se encuentran fácilmente en los vegetales en carnes y pescados. Forman parte de la flora normal de la boca, tracto intestinal y del aparato reproductor femenino humano y de muchos animales. No son considerados microorganismos patógenos (a excepción de algunas especies que parecen intervenir en la caries dental). Poseen gran importancia industrial, puesto que se utilizan en varios procesos de fermentación láctica (yogur, quesos...) e intervienen en la fabricación de productos derivados de los vegetales (encurtidos).

Son bacterias del ácido láctico, no producen endosporas y son normalmente inmóviles. Carecen de citocromos y obtienen la energía por fosforilación oxidativa. Generalmente, se les clasifica como anaerobios facultativos, su característica principal es la de fermentar azúcares con producción de ácido láctico, pudiendo ser homofermentadores u heterofermentadores. Su crecimiento se ve favorecido por anaerobiosis. Suelen crecer entre 2°C y 53°C, aunque su temperatura óptima es de 30-40°C. Son acidófilos, creciendo óptimamente a pH comprendidos entre 5,5-6,2.

Se considera que algunos lactobacilos tienen efectos prebióticos, debido a la producción de bacteriocinas antimicrobianas que pueden ayudar a formar la composición de la microbiota intestinal (Hyeun y Richard,2015)

1.3.2.2. *Bifidobacterium*

En 1974, la 8ª edición del manual de Bergey reconoce a *Bifidobacterium* como un género propio formado por 11 especies (Buchanan y Gibbons, 1974). En la actualidad la familia

Bifidobacteriaceae está formada por los géneros *Bifidobacterium*, *Gardnerella*, *Aeriscardovia*, *Parascardovia*, *Scardovia*.

Son bacilos Gram positivos, la morfología de la familia consiste en bacilos pleomórficos que se presentan individualmente, en cadenas o en grupos. Las células no tienen cápsula y no forman esporas, no son móviles ni presentan filamentos. Son microorganismos anaerobios, no utilizan el indol, no hidrolizan la gelatina, catalasa y oxidasa negativas. 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 necesario para su crecimiento varía entre 6,5-7; 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 (Scardovi, 1986). La apariencia de las colonias de este género, en condiciones de anaerobiosis pueden variar mucho en función del medio empleado. Por lo general, las colonias formadas son redondeadas, pueden ser brillantes y de diámetro muy variable. Scardovi (1986) distinguió dos tipos diferentes de colonias de *B. bifidum*, unas son muy lisas, convexas, blancas y brillantes y otras son rugosas, con bordes desiguales.

Las bifidobacterias son habitantes normales del tracto gastrointestinal humano y de diversos animales y se encuentran presentes durante toda la vida en distintas cantidades, apareciendo prácticamente en los días posteriores al nacimiento. Constituyen una de las especies predominantes de la microbiota del colon, junto con *Peptostreptococcus*, *Eubacteras*, *Clostridia* y *Bacteroides*.

Se atribuyen propiedades probióticas a muchas especies microbianas, siendo comúnmente utilizadas cepas de *Lactobacillus spp*, *Bifidobacterium spp.*, *Streptococcus spp*, *Bacteroides spp*, *Propionibacterium spp.* y *Enterococcus spp.* (Cajarville et al., 2011)

1.3.2.3. Anaerobios totales

Anaerobios son aquellos gérmenes 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 de medio ambiente.

Los anaerobios en general poseen un metabolismo de tipo fermentativo, en el cual sustancias orgánicas son los aceptores finales de electrones, aunque también pueden obtener energía a partir de la respiración anaerobia. Otras características comunes a los microorganismos anaerobios son sus requerimientos nutricionales complejos, su lento crecimiento y su labilidad, lo cual, sumado a sus requerimientos atmosféricos estrictos (de O₂ y CO₂) hace que su aislamiento sea difícil.

La mayoría de las bacterias anaerobias que causan infecciones en humanos son parte de la microbiota normal de piel y mucosas superando en cantidad a las bacterias facultativas en el intestino (Rivas y Mota, 2006)

En estudios realizados sobre la microbiota del tracto gastrointestinal, se observó que la mayoría de las bacterias cultivables del colon son Gram positivos, *Streptococcus* anaerobios estrictos, *Lactobacillus*, *Eubacterias*, *Clostridia* y *peptoestreptococos*. Mientras que los Gram negativos comprenden aproximadamente el 10% del total de las

bacterias cultivables, la mayoría pertenecen a los *Bacteroides* y grupos de *Prevotella* (Leser, *et al.*,2002)

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. Este microorganismo y sus esporas están presentes siempre en aguas residuales; sin embargo, no proliferan en medios acuáticos (Heymann,2005). Dicho microorganismo es un bacilo esporulado Gram positivo, suele presentarse solo o en parejas, es inmóvil puesto que no presenta cilios. En cultivo sus colonias son negras con halo de bordes regular y su temperatura óptica de crecimiento es de 43 a 47°C y pH de 7.5. (M.C Burgeois y Mescle.,1994)

Otro de los microorganismos anaerobios que podemos encontrar en el tracto gastrointestinal es el género *Prevotella*, son bacilos cortos anaerobios, pleomórficos, inmóviles no esporulados. Presentan como característica colonias pignmentadas, no pigmentadas y florecen a la luz UV

1.3.2.4. Enterobacterias

Según la clasificación de Barney *Escherichia coli* pertenece a la familia de las *Enterobacteriaceae*, al género *Escherichia* y a la especie *Escherichia coli*.(Pascual Anderson,1989). El bacteriólogo alemán Theodor Escherich, en 1885, aisló por primera vez heces de niños con enteritis la bacteria *Escherichia coli* (Pascual Anderson,1989). Dicho microorganismo es anaerobio facultativo y prácticamente el habitante casi universal del intestino de las personas y de los animales de sangre caliente. Su presencia corriente en las heces, su fácil cultivabilidad, su carácter generalmente no patógeno y las características de supervivencia en el agua determinaron que *E. coli* fuese adoptado como indicador de contaminación fecal.

Dicha especie, presenta microorganismos de forma bacilar, Gram-negativo, catalasa positivo, oxidasa negativo, no esporulados, raramente encapsulados y normalmente móviles.

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, lo que ocurre es que muchas de sus reacciones bioquímica funcionan mejor a 44°C que a 37°C (Pascual Anderson, 1989). El calor los destruye a 60°C en 15 minutos y a 55°C en 1 hora (Adams y Moss,1997). 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 (Adams y Moss,1997).

1.4. ALIMENTACIÓN ANIMAL Y CALIDAD DE LOS PRODUCTOS CÁRNICOS.

Como se ha comentado anteriormente, el aprovechamiento de recursos naturales en alimentación de ganado porcino toma en estos momentos más interés que nunca, debido a los elevados precios actuales de los piensos compuestos comerciales para la alimentación animal. 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 principal factor de variación sobre estas características (de Jesús *et al*,2017).

En los últimos años ha aumentado el interés por la manipulación de la composición de ácidos grasos de la carne. Esto se debe a que la carne es vista como una fuente importante de grasa en la dieta y especialmente de ácidos grasos saturados, que han

sido implicados en enfermedades asociadas con la vida moderna, especialmente en los países desarrollados.

Los componentes de la calidad tecnológica de la carne influenciada por los ácidos grasos son la firmeza del tejido graso (dureza), la vida útil (oxidación de lípidos y pigmentos) y el sabor.

El efecto de los ácidos grasos sobre la firmeza se debe a los diferentes puntos de fusión de los ácidos grasos de la carne. Así, a medida que aumenta la insaturación, disminuye el punto de fusión. La variación en la estructura de la molécula también es importante.

El efecto de los ácidos grasos sobre la vida útil se explica por la propensión a la oxidación de los ácidos grasos insaturados, lo que conduce al desarrollo de la ranciedad a medida que aumentan los tiempos de exposición. El cambio de color se debe a la oxidación de la oximioglobina roja a la metioglobina marrón, reacción que generalmente se produce en paralelo a la de la ranciedad (Wood *et al.*,2003).

El efecto de los ácidos grasos en el sabor de la carne se debe a la producción de productos de oxidación de lípidos volátiles y olorosos durante la cocción y a la implicación de éstos con los productos de reacción de Maillard para formar otros volátiles que contribuyen al olor y al sabor. Los ácidos grasos fosfolípidos insaturados son particularmente importantes en el desarrollo del sabor. Las primeras investigaciones demostraron que los tejidos grasos de la carne eran la fuente del sabor característico de la especie (Mottram, 1998).

