Instituto de Ganadería de Montaña

Desarrollo de nuevos sistemas de alimentación y estrategias productivas para la producción de carne de ovino

Development of new feeding systems and production strategies for lamb meat production

Carolina Blanco Fontao

León, 2017

Los doctores Francisco Javier Giráldez García y Raúl Bodas Rodríguez como directores de la tesis titulada "Desarrollo de nuevos sistemas de alimentación y estrategias productivas para la producción de carne de ovino" realizada por Carolina Blanco Fontao, informan favorablemente, dado que reúne las condiciones necesarias para su defensa.

En León a 17 de marzo de 2017

Dr. Francisco Javier Giráldez García

Dr. Raúl Bodas Rodríguez

Memoria presentada por Carolina Blanco Fontao y dirigida por los doctores Francisco Javier Giráldez García y Raúl Bodas Rodríguez para optar al grado de Doctor por la Universidad de León, dentro del programa de doctorado "Medicina, sanidad y producción animal y ciencia y tecnología de los alimentos"

León, 2017

La autora de esta tesis doctoral ha disfrutado de una ayuda del programa de ORDEN EDU/346/2013, de 16 de mayo, de ayudas destinadas a financiar la contratación predoctoral de personal investigador de la Junta de Castilla y León y cofinanciadas por el Fondo Social Europeo.

Los trabajos que componen esta Tesis Doctoral han sido financiados por el CICYT (Proyecto AGL2010-19094) y el MINECO (Proyecto AGL2014-54124R).

Agradecimientos

Parece que todo tiene un final. En este momento que empiezo a ver la luz al final del túnel, me veo capaz de hacer un balance y una reflexión después de estos últimos años, que me han hecho evolucionar en casi todos los aspectos de mi vida.

Echando la vista atrás, lo primero que me gustaría hacer es agradecer a todos las personas que han contribuido a que este proyecto salga a la luz de algún modo. Tengo que confesar, ahora que se acerca el final tan anhelado, que tropecé con la ciencia casi por casualidad, y empecé esta andadura sin mucho conocimiento de causa. A lo largo de este tiempo me vi muchas veces en el medio de ninguna parte, sin saber dónde estaba el norte, ahora con perspectiva, la evolución de estos años me ha hecho entender el mapa del conocimiento, sistema del que dudé en numerosas ocasiones.

En primer lugar tengo que agradecer el apoyo recibido por parte de mis directores. Javier, con su mente matemática, capaz de encajar montones de datos, transformarlos y darles un razonamiento científico, siempre viendo un poco más allá. Raúl, por su capacidad de enseñar y su infinita paciencia transformando textos en manuscritos legibles corrección tras corrección. Gracias por todo lo que me habéis enseñado.

Aunque no firme como directora de la tesis, tengo que agradecer a Sonia su accesibilidad, su practicidad y su eficiencia, siempre que me surgió un dilema el poder recurrir a ti y venir con una solución.

El departamento de sanidad del centro y el de producción y tecnología de los alimentos de la universidad también fueron imprescindibles para componer parte de los manuscritos presentes en la tesis.

Fuera de ámbito estrictamente científico, también tengo mucho que agradecer. Un párrafo aparte merecen mis compañeros becarios. Lara, compartiste campo de batalla conmigo y formamos un buen tándem, Elena, verte trabajar de manera impecable y tu saber estar, Edgar, tu ironía llevada al extremo y tu sorna para ver la vida desde otro ángulo en la sala de becarios, David, al final las tesis se terminan, Tamara, Ana...y la nueva generación, ¡ánimo! Siempre se respiró buen ambiente en nuestro despacho, con todos los que han pasado por ahí en estos años. Los buenos ratos con Mariví todas las tardes siempre se agradecieron.

Fuera de nuestro rincón también tengo mucho que agradecer, empezando por Miguel, siempre buscando soluciones logísticas, relativizando los problemas científicos y poniéndonos los pies en la tierra. Qué decir de los chicos

de la finca, hicisteis que el trabajo de campo, que a temporadas fue duro, muy llevadero, gracias. El laboratorio ocupó la siguiente etapa, la ayuda para transformar ese montón de muestras en datos fue necesaria para realizar este trabajo.

La oportunidad de haber podido ir de estancia fue de lo más enriquecedor de la tesis. En Dublín me sentí como en casa, Lara tuvo mucho que ver, pero Aidan Moloney con su cortesía y amabilidad me ofreció todos los medios del TEAGASC para que pudiera analizar mis muestras. En Francia, Clermont-Ferrand, una ciudad similar a León en muchos aspectos, me abrió en ángulo de miras desde sus Puys en del macizo central, donde tuve la oportunidad de asistir al ICOMST y trabajar en un centro referente del INRA, codo con codo con Sophie Prache, investigadora meticulosa e impecable. Mi visión de la ciencia cambió de perspectiva, a la vez que me di cuenta que desde un centro como el IGM se puede hacer lo mismo, eso sí de distinta forma.

Como no mencionar a mi entorno, lejos casi todos del ámbito científico, se interesaron durante estos años en mis avances y descubrimientos, preguntándome con interés en que punto de la investigación me encontraba. Los de mi ribera, los de León, los de la carrera, todos los de siempre que por eso siguen cerca y todas esas amistades que se han forjado en este camino.

Y por último, a mi familia. Mis padres, por su comprensión y confianza, haciendo fácil lo difícil, mi tía Gema, amante del campo, mi hermana Bea y su mente idílica y entusiasta y cabeza científica, mi hermano Alfonso, poniendo la parte práctica e intelectual a la vida y como no a mi abuela que su reloj del tiempo ha sido capaz de adaptarse a todas las circunstancias de una manera tal, que sé que ojeará este manuscrito. Cada conversación y cada minuto con vosotros merece la pena. Los que nos han dejado en estos años, sé que también estarían orgullosos. Y Raúl...que aunque veamos el mundo desde distinto ángulo, me has acompañado en todo este proceso, que en el fondo es la misma pasión la que nos une. Me siento muy afortunada, ¡gracias!

Creo que ha sido mi pasión por agricultura, la que sin darme cuenta me ha arrastrado hasta este punto. He cambiado de perspectiva en este proceso de ilustración, soy consciente de que en estos años he evolucionado en muchos aspectos.

A la agricultura, la primera de todas las artes.

*Ella sostiene huellas del pasado,
representa la fugacidad del tiempo,
nos proporciona el sustento
y es el motor del resto de talentos.*

ÍNDICE

Resumen.....	- 1 -
Summary	- 11 -
Introducción y objetivos.....	- 19 -
Revisión bibliográfica	- 30 -
1. Situación actual de sector ovino en España	- 31 -
2. Sistemas de producción de carne	- 32 -
2.1. Producción de lechazos	- 32 -
2.2. Producción de cordero de cebo.....	- 33 -
2.3. Cebo intensivo y fermentación ruminal.....	- 34 -
2.4. Alternativas a los sistemas tradicionales de cebo de corderos	- 37 -
2.4.1. Raciones todo concentrado con cereal procesado o entero	- 37 -
2.4.2. Sistemas basados en libre elección de alimentos.....	- 38 -
2.4.3. Raciones completas.....	- 39 -
3. Efecto de la relación forraje/concentrado, de la forma de administración del forraje y del concentrado	- 40 -
3.1. Ingestión y selección de dieta.....	- 40 -
3.2. Utilización digestiva y rendimientos productivos.....	- 42 -
3.3. Efecto sobre las características de la canal y de la carne	- 44 -
4. Empleo de suplementos lipídicos en alimentación animal	- 49 -
4.1. Generalidades.....	- 49 -
4.2. Fuentes de lípidos en alimentación animal.....	- 50 -
4.2.1. Oleínas.....	- 51 -
4.3. Digestión y metabolismo de los lípidos.	- 54 -
4.3.1. Modificación de los lípidos a nivel ruminal.....	- 54 -
4.3.2. Digestión postruminal.....	- 57 -
4.3.3. Metabolismo de los lípidos a nivel tisular	- 58 -
4.4. Efecto sobre la fermentación ruminal	- 58 -
4.5. Efecto sobre la digestibilidad	- 60 -
4.6. Efectos sobre el rendimiento productivo.....	- 62 -
4.7. Efecto sobre las características de la canal	- 63 -
4.8. Efecto sobre la calidad de la carne.....	- 65 -
a. Características físico-químicas y organolépticas	- 65 -
b. Calidad higiénico-sanitaria.....	- 67 -
Capítulo I	- 97 -
Capítulo II.....	- 107 -
Capítulo III.....	- 119 -
Capítulo IV	- 129 -
Capítulo V	- 141 -
Discusión general	- 165 -
Conclusiones	- 193 -
Conclusions	- 197 -