La evidencia de que los ácidos grasos monoinsaturados no elevan los niveles de colesterol en la sangre ha llevado a algunos trabajadores a explorar la alimentación de cerdos con dietas ricas en ácido oleico. En un estudio, los niveles muy altos de aceite de girasol de alto contenido en oleico aumentaron la concentración de ácido oleico en el lípido muscular de 42 a 53 g/100 g (Rhee *et al.* 1990) y aumentaron significativamente las puntuaciones del panel de sabor en cuanto a ternura, jugosidad y sabor.

Se sugiere que las dietas ricas en fibra fermentable afectan a la calidad de la carne de cerdo mediante la reducción del rendimiento de la canal o la variación del contenido de grasa de la canal (Márquez y Ramos,2007; Watanabe *et al.*,2010b; Crisswhite *et al.*,2013) debido a sus efectos en la fermentación intestinal.

1.4.1 Características de la canal

Según el reglamento (UE) 1308/ 2013 se entiende por canal, al cuerpo entero del animal sacrificado tal como se presenta después de las operaciones de sangrado, eviscerado y desollado.

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

Aunque la composición de ácidos grasos del tejido adiposo y muscular puede estar influenciado por diferentes factores como la especie, la raza, la edad, el peso, el sexo (Lorenzo *et al.*,2012) y hormonas (Enser,1991;Flint y Vernon,1993) es la dieta en las etapas previas al sacrificio la que más influye en el perfil de ácidos grasos de la grasa

(Andrés *et al.*,2001;Cava *et al.*,1997; Tejeda *et al.*,2002;Wood *et al.*,2003) La composición de los ácidos grasos de los fosfolípidos en porcino, vacuno y gallinas principalmente los poliinsaturados, depende de la composición grasa de la dieta (Lin *et al.*,1989; Asghar *et al.*,1991;Monahan *et al.*,1992) y la duración del cebo con esa dieta (Miller *et al.*,1987) En el cerdo, y en otros animales monogástricos, la composición de los ácidos grasos de la grasa de la canal puede ser modificada aumentando la concentración de los ácidos grasos en la dieta, los cuales son absorbidos por el intestino delgado e incorporado directamente al tejido graso. Por lo tanto, es posible producir carne y productos cárnicos que cumplan las directrices dietéticas para humanos (Lough *et al.*,1991)

Por lo tanto, la composición de ácidos grasos en la carne puede ser alterada. El método de engorde del ganado influye en el color y la consistencia de la grasa de la canal. Tanto el color como la consistencia de la grasa de la canal son componentes de la calidad de la grasa. (Webb y O'Neill,2008)

Un aumento en el contenido de grasa de la canal a menudo resulta en una menor proporción de ácidos grasos poliinsaturados: ácidos grasos saturados y en la etapa de engorde se acumulan más ácidos grasos saturados en los depósitos de grasa (De Smet *et al.*, 2000). Wood *et al.*, 2003 en cerdos y Webb y Casey (1997) en ovejas informaron que 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).

La proporción de ácidos grasos monoinsaturados (AGMI), especialmente en el ácido oleico, podría convertirse en un ingrediente dietético interesante porque podría modificar el perfil de ácidos grasos de los tejidos grasos de cerdo (Rhee *et al.*, 1988; Mas *et al.*, 2010). Hay que tener en cuenta la creciente demanda de la sociedad moderna de carne sana con menos ácidos grasos saturados (AGS).

Según los estudios realizados por (Joven *et al.*,2014) la inclusión de niveles moderados de torta de aceituna (hasta 100 g/kg) en las dietas para cerdos de engorde tiende a mejorar el crecimiento diario y a reducir el espesor de la grasa de la canal. Aunque su efecto sobre las características de la carne es limitado, el uso de la torta de aceituna dietética mejora la composición de las grasas al disminuir el total de ácidos grasos saturados y aumenta el total de ácidos grasos monoinsaturados, especialmente la proporción de ácido oleico, lo que también es deseable desde el punto de vista de la salud de los consumidores.

1.4.2. Calidad de la carne

Las deficiencias de calidad que más preocupan a los procesadores de carne de cerdo son: grasa excesiva, color, baja retención de agua, sabor y olor desagradable, así como la inconsistencia del peso vivo, y la presencia de abscesos y contusiones de las canales.

El pH de la carne, tendrá influencia sobre las características de color, ternura, sabor, capacidad de retención de agua y conservación, por lo que afectará a las propiedades organolépticas de la carne, a su calidad higiénica y a su aptitud tecnológica para la elaboración de productos cárnicos.

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)

Los ácidos grasos están implicados en varios aspectos “tecnológicos” de la carne. Debido a que tienen puntos de fusión muy diferentes, la variación en la composición de los ácidos grasos tiene un efecto importante en la firmeza o suavidad de la grasa de la carne intramuscular (marmoleada). Los grupos de células grasas que contienen grasa solidificada con un punto de fusión alto parecen más blancos que cuando hay grasa líquida con un punto de fusión más bajo, por lo que el color de la grasa es otro aspecto de calidad afectado por los ácidos grasos.

La capacidad de los ácidos grasos insaturados, especialmente aquellos con más de dos dobles enlaces, para oxidarse rápidamente, es importante para regular la vida útil de la carne (ranciedad y deterioro del color). Sin embargo, esta propensión a la oxidación es importante en el desarrollo del sabor durante la cocción. (Wood *et al.*,2003)

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 procesos de oxidación y oxigenación de la mioglobina (Alberti *et al.*,2005).

Parece que existe la posibilidad de cambiar el perfil de ácidos grasos en la carne de los animales mediante la alimentación suplementaria. Por ejemplo, la suplementación de semillas oleaginosas puede alterar la composición de ácidos grasos en los rumiantes. Wood.*et al.*,(1999) han demostrado que complementar el contenido de ácidos grasos poliinsaturados en la dieta con semillas oleaginosas puede prevenir en parte la hidrogenación de ácidos grasos insaturados en la dieta por parte de los microorganismos del rumen. Se han reportado cambios en las concentraciones de colesterol y en la composición de ácidos grasos lípidos en algunos tejidos de corderos alimentados con aceite de cártamo (Caputi Jambrenghi *et al.*, 2007). Kott *et al* (2003) demostraron que la inclusión del aceite de cártamo de alto contenido de ácido linoleico en la dieta de acabado de los corderos puede tener un efecto positivo en el perfil de ácidos grasos de la carne de cordero.

En los cerdos, se ha observado en varios estudios una fuerte correlación inversa entre la cantidad de grasa y la concentración del principal ácido linoleico de ácidos grasos poliinsaturados.

En bovinos y ovinos las concentraciones de ácidos grasos poliinsaturados en el lípido total son bajas debido a la hidrogenación en el rumen. El ácido oleico (18: 1) aumenta con el contenido de grasa (como suele ocurrir en los cerdos), pero el ácido esteárico disminuye, lo que provoca un aumento general de la insaturación y la blandura a medida que aumenta la grasa (Leat, 1975), a diferencia de lo que ocurre en los cerdos. (Wood y Enser,1997)

2.OBJETIVOS

Debido al elevado contenido en grasa y moderado en proteína del orujo de aceituna, este subproducto es capaz de aportar valores aceptables de energía que nos permitan reemplazar otras materias primas cuya disponibilidad para la alimentación animal se verá limitada en los próximos años.

El uso de este subproducto puede provocar cambios en la fisiología digestiva de los animales que darán lugar a un mayor consumo de pienso, mayor sensación de saciedad, confort intestinal y bienestar de los animales.

Por todo ello, y considerando el efecto que la alimentación ejerce sobre la conformación de la canal y la composición y características tanto de la carne como de los productos elaborados, es necesario realizar un estudio que permita dar a conocer el efecto de la inclusión de orujo de aceituna en la formulación de los piensos sobre la calidad de la canal y de la carne.

El objetivo principal de este trabajo es determinar los efectos de inclusión del orujo de aceituna parcialmente desengrasado en las dietas de cerdos de cebo sobre el rendimiento del crecimiento, la salud intestinal y la calidad de la canal.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

1. UBICACIÓN DEL ESTUDIO E INSTALACIONES

Los estudios productivos se han llevado a cabo en la unidad experimental de cebo del CITA (Centro de Investigación y Tecnología Animal) del IVIA (Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias) situado en Segorbe (Castellón).

La formulación y fabricación de los piensos se realizó en las instalaciones de “Grupo Vall Companys” situado en Massalfassar (Valencia).