Lista de abreviaturas

AGV	ácidos grasos volátiles
CLA	ácido linoleico conjugado
DHA	ácido docosahexaenoico
EPA	ácido eicosapentaenoico
FAD	fibra ácido detergente
FND	fibra neutro detergente
GDP	ganancia diaria de peso
N	nitrógeno
n-3	ácidos grasos omega 3
n-6	ácidos grasos omega 6
MS	materia seca
MUFA	ácidos grasos monoinsaturados
PUFA	ácidos grasos poliinsaturados
PV	peso vivo
RA	ácido ruménico
VA	ácido vaccénico

Resumen

La producción y el consumo de carne de cordero han experimentado, en España, un descenso significativo en la última década. Existen diversos factores que condicionan de manera decisiva la situación de este sector, algunos de ellos son de naturaleza económica (los costes de producción) y otros de naturaleza social (la imagen que el consumidor tiene de este producto y los cambios en los hábitos de consumo).

Ante esta situación, el sector productivo de carne de cordero se enfrenta a la necesidad de evolucionar, realizando cambios en los sistemas de producción para mejorar su competitividad y ajustarse a las nuevas exigencias del mercado. La alimentación es un elemento central que puede influir directamente tanto en los costes de producción como en las características de la carne y en su valor añadido, así como en la imagen que proyecta el sistema de producción en términos de bienestar animal y de impacto ambiental.

En España, la carne de ovino procede, mayoritariamente, de corderos lechales y de corderos sacrificados con pesos comprendidos entre los 25 y 30 kg. Estos últimos son criados en sistemas intensivos en los cuales la alimentación se ha basado, tradicionalmente, en el aporte a voluntad de pienso compuesto y paja de cereal. La administración de paja a voluntad, de forma separada al pienso, conlleva un coste adicional al del valor del propio alimento, derivado de su almacenaje y distribución.

Una de las posibles alternativas a este sistema de alimentación es el uso de raciones completas granuladas, en las cuales el forraje y el pienso (parte concentrada de la ración) se suministran mezclados. Este tipo de raciones permite optimizar el almacenamiento (en silos) y la distribución (de manera automática). Sin embargo, la utilización de este tipo de raciones en corderos en la etapa de crecimiento-cebo no ha sido evaluada en profundidad, por lo que resulta necesario establecer las bases científicas para una adecuada formulación de las mismas, sobre todo en lo concerniente a la proporción de forraje que deben incorporar para guardar un equilibrio entre la características productivas, el impacto ambiental y el bienestar de los animales.

Por otro lado, el empleo de suplementos lipídicos es una práctica habitual a la hora de formular raciones para los rumiantes de alta producción debido a varias razones: desde el punto de vista productivo permiten incrementar la densidad energética de las ración sin aumentar el riesgo de acidosis; por otra parte, pueden disminuir el potencial metanogénico de la ración y, por consiguiente, reducir el impacto ambiental del sistema de producción. Asimismo, desde el punto de vista nutricional, ofrecen la posibilidad de mejorar la composición de la grasa de la carne hacia un perfil de ácidos grasos más saludable.

De entre los posibles suplementos lipídicos, las oleínas son, en general, una fuente de grasa más económica que el aceite vegetal del cual provienen tras el refinamiento y su utilización en alimentación animal contribuye a la reutilización de este subproducto en la cadena alimentaria. Por consiguiente, su uso podría ser una alternativa al uso de aceites vegetales.

Por todo lo expuesto, se planteó el presente trabajo de investigación cuyo objetivo general fue estudiar el efecto de nuevas estrategias de alimentación (raciones completas granuladas con diferentes proporciones de paja de cebada y de oleína de girasol) para corderos en crecimiento-cebo sobre la ingestión, la utilización digestiva, el rendimiento productivo, el bienestar animal, el impacto ambiental y las características de la canal y de la carne.

Para abordar este objetivo se realizaron diferentes pruebas experimentales, cuyos resultados se publicaron en 5 artículos científicos, que se corresponden con los 5 capítulos en los que se divide la memoria.