En cuanto a los análisis microbiológicos y análisis de ácidos grasos se realizaron en los laboratorios de la Universidad Politécnica de Valencia (UPV) en los departamentos de Biotecnología y Ciencia Animal, respectivamente.

El sacrificio de los animales se realizó en el matadero “Cárnicas Frivall” situado en Villar de Olalla (Cuenca).

2. ANIMALES Y TRATAMIENTOS EXPERIMENTALES

Para el ensayo productivo se emplearon 160 cerdos machos castrados Duroc-Danbred X (Landrace x Large White) con 25.1 ± 3.6 kg de peso inicial, que fueron distribuidos y alojados de forma balanceada según el peso en 32 corrales de cebo a razón de 5 animales por corral. Posteriormente a cada corral se le asignó un tratamiento experimental, de manera que cada tratamiento contó con 8 corrales.

Los animales fueron alimentados con pienso comercial desde su entrada a la explotación hasta los 60 kg de peso vivo (Semana 5 del ensayo.). A partir de los 60 kg de peso vivo, fueron alimentados con el pienso experimental según el tratamiento asignado.

Los detalles de la temporalidad del experimento se muestran en la **Figura 2**.

Los tratamientos consistieron en un pienso basal formulado con cereales y soja (T1) y 3 piensos más con niveles crecientes de inclusión de pulpa de aceituna parcialmente desengrasada (6% T2, 12% T3 y 18% T4). La pulpa de aceituna se incluyó en los piensos sustituyendo ese porcentaje cebada por pulpa de aceituna y ajustando el resto de las materias primas de forma que los piensos fuesen isonutritivos (mismos niveles de energía y proteína en los cuatro tratamientos). A continuación, se muestra la tabla de composición de los distintos tratamientos (**Tabla 1**).

Tabla 1: Composición de los piensos (% de los diferentes ingredientes)

INGRDIENTES	T1	T2	T3	T4
CEBADA (PB=9%)	45,48	39,09	33,16	27,55
TRITICALE (PB=10.5%)	5,00	5,00	5,00	5,00
TRIGO (PB=10%)	15,00	15,00	15,00	15,00
HARINA ZOOTECH.(GB6%)	8,60	8,60	8,60	8,60
GLICEROL 84%	1,00	1,00	1,00	1,00
COLZA (PB=33.5%)	8,60	8,60	8,60	8,60
GIRASOL PB32 GB8	6,00	4,70	2,00	
SOJA 46%	3,00	4,00	6,00	7,10
PULPA ACEITUNA PAR. DESEN.		6,00	12,00	18,00
MANTECA	4,30	5,10	5,80	6,40
CARBONATO CALCICO	1,15	1,02	0,83	0,70
CLORURO SODICO	0,36	0,33	0,33	0,31
FOSFATO MONOCALCICO 1802			0,12	0,13
SULFATO L-LISINA 70%	0,64	0,63	0,60	0,60
HIDROXI ANALOGO METIONINA	0,07	0,09	0,11	0,13
L-TREONINA	0,14	0,15	0,15	0,16
L-TRIPTOFANO	0,01	0,02	0,02	0,03
L-VALINA		0,01	0,01	0,02
6-FITASA L (150 g/ton) 6051	0,02	0,02	0,02	0,02
ACIDO LIQUIDO	0,15	0,15	0,15	0,15
4121 COR. CC-31V 4121 Premix	0,50	0,50	0,50	0,50

En la siguiente tabla se puede observar la composición nutricional de los piensos (**Tabla 2**).

Los piensos de los 4 tratamientos fueron formulados para ser equilibrados entre ellos y tener un contenido mínimo en nutrientes esenciales con respecto a la energía neta y proteína, de modo que todos los animales pudiesen obtener los mismos nutrientes independientemente del tratamiento asignado

Tabla 2. Composición nutricional de los piensos (% de los distintos nutrientes)

COMPOSICIÓN	T1	T2	T3	T4
PESOKg	100	100	100	100
DENSIDAD	0,56	0,56	0,57	0,58
HUMEDAD%	10,74	10,55	10,39	10,22
S. S.	89,26	89,45	89,61	89,78
FIBRA%	5,44	6,07	6,48	7,00
FIBRA AD%	7,16	8,14	8,91	9,79
FIBRA ND%	16,60	17,45	18,02	18,78
S E L N%	59,28	57,22	55,49	53,86
AZUCARES%	3,63	3,98	4,35	4,69
ALMIDON%	41,15	37,68	34,43	31,37
GRASA%	6,61	7,87	8,94	9,96
Ratio A.Oleico/Grasa tot.	34%	39%	42%	45%
A.OLEICO%	2,27	3,06	3,79	4,48

En la **figura 1** se muestran los piensos con diferentes niveles de inclusión de orujo de aceituna, donde se pueden apreciar los cambios de color al aumentar el nivel de inclusión



Figura 1. Pienso con diferentes niveles de inclusión de orujo de aceituna

Durante el periodo experimental el pienso se administró en forma de pellet y los animales fueron alimentados *ad libitum* mediante un comedero por corral de tipo tolva holandesa con bebedero de tetina.

El día de llegada de los animales a las instalaciones del CITA se registró su peso inicial de forma individual y se les asignó un tratamiento, empleando como factor de bloqueo el peso. Se excluyeron de la selección 10 animales, descartando aquellos que presentaran mal estado de salud o que fueran excesivamente grandes o pequeños.

3. PERIODO EXPERIMENTAL

En la Figura 2 se muestra la duración de las distintas fases del ensayo y los controles realizados a lo largo de este. Durante las dos primeras semanas de la prueba se realizaron tanto al principio como al final controles individuales de peso y consumo por corral y se les suministró pienso pre-engorde coincidiendo con la entrada de los animales a las instalaciones del CITA y el cambio de pienso pre-engorde a pienso de crecimiento.

Los detalles de la temporalidad del experimento se muestran en la **Figura 2**.

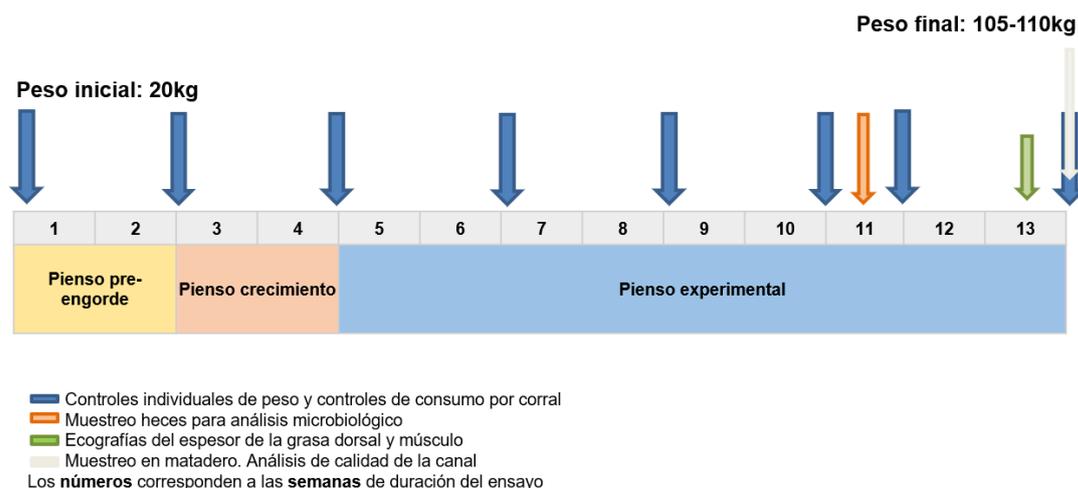


Figura 2. Temporalidad del experimento (semanas)

A partir del inicio del suministro del pienso de crecimiento y hasta el final del ensayo se realizaron controles quincenales de peso y consumo, intensificándose la frecuencia en las semanas próximas al cambio del pienso de crecimiento al pienso experimental y durante el final del ensayo.

A partir de la semana 5 y hasta la semana 13 se les suministró el pienso experimental y tanto al principio como al final se volvió a realizar el control de peso y consumo por corral intensificándose también en la semana 6, 8, 10 y 11. En la semana 11 se realizaron los muestreos de heces para análisis microbiológico. En la semana 13 se realizaron las ecografías del espesor de la grasa dorsal y el músculo, el muestreo en matadero y el análisis de la calidad de la canal.

4. REGISTROS Y MUESTREOS

4.1 RENDIMIENTO PRODUCTIVO

Durante todo el periodo experimental, se realizaron controles quincenales de peso de forma individual mediante una balanza con estabilización de peso y tarado automático (Eziweigh 5, Tru Test, Nueva Zelanda)

Para el control de consumo se registró el pienso ofrecido y se pesó el rechazo en el momento del control de peso. Con estos datos se calculó para cada periodo el CMD (Consumo Medio Diario), GMD (Ganancia Media Diaria) e IC (Índice de Conversión) de la siguiente forma:

$$GMD = \frac{(Pf - Pi)}{n^{\circ} \text{ días}}$$

Siendo Pf; pienso final y Pi; pienso inicial.

$$CMD = \frac{(\text{Pañadido} - \text{Prechazado}) \times \text{corral}}{(\text{Fecha fin} - \text{fecha inicio}) \times n^{\circ} \text{ animales}}$$

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

Al final del suministro experimental, en la semana 16, se registró de forma individual en dos animales de cada corral el espesor de grasa dorsal y músculo mediante ecografía.

Para la realización de las ecografías se midió la grasa dorsal *in vivo* (BF) y la profundidad del lomo (LD), se midieron en la posición P2 (por encima de la última costilla a aproximadamente 6,0-6,5 cm de la línea media), utilizando un dispositivo de ultrasonido en modo B (Agroscaan A16, Angoulême, Francia)

4.2 ANÁLISIS MICROBIOTA

4.2.1 Toma de muestra

Para el análisis de la microbiota intestinal se realizaron tomas de muestras de heces de todos los corrales y todos los tratamientos. Se recogieron heces de dos animales al azar de cada uno de los corrales y se preparó una mezcla homogeneizada a partir de la cual se realizaron los análisis. Las muestras se conservaron a 4 °C hasta su posterior análisis. Las tomas de muestras se hicieron repartidas en dos días consecutivos debido al volumen de animales a muestrear.

El procedimiento de toma de muestras se realizó mediante la introducción de un depresor de madera estéril por el ano para la estimulación del recto hasta la obtención de la muestra. Posteriormente se recogió en un recipiente estéril y se mantuvo en refrigeración. Todo ello realizado en condiciones de asepsia y sin dejar pasar más de 4 horas hasta su análisis.

4.2.2 Recuentos microbiológicos

Para la caracterización de la microbiota y posterior estudio de la salud intestinal se seleccionaron los siguientes microorganismos pues se consideró que eran indicativos de la microbiota y salud intestinal de los animales. Se ha demostrado que las bifidobacterias y los lactobacilos tienen efectos positivos en la salud intestinal (De Lange, 2000). A continuación, se explican los medios selectivos utilizados para llevar a cabo el análisis.

Para la determinación de *Lactobacillus* se ha utilizado MRS (MRS, Liofilchem, Roseto degli Abruzzi, Teramo, Italy) medio descrito por Man, Rogosa y Sharpe en 1960, este medio contiene además magnesio, manganeso, acetato y polisorbato 80 (Tween 80) que facilitan el crecimiento de los bacilos lácticos y se incubó en condiciones anaeróbicas, en cámaras con atmósfera en anaerobiosis (AnaeroGen™ 3,5L de Thermo scientific) a 37°C durante 48h.

Para esta la determinación de *Bifidobacterium* se usó el medio selectivo BD Bifidobacterium Agar, Modified (Becton Dickinson GmbH, Germany) dicho medio está basado en MRS con adición de cisteína y ácido clorhídrico. Se incubó en cámara de anaerobiosis con sobre de anaerobiosis (AnaeroGen™ 3,5L de Thermo scientific) a 37°C durante 48h.

Las Enterobacteriaceae se determinaron mediante el medio MacConkey Agar (Liofichem, Roseto degli Abruzzi, Teramo, Italy). Se trata de un medio muy utilizado para el aislamiento e identificación de enterobacterias, contiene sales biliares y cristal violeta que inhiben el crecimiento de grampositivos y hongos. Contiene lactosa y rojo neutro como indicador de pH. Se incubó en estufa a 37°C durante 48h.

El análisis de los Anaerobios totales fue llevado a cabo mediante la siembra en el medio Thiogliolato Agar (Liofichem, Roseto degli Abruzzi, Teramo, Italy). Se incubó en cámara de anaerobiosis con sobre de anaerobiosis (AnaeroGen™ 3,5L de Thermo scientific) a 37°C durante 48h.



Figura 3. Medio de cultivo utilizados.

4.2.3 Preparación de la muestra

El procedimiento de realización de los análisis fue común para todos ellos, se obtuvieron varias muestras por corral, con estas muestras se realizó un *pool* de heces de los animales seleccionados al azar, consiguiendo así una muestra por corral y se procedió a realizar las diluciones decimales seriadas según 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 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 homogeneizada por corral y se realizó la dilución 1:10 en caldo común homogenizándose en Vortex durante 1 min. Posteriormente se realizaron las diluciones decimales seriadas en agua destilada estéril y se sembraron en los distintos medios de cultivo selectivos para cada uno de los microorganismos a estudiar descritos previamente. Cada uno de los medios se incubó a las condiciones adecuadas y pasado el tiempo indicado anteriormente para cada uno se procedió al recuento de las colonias sospechosas en cada uno de los medios.

Por último, se procedió a la lectura de los resultados. Las placas escogidas para dicha lectura fueron las que contenían entre 30-300 colonias. Después se hizo la media entre la lectura de las 2 placas.

4.3 CALIDAD DE LA CARNE Y LA CANAL

4.3.1. Sacrificio y medidas automáticas en matadero

Al finalizar la prueba, en la semana 16, se les dejó de suministrar pienso a los animales durante 12h para su traslado a matadero. Inmediatamente tras el sacrificio se registró mediante un equipo de ultrasonidos (AutoFom™, Carometec food technology, Dinamarca) el peso y composición (porcentaje de grasa y magro de la canal y en piezas nobles) de la canal. Las medidas registradas por el AutoFom™ fueron las siguientes:

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



Figura 4. Autoform



Figura 5. Detalle Autoform

4.3.2. Color, pH y espesor de grasa

Tras el sacrificio y pasadas las 2h post-mortem aproximadamente, se realizaron las medidas de color, pH y espesor de la grasa en la cámara de estabilización de las canales en matadero.

Para el color, se tomó la medida a nivel del músculo *Gracillis* mediante un colorímetro Minolta (Konica Minolta, Osaka, Japan) tal y como se muestra en la **Figura 6**. Se utilizaron los valores CIE de la "Comission Internationale de l'Eclairage", donde L* corresponde a la luminosidad; a* a las coordenadas rojo/verde y b* a las coordenadas amarillo/azul.



Figura 6. Determinación del color

Para la determinación de pH en el músculo *Semimebranosus* se utilizó un equipo de medición de pH (Crison, Barcelona, Spain). Se realizó una incisión en el músculo mediante un bisturí y se introdujo la sonda de medición de pH (**Figura 7**).



Figura 7. Medición de pH

El espesor de la grasa dorsal se midió a nivel del músculo *Gluteus medius* empleando una regla metálica tal y como se puede observar en la imagen de la **Figura 8**.



Figura 8. Determinación grasa dorsal

Además, se tomaron muestras de grasa subcutánea a nivel de la segunda vértebra cervical para su posterior análisis de perfil de ácidos grasos como se muestra en la **figura 9**.



Figura 9. Obtención de grasa

Las muestras de grasa subcutánea y de músculo *Splenius* se mantuvieron a 4°C durante su transporte al laboratorio. En el laboratorio, las muestras se almacenaron a -80°C en bolsas opacas y selladas al vacío hasta su análisis.

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

Se determinó el perfil de ácidos grasos en la grasa y la carne mediante cromatografía de gases, a partir de una muestra de grasa subcutánea y músculo *Splenius*. Para la determinación del perfil de ácidos grasos se utilizó la metodología propuesta por O'Fallon et al. (2007) explicada a continuación.

Primeramente, se prepararon los reactivos necesarios para el patrón interno C13 (0,5 mg de C13/mL de etanol) se prepararon 50 mL en total siendo 25,1 mg de C13, para el

KOH 10N: se pesaron 33 g de KOH y se enrasó con agua destilada preparándose también 50 mL. Para el H₂SO₄ se midió un volumen de 33,33 mL de H₂SO₄ 95-97% en 50 mL de agua destilada. El hexano y el metanol estaban ya preparados.

Se pesó 1g de muestra fresca, a continuación, se añadió 1mL de la disolución de patrón interno en un tubo Pyrex de 15mL, 0,7mL de KOH 10N y 5,3mL de metanol (MeOH) seguidamente, se incubaron en un baño de agua o termoblock a 55°C durante 90 minutos, agitando vigorosamente durante 5 segundos cada 20 minutos. Se enfrió con agua corriente hasta temperatura ambiente, se añadieron 0,58mL de H₂SO₄ 24N. Se mezcló invirtiendo los tubos y agitando brevemente en el agitador intentando despegar el precipitado, de nuevo se incubó en un baño de agua o termoblock a 55°C durante 90 minutos, agitando vigorosamente durante 5 segundos cada 20 minutos. Se enfrió a temperatura ambiente y se añadió 1,5mL de hexano. Se introdujeron los tubos en un agitador multitubo durante 5 minutos y se centrifugó durante 5 minutos a 3000 rpm, finalmente se recogió la fase orgánica (superior) y se introdujo en un vial y se pinchó en el cromatógrafo de gases según las condiciones establecidas.

5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para la realización de los análisis estadísticos se utilizó el paquete estadístico SAS® System Software (SAS 9.1, SAS Inst. Inc., Cary, NC). Los resultados de los rendimientos productivos (Peso medio, GMD, CMD e IT), así como los resultados de características y calidad de la canal, y los recuentos microbiológicos realizados se analizaron mediante un análisis de la varianza utilizando en procedimiento GLM (PROC GLM) de SAS en el que el efecto principal considerado fue el tratamiento.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

4.1 RESULTADOS OBTENIDOS PARA CMD, IC Y GMD

Tras analizar los resultados obtenidos en la **tabla 7** y las **figuras 10 y 11**, no hubo diferencias en ninguno de los parámetros estudiados, excepto en el lomo donde se vio una tendencia con el tratamiento 3 presentando menor profundidad de lomo.

Tabla 7. Efecto de la inclusión de la pulpa de aceituna parcialmente desengrasada en las dietas sobre el rendimiento del crecimiento.

	Tratamientos				SEM	P-VALUE
	1	2	3	4		
Bw inicial,kg	60	60,2	60,4	60,5	2,32	1
Bw final,kg	119	118	117	117	2,55	0,97
GMD (g/d)	1,06	1,04	1,03	1,03	0,02	0,78
CMD (g/día)	2,88	2,89	2,93	2,85	0,06	0,86
IC (g ganancia alimentación/g)	2,73	2,78	2,85	2,76	0,05	0,48
Espesor del tocino,mm	12,54	11,61	12,12	12,1	0,36	0,33
Profundidad del lomo,mm	47,54	45,88	45,52	46,49	0,616	0,098

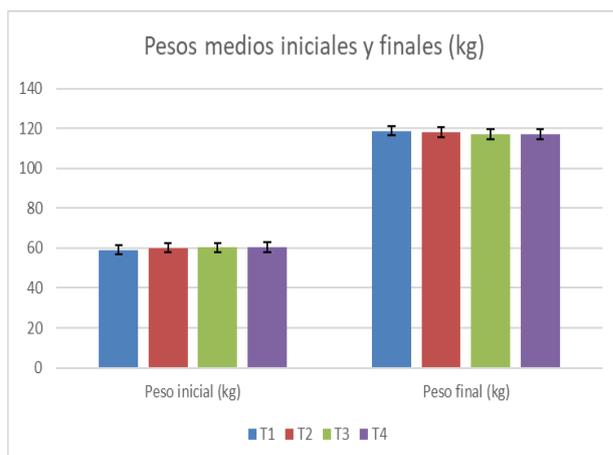


Figura 10. Pesos medios iniciales y finales (kg) por tratamiento.

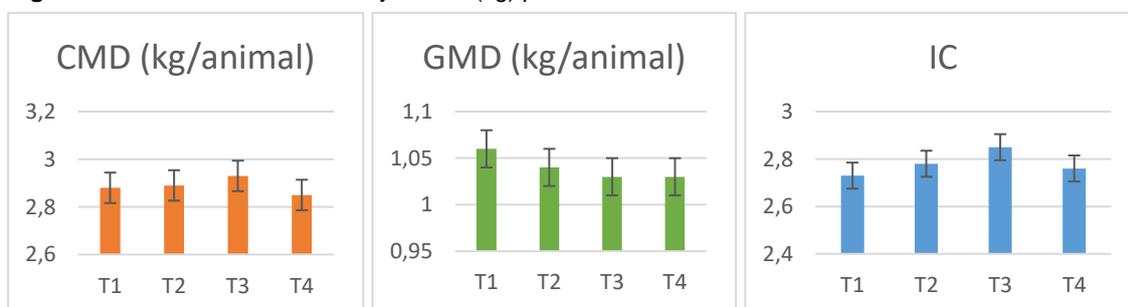


Figura 11. Representación gráfica de CMD (kg/ animal) IC y GMD (kg/animal).

4.2. ANÁLISIS DE LA MICROBIOTA Y SALUD INTESTINAL

Para evaluar el estado de la microbiota intestinal de los animales a lo largo del período de estudio, se realizó un recuento de los microorganismos indicadores, Anaerobios totales, Bifidobacterias, Enterobacterias y Lactobacilos siguiendo 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 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", los resultados obtenidos se muestran en las siguientes tablas.

Tabla 3. Resultados obtenidos para anaerobios totales, por tratamiento.

Anaerobios totales				
Tratamiento	Promedio	Desviación	SEM	P-VALUE
1	8,369	0,574	0,203	0,2809
2	8,579	0,442	0,156	
3	8,106	0,430	0,152	
4	8,256	0,488	0,173	

Tal y como podemos observar en la **tabla 3** respecto a los microorganismos anaerobios totales no se observaron diferencias significativas ($P>0,05$).

Tabla 4. Resultados obtenidos para bífidos por tratamiento

Bífidos				
Tratamiento	Promedio	Desviación	SEM	P-VALUE
1	8,750	0,328	0,116	0,1336
2	8,951	0,346	0,122	
3	8,503	0,329	0,116	
4	8,658	0,247	0,087	

Tampoco se observan diferencias significativas para los bífidos como podemos observar en la **tabla 4**. ($P>0,05$). Los valores fueron parecidos a los obtenidos para el estudio realizado por Zhao *et al.*,2013.

Tabla 5. Resultados obtenidos de Lactobacilos por tratamiento.

Lactobacilos				
Tratamiento	Promedio	Desviación	SEM	P-VALUE
1	9,108	0,533	0,188	0,2377
2	8,838	0,497	0,176	
3	8,733	0,653	0,231	
4	8,846	1,008	0,357	

En cuanto a los lactobacilos tampoco se encontraron diferencias significativas tras consultar la **tabla 5**. ($P>0,05$). Los valores también fueron similares a los obtenidos por Walsh *et al.*,2013.

Tras calcular el ratio de lactobacilos/enterobacterias y bifidobacterias/enterobacterias, se obtuvieron los valores de 0,23 para bifidobacterias y 0,40 para lactobacilos, este ratio se utiliza como indicador de la salud intestinal y los resultados fueron parecidos a los obtenidos por Zhang *et al.*,2018. En este estudio se calculó para indicar el índice de resistencia a la colonización intestinal y pudiendo evaluar los posibles cambios en la flora intestinal confirmándose que no se producían cambios en la salud intestinal.

Tabla 6. Resultados obtenidos de enterobacterias por tratamiento.

Enterobacterias				
Tratamiento	Promedio	Desviación	SEM	P-VALUE
1	6,923	0,371	0,131	0,5916
2	7,062	0,603	0,213	
3	6,618	0,593	0,209	
4	6,922	0,944	0,334	

Respecto a las enterobacterias, tampoco encontramos ninguna diferencia significativa como se puede ver en **la tabla 6**. Coincidiendo con los resultados del estudio de Zhao *et al.*,2013 ($P>0,05$)

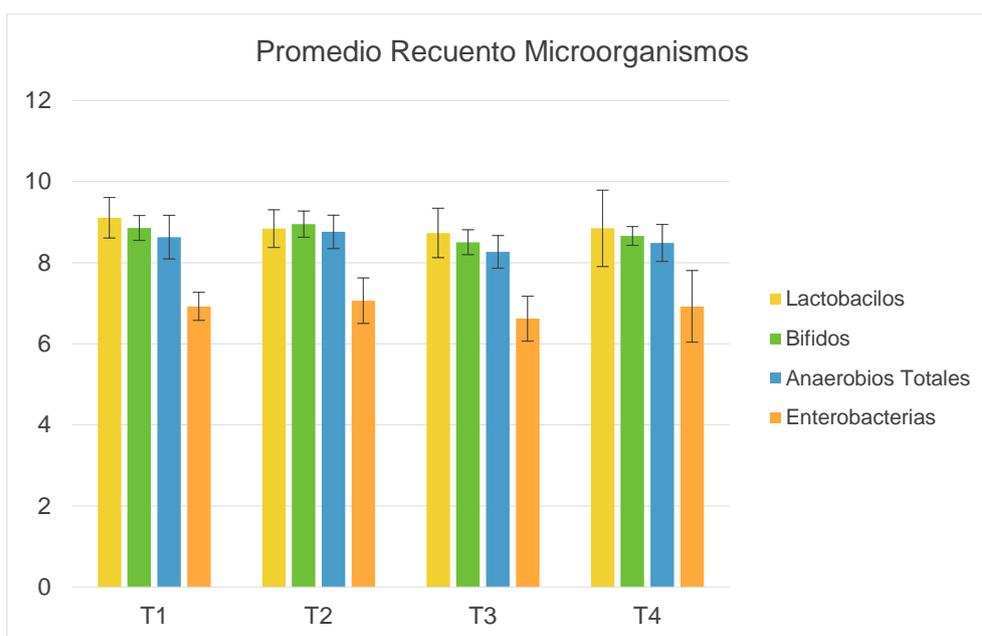


Figura 12. Promedio del recuento de microorganismos indicadores por tratamiento

tras observar la **figura 12** podemos afirmar que los recuentos bacterianos de heces no mostraron diferencias significativas ($P>0,05$) entre tratamientos.

Los polifenoles son capaces de modificar la ecología intestinal, influyendo en la salud del huésped a través de los compuestos bioactivos generados por la microbiota del colon. Estudios in vivo en animales y humanos realizados con una selección de polifenoles a una concentración determinada mostraron modificaciones en el microbioma intestinal por la inhibición de bacterias patógenas y la estimulación del crecimiento de bacterias beneficiosas debido a las modificaciones del ecosistema intestinal (Cardona *et al.*,2013). Por otra parte, la inclusión de fibra insoluble en las dietas

puede tener un efecto prebiótico en el intestino de los cerdos y modificar la microbiota intestinal. En el presente estudio, los valores de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y enterobacterias fueron similares a los obtenidos en otros estudios con suplementos dietéticos (Zhao *et al.*,2013; Walsh *et al.*,2013), aunque no se encontraron efectos significativos al incluir la pulpa de aceituna en los piensos (un ingrediente rico en fibra) en la microbiología intestinal. Esto podría indicar una aclimatación de la bacteria a la inclusión de la pulpa de aceituna en la dieta como una limitación técnica basada en cultivos para evaluar la diversidad y dinámica de la microbiota gastrointestinal, como también sugieren Dueñas *et al.*,2015.

4.3. CALIDAD DE LA CARNE Y LA CANAL

En cuanto a las características de la canal y de la carne las medidas que se muestra a continuación en la **tabla 8**, en general no presentaron diferencias entre los tratamientos a excepción del pH ($P < 0,001$), que fue más bajo en los tratamientos T3 y T4 y el color, que presentó diferencias significativas en los parámetros L, a y b.

Tabla 8. Efecto de la inclusión de la pulpa de aceituna parcialmente desengrasada en las dietas sobre la calidad de la canal y de la carne. Superíndices con diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos.

	Tratamientos		SEM	P-VALUE
	1	3		
AG total(mg/g de tejido fresco)	657,8	688,3	15,57	0,163
AGS (mg/100g total AG)	32,4	31,5	0,42	0,116
Ácido capríco (mg/g de tejido fresco)	0,308	0,284	0,0185	0,36
Ácido láurico (mg/g de tejido fresco)	0,248	0,205	0,0188	0,1
Ácido mirístico (mg/g de tejido fresco)	7,98	8,8	0,19	0,003
Ácido pentadecanoico (mg/g de tejido fresco)	0,83	0,819	0,0729	0,913
Ácido palmítico (mg/g de tejido fresco)	137,4	140,1	3,69	0,6
Ácido heptadecanoico (mg/ g de tejido fresco)	3,9	4,08	0,18	0,472
Ácido esteárico (mg/g de tejido fresco)	63,1	63,2	3,11	0,983
AGM(mg/100 g total AG)	48,3	50,9	0,48	<0,001
Ácido palmitoleico (mg/g de tejido fresco)	2,62	2,95	0,084	0,006
C16:1(n7)(mg/g de tejido fresco)	16	16,8	0,53	0,321
Ácido heptadecenoico (mg/g de tejido fresco)	3,23	3,56	0,092	0,015
Ácido oleico (mg/g de tejido fresco)	273	301	6,5	0,004
Ácido vaccénico (mg/g de tejido fresco)	16	19,1	0,81	0,011
Ácido eicosenoico (mg/g de tejido fresco)	6,52	6,92	0,197	0,146
AGP(mg/100 g total AG)	19,3	17,6	0,3	<0,001
Ácido linoleico (mg/g de tejido fresco)	103,4	97,5	2,76	0,129
Ácido linoléico (mg/g de tejido fresco)	6,46	6,93	0,183	0,067
Ácido eicosadienoico (mg/g de tejido fresco)	5,37	5,03	0,145	0,096
Ácido eicosatrienoico (mg/g de tejido fresco)	1,08	1,04	0,03	0,428
Ácido araquidónico (mg/g de tejido fresco)	2,42	2,39	0,077	0,765
Ácido docosadienoico (mg/g de tejido fresco)	5,43	5,75	0,281	0,416
Ácido docosatetraenoico (mg/g de tejido fresco)	1,35	1,1	0,116	0,125
Ácido docosapentaenoico(mg/g de tejido fresco)	0,928	0,814	0,1247	0,511
Ácido docosahexaenoico(mg/g de tejido fresco)	0,218	0,348	0,0567	0,104
AGP/AGS	0,596	0,559	0,0125	0,037
AGM/AGS	1,5	1,62	0,034	0,009
Ácido oleico / Total AG	4,15	4,37	0,039	<0,001

Se esperan diferencias en el contenido de grasa cuando los cerdos consumen más energía de la que requieren las dietas altas en energía o cuando los niveles indispensables de aminoácidos o proteínas en las dietas son inferiores a los requeridos (Cámara *et al.*,2016), en cuanto a los rasgos de calidad de la carne, Serra *et al.*,(2018) mostraron niveles más bajos de pH y amarilleamiento (b^*), siendo la inclusión del orujo de aceituna en las dietas de los cerdos sólo estadísticamente significativa en el caso del

color de la carne. Aunque los resultados obtenidos están de acuerdo con estos autores, sólo los valores de pH se vieron afectados por la alimentación con pulpa de aceituna. Los cerdos alimentados con pulpa de aceituna mostraron un pH más bajo en la carne y se han asociado valores de pH más altos con una menor reserva de glucógeno y una menor pérdida por goteo (Joven *et al.*,2014)

4.4. ANÁLISIS DE ÁCIDOS GRASOS

En cuanto al perfil de AG de la grasa subcutánea que podemos observar en la **tabla 9**, el contenido total de AG no difirió entre los tratamientos estudiados, pero la concentración total de AGMI fue mayor y la concentración total de AGPI fue menor en el tejido graso de los animales alimentados con un 12% de inclusión en comparación con la de los animales alimentados con dieta control. La concentración total de AG saturada no difirió entre los tratamientos. Por tanto, la relación AGM/AGS era mayor y la relación AGP/AGS menor en los cerdos alimentados con un 12% de inclusión en comparación con los cerdos alimentados con la dieta control.

Centrándose en los AG individuales, se encontraron las mayores diferencias entre los tratamientos para los ácidos de AGS, especialmente los ácidos palmitoleico, heptadecenoico, oleico y vaccénico, resultando ser 0,33, 0,33, 28 y 3,1 unidades mayores ($P<0,05$), respectivamente, en la grasa de los animales alimentados con dieta de un 12% de inclusión en comparación con los animales alimentados con dieta control. Además, la relación entre los AG oleicos y los AG totales fue mayor ($P<0,05$), en la grasa de los animales alimentados con dieta de un 12% de inclusión, al igual que en las dietas.

Tabla 9. Efecto de la inclusión de la torta de aceituna parcialmente desengrasada en las dietas sobre el contenido de ácidos grasos(AG) y el perfil de AG en la grasa subcutánea de los cerdos.

	Tratamientos				SEM	P-VALUE
	1	2	3	4		
Características de la canal						
Peso de la canal,kg	85,79	84,94	84,72	84,94	1,393	0,949
Rendimiento en canal,%	72,18	71,78	72,3	72,38	0,28	0,403
Porcentaje de carne magra,%	58,66	58,8	58,27	57,91	0,413	0,394
Jamón magro,mm	71,58ab	71,84a	71,61ab	70,72b	0,356	0,121
Grasa de jamón,mm	11,53	11,06	11,55	11,99	0,364	0,326
Tocino magro,mm	55,97	56,19	55,7	54,81	0,545	0,287
Lomo magro,mm	59,23	59,05	58,37	57,79	0,595	0,275
Paletilla de carne magra,mm	65,76	65,81	65,32	65,03	0,352	0,31
Carne magra en la costilla 3-4,mm	52,73a	51,65ab	51,48ab	50,71b	0,65	0,179
Grasa en la costilla 3-4,mm	16,76	16,63	17,22	17,03	0,404	0,686
Calidad de la carne						
Ph	6,55a	6,72a	6,01b	6,00b	0,067	<0,001
Profundidad de la grasa en el gúteo medio,mm	1,59	1,55	1,59	1,5	0,081	0,831
Color de la carne						
L*	37,42b	39,82a	37,44b	39,83a	0,653	0,004
a*	8,76ab	9,44a	8,10b	8,32b	0,36	0,033
b*	3,00bc	3,84a	2,74c	3,56ab	0,235	0,003

Era esperable que la adición de pulpa de aceituna diese lugar a diferencias en el perfil de AG de la grasa subcutánea con respecto a los AG totales. Estas diferencias fueron causadas por el incremento de ácido oleico en la dieta, que se sabe que la deposición de AG en los cerdos está influenciada principalmente por la composición de AG de la dieta (Cava *et al.*,1997). La modificación del perfil de AG con la adición de subproductos del olivo ha sido descrita por numerosos autores (González *et al.*,2012, Joven *et al.*, 2014 y Serra *et al.*,2018), siendo de gran interés por la mejora de la calidad sensorial de la carne.

5.CONCLUSIONES

Este estudio demuestra que la inclusión de orujo de aceituna a niveles moderados no afectó a los rendimientos productivos en la fase final del engorde de cerdos.

Los microorganismos indicadores (Lactobacilos,bifidos, enterobacterias y anaerobios totales) fueron similares a otros estudios realizados pero no mostraron diferencias significativas entre los distintos tratamientos. El ratio lactobacillus:enterobacterias se mantuvo en los valores esperados. Estos resultados sugieren una rápida adaptación al orujo los microorganismos intestinales, y confirman que la salud intestinal no sufre cambios drásticos debido a la inclusión de distintos porcentajes de orujo de aceituna en las dietas de los animales.

Tampoco se produjeron diferencias en cuanto a la calidad de la carne, demostrando que el orujo de aceituna se puede incluir en las dietas de cerdos sin afectar a la calidad de la carne al menos hasta un 12% de inclusión.

En definitiva, el orujo de aceituna en piensos de cerdo presenta una alternativa que resulta interesante desde el punto de vista productivo, ambiental y de sostenibilidad del sector ya que su uso no afecta ni a la salud intestinal, ni a la calidad de la carne ni a los rendimientos productivos

6. BIBLIOGRAFÍA

Adams M.R.; M.O. Moss (1997). *Microbiología de los alimentos*. Ed. ACRIBIA S.A.; Zaragoza.

Alberti P.B. G.V.J.L. I.M.M.X. (2005). En: Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) pp. 291-299. INIA

Andrés A.I. R. A.I. J.F. D J.(2001). Oxidative stability and fatty acid composition of pig muscles as affected by rearing system, crossbreeding and metabolic type of muscle fibre. *Meat Science*. 59, 39-47.

Asghar, A. J. I. A. M. E. A.M. M. E. R. (1991). Effects of supranutritional dietary vitamin E levels on subcellular disposition of α -tocopherol in the muscle and on pork quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 57, 31–41.

Backhed, F. L. (2005). Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science* 307, 1915–1920.

Bampidis V.A, R. P. (2006). Citrus by-products as ruminant feeds: A review. . *Animal Feed Science and Technology* 128, 175-217.

Base de datos de Feedipedia. (2017). Obtenido de <http://www.feedipedia.org>

Belyea, R. K. (2010). Sources of variation in composition of DDGS. *Animal Feed Science and Technology*, 159(3-4), 122-130.

Bourgeois, C. M., Mescle, J. F., & Zucca, J. (1994). *Microbiología alimentaria*. v. 1: Aspectos microbiológicos de la seguridad y calidad alimentaria.

Buchanan, R. G. (1974). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th ed. Williams and Wilkins Baltimore, MD.

Cabrera, F.E.S.A.R (2002). Diagnóstico y estudio de alpechines, orujos y alperujos. Jornadas de investigación y transferencia tecnología al sector oleícola. Córdoba. pp 195-199.

Cajarville, C. B. (2011). Utilización de prebióticos en monogástricos: aspectos fisiológicos y productivos relacionados al uso de subproductos de agroindustrias y de pasturas en lechones. *Rev. Porcicultura Iberoamericana*, 1(2)

Cámara L.JD.J.CJ.GG(2016). Growth performance and carcass quality of crossbred pigs from two Pietrain sire lines fed isoproteic diets varying in energy concentration. *Meat Science* 114, 69–74

Canibe N, B. K. (2002). Degradation and physicochemical changes of barley and pea fibre along the gastrointestinal tract of pigs. *J. Sci. Food Agric* 82, 27-39.

Caputi Jambrenghi, A.G. A.F. F. G. (2007). Changes in lipid composition and lipogenic enzyme activities in liver of lambs fed n₆ polyunsaturated fatty acids. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 147, 498–503.

Cardona, F. A.-L.-O. (2013). Benefits of polyphenols on gut microbiota and implications in human health. . *The Journal of Nutritional Biochemistry* 24, 1415–1422.

Cava, R., J., C., L., C., J., T. (1997). Influence of finishing diet on fatty acid profiles of intramuscular lipids, tryglicerides and phospholipids in muscles of the Iberian pig. *Meat Sci*. 45, 263-270.

CIHEAM. (1990). Tables of the nutritive value for ruminants of Mediterranean forages and by products. *Centre International des Hautes Etudes Agronomiques*, 152. Serie B:Etudes et recherches n°4,Options Méditerranéennes.

Comisión Europea (2016).Obtenido de: https://ec.europa.eu/commission/priorities/jobs-growth-and-investment/towards-circular-economy_en

Crosswhite JD (2013). The effect of dietary citrus pulp on the growth, feed efficiency, carcass merit, and lean quality of finishing pigs. *The Professional Animal Scientist* 29: 345-358.

De Jesús, M. C. (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: revista de la asociación interprofesional para el desarrollo agrario (AIDA)*, 113, 36-51.

De Smet, S. E. C. E. L. D. I. (2000). Effect of dietary energy and protein levels on fatty acid composition of intramuscular fat in double-muscled Belgian Blue bulls. *Meat Science*, 56, 73–79.

Dueñas M.I.C. A.F.C. MV.B (2015). A survey of modulation of gut microbiota by dietary polyphenols. *BioMed Research International* 2015

Enser, M. 1991. In *Analysis of Oilseeds, Fats and Fatty Foods*, eds J. B. Rossell & J. L. R. Pritchard. Elsevier Applied Science, Barking, UK, p. 329

Eraso, E. O. (1978). Utilización de la pulpa de aceituna en alimentación animal. En *Nuevas Fuentes de Alimentos para la Producción Animal. ETSIA de Córdoba*, 20-45.

Flint DJ & Vernon RG. 1993. Hormones and adipose tissue growth.1993. In *Vertebrate Endocrinology: Fundamentals and Biomedical Implications*, pp 469–494. Eds MP Schreibman, CG Scanes & PKT Pang. Orlando: Academic Press

Fuller, R. (1977). The importance of lactobacilli in maintaining normal microbial balance in the crop. *Br Poult Sci* 18, 85-94.

Gharbi, F. B. (2011). Economic impacts of the use of olive cakes in animal nutrition in Tunisia. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environment* 15 (2), 259-270.

Gilliland, S. S. (1977). Deconjugation of bile acids by intestinal lactobacilli. *Appl. Environ. Microbiol.* 33, 15-18.

González E.A.JF (2012). Two by-products of the olive oil extraction industry as oleic acid supplement source for Iberian pigs: Effect on the meat's chemical composition and induced lipoperoxidation. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 92, 2543–2551

Gresse, R. C.-D.-D. (2017). Gut microbiota dysbiosis in postweaning piglets: understanding the keys to health. . *Trends in microbiology*, 25(10), 851-873.

Isaacson, R. K. (2012). The intestinal microbiome of the pig. *Anim.Health Res. Rev.* 13, 100.109.

Joven, M. E. M.A. J. J.A. M. (2014).Efecto de la sustitución de la cebada mediante el aumento de los niveles de pastel de oliva en la dieta de los cerdos de acabado: rendimiento de crecimiento, digestibilidad, canales, calidad de carne y grasa.*Ciencia y tecnología de la alimentación animal*,197, 185-193.

- Kim, H. B. (2015). The pig gut microbial diversity: understanding the pig gut microbial ecology through the next generation high throughput sequencing. *Veterinary microbiology*, 177(3-4), 242-251.
- Kott, R. W.P. G. J. W.C. R.H.J. A. (2003). Feedlot performance, carcass composition, and muscle and fat CLA concentrations of lambs fed diets supplemented with safflower seeds. *Small Ruminant Research*, 49, 11–17.
- Leat, W. M. F. (1975). Fatty acid composition of adipose tissue of Jersey cattle during growth and development. *Journal of Agricultural Science* 85, 551-558.
- Leouifoudi, I. H. (2015). Olive Mill Waste Extracts: Polyphenols Content, Antioxidant, and Antimicrobial Activities. *Advances in Pharmacological Sciences 2015*, 1-11.
- Leser, T. A. (2002). Análisis independiente de la cultura de las bacterias intestinales: la microbiota del tracto gastrointestinal del cerdo revisada. *Microbiología aplicada y ambiental* 68 (2), 673-690.
- Looft, T. A. (2014). Bacteria, phages and pigs: the effects of in-feed antibiotics on the microbiome at different gut locations. *ISME J.* 8, 1566–1576.
- Lorenzo, J. M. (2012). Fatty acid composition of Celta pig breed as influenced by sex and location of fat in the carcass. *Journal of the Science and Food Agriculture* 92, 1311-1317.
- Lough, D.S. M.B.T.S.T.H.L.L.S.G.P. (1991). Effects of dietary canola seed and soy lecithin in high-forage diets on performance, serum lipids and carcass characteristics of growing ram lambs. *J. Anim. Sci.* 69,292-3298.
- Márquez, M.C. (2007). Effect of the inclusion of food waste in pig diets on growth performance, carcass and meat quality. *Animal* 1, 595–599
- Mas, G. M. D. R. I. M. M.A. C.E. (2010). Carcass and meat quality characteristics and fatty acid composition of tissues from Pietrain-crossed barrows and gilts fed an elevated monounsaturated fat diet. *Meat Sci.* 85, 707–714.
- McCracken, V. y. (1999). Los probióticos y el sistema inmunológico.
- McDonald P, E. R. (2006). *Nutrición animal. 6ta. ed.* . Zaragoza: Acribia.
- Monahan, F. J. J. I. A. M. E. R. D. J. P. A. E. A. (1992). Influence of dietary-treatment on lipid and cholesterol oxidation in pork. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 1310–1315.
- Mottram, D. S. (1998). Flavour formation in meat and meat products: A review. *Food Chemistry*, 6(4), 415–424
- Miller MF.GW.SC. CB.TL. (1987) Effects of various phosphates on the palatability, appearance, and storage traits of flaked and formed restructured beef steaks. *J Food Sci* 51:1435–1438.
- Ministerio de Agricultura y Pesca Alimentación y Medio Ambiente. Servicio general de estadísticas(2017)Obtenido de:
<https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/produccion-y-mercados/ganaderos/sectores-ganaderos/Default.aspx>

- Nefzaoui, A. (1991). Valorisation des sous-produits de l'olivier. *Options Méditerranéennes* 16, 101-108.
- Palmer, C. B. (2007). Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol.* 5, e177.
- 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.
- Philippe, F. (2015). Review on greenhouse gas emissions from pig houses: Production of carbon dioxide, methane and nitrous oxide by animals and manure. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 199, 10-25.
- Poto, A. 2003. Estudio de la calidad de la canal y de la carne del cerdo Chato Murciano. Tesis Doctoral, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, España.
- Ramotar, K. C. (1984). Production of menaquinones by intestinal anaerobes. *J. Infect. Dis.* 150, 213-218.
- Rasic, J. K. (1983). Bifidobacteria and their role. *Ann. Péd.* 241, 8-23.
- Rodríguez-Palenzuela P, G. J. (1998). *Fibra soluble y su implicación en nutrición animal: enzimas y probióticos. XIV Curso de Especialización FEDNA*. Obtenido de <http://agro.etsia.upm.es/fedna/capitulos/98CAPXIV.pdf>
- Rodney, G (1999). Genetis of choice for meat of choice. Disponible en: <http://WWW.nationalswine.com>. accesado 15/08/00
- Rolfe, D. (2000). The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *he Journal of nutrition*, 130(2), 396S-402S.
- Rhee, K. S. (1990). Characteristics of pork products from swine fed a high monounsaturated fat diet. Part 1. Whole muscle products. *Meat Science* 27, 329-341.
- Rhee, K.S. T.L. D.A. H.R. Y.A. K.C. (1988). Effect of dietary high-oleic sunflower oil on pork carcass traits and fatty acid profile of raw tissues. *Meat Sci.* 24, 249-260.
- Savage, D.C. (1977) Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Ann Rev. Microbiol.* 31, 529-533
- Serra, A. G. M. L. M. F. M. (2018). Olive Pomace in Diet Limits Lipid Peroxidation of Sausages from Cinta Senese Swine. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 120(1), 1700236.
- Scardovi, V. (1986). *Bifidobacterium*. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th ed. Baltimore: Williams and Wilkins.
- Smith, j. (2013). Beyond milk, meat and eggs: role of livestock in food and nutrition security. *Animal Frontiers* 3 (1), 6-13.
- Tejeda JF. G. T.M. C. (2002). Lipid traits of muscles as related to genotype and fattening diet in Iberian pigs: total intramuscular lipids and triacylglycerols. *Meat Science* 60, 357-363.
- Vázquez, A. G. (1974). Componentes fenólicos de la aceituna. I Ponifenoles de la pulpa. *Grasas y Aceites* 25, 269-279.

- Xu, J. G. (2003). Inaugural article: honor thy symbionts. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100, 10452–10459.
- Walsh, A. M. T. C. J. D. N. J. V. (2013). Effect of supplementing varying inclusion levels of laminarin and fucoidan on growth performance, digestibility of diet components, selected faecal microbial populations and volatile fatty acid concentrations in weaned pigs. *Animal feed science and technology*, 183(3-4), 151-159.
- Watanabe PH, (2010b). Carcass characteristics and meat quality of heavy swine fed different citrus pulp levels. *Arq Bras Med Vet Zootec* 62 (4): 921-929.
- Webb, E. C.H. A. (2008). The animal fat paradox and meat quality. *Meat Science*, 80(1), 28-36.
- Wood, J. D. M. (1997). Factors influencing fatty acids in meat and the role of antioxidants in improving meat quality. *British journal of Nutrition*, 78(1), S49-S60.
- Wood, J. D. M. A. V. G. R. R. I. P. R. (1999). Manipulating meat quality and composition. *Proceedings of the Nutrition Society*, 58, 363–370.
- Wood, J. D. (2003). Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat science*, 66(1), 21-32.
- Webb, E. C.N. H. (1997). Influence of dietary presentation on the composition of fatty acids and sensory characteristics of meat from wethers. *South African Journal of Food Science and Nutrition*, 9, 69–76.
- Yolton, D. S. (1976). Influence of certain indigenous gastrointestinal microorganisms on duodenal alkaline phosphatase in mice. *Appl. Environ. Microbiol.* 31, 880–888.
- Zijlstra, R. (2013). Swine convert co-products from food and biofuel industries into animal protein for food. *Animal Frontiers* 3 (2), 48-53.
- Zhao, P. Y. J. P. I. H. (2013). Evaluation of dietary fructan supplementation on growth performance, nutrient digestibility, meat quality, fecal microbial flora, and fecal noxious gas emission in finishing pigs. *Journal of animal science*, 91(11), 5280-5286.
- Zhang, J. C.J. F. (2018). Relationship between intestinal flora and inflammatory factors in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Experimental and therapeutic medicine*, 15(1), 723-726