En el **capítulo I**, que se corresponde con el artículo titulado "*Concentrate plus ground barley straw pellets can replace conventional feeding systems for light fattening lambs*", se describe el estudio del efecto de distintas proporciones de paja, en raciones completas, sobre la ingestión, la utilización digestiva, el rendimiento productivo y las características de la canal y de la carne. Para ello, se utilizaron 40 corderos de raza merina con un peso vivo (PV) inicial de $14,1 \pm 0,17$ kg, que fueron alojados en jaulas individuales y asignados al azar a uno de los siguientes grupos experimentales (diez corderos por tratamiento) en función del tipo de alimentación empleado: CONTROL (pienso compuesto y paja, ambos administrados a voluntad y en distintos comederos), B05 (ración completa granulada con un 5% de paja incluida en el gránulo, a voluntad), B15 (ración completa granulada con un 15% de paja incluida en el gránulo, a voluntad) y B25 (ración completa granulada con un 25% paja incluida en el gránulo, a voluntad). Los animales recibieron la ración diaria a primera hora de la mañana y dispusieron de agua fresca a voluntad en todo momento. Durante los días 22 al 26 del periodo experimental se llevó a cabo una prueba de digestibilidad, alojando a 4 corderos de cada grupo en jaulas que permitían la recogida por separado de heces y orina. Los corderos se sacrificaron cuando alcanzaron los 27 kg de peso vivo (PV). Se registró el peso de diferentes órganos y de la canal caliente y fría, tras 24 horas de oreo. En la media canal izquierda se realizó el despiece comercial y cada pieza fue pesada para calcular su proporción sobre la canal. La calidad de la carne se evaluó en el músculo *longissimus thoracis et lumborum*. En él se midió el pH a las 0 horas y a los 45 minutos *postmortem* a la altura de la sexta costilla. A las 24 horas se extrajo el músculo de la canal y se seccionó para medir el pH y el color, y se tomó una muestra para analizar las

pérdidas por cocinado y la textura, y otra para realizar el análisis de composición química.

La ingestión de paja, materia seca total, proteína bruta, fibra ácido detergente (FAD) y fibra neutro detergente (FND) aumentó linealmente ($P<0,05$) con la proporción de paja en el gránulo. La digestibilidad de la materia seca disminuyó al aumentar la inclusión de paja en el gránulo ($P<0,05$), sin afectar a la digestibilidad de la FND y FAD, ni al balance de N ($P<0,10$). Los corderos del grupo B25 mostraron la mayor ganancia diaria de peso, mientras que los del grupo B05, la menor. El índice de conversión no se vio afectado por la dieta ($P<0,10$). Sin embargo, la eliminación de N en las heces en el total del periodo de cebo fue menor en los grupos B05 y B15 respecto a los grupos control y B25 ($P<0,05$). No se observaron diferencias entre tratamientos ni en las características de la canal, ni de la carne ($P<0,10$).

En el estudio descrito en el **capítulo II** (artículo titulado "*Total mixed ration pellets for light fattening lambs: effects on animal health*"), se utilizaron los mismos animales y dietas descritas en el capítulo anterior, y además se incluyó otro grupo (grupo ALFALFA) de 10 animales alimentados con alfalfa a voluntad y pienso, administrado de forma restringida (17 g /kg de PV), como control positivo, para evaluar el estado de acidosis de los animales. Para ello, se recogieron muestras de sangre en diferentes momentos a lo largo del periodo de cebo para realizar el recuento celular y determinar el estado ácido-base. En el momento del sacrificio se recogieron muestras de sangre para comparar la producción de interferón gamma e interleuquinas mediante linfoestimulación, de líquido ruminal para determinar la concentración y proporción de ácidos grasos volátiles (AGV) y muestras de la mucosa ruminal para su análisis morfológico y evaluar el grado de paraquetarosis. Los animales del grupo ALFALFA presentaron una menor ganancia diaria de peso y un peor índice de conversión ($P<0,05$), pero los resultados obtenidos corroboraron que los animales de este grupo no sufrieron acidosis ruminal. El pH del líquido ruminal fue superior al de los otros grupos (5,8; 5,2; 5,6; 5,7 y 6,9 para los grupos control, F05, F15, F25 y ALFALFA, respectivamente; $P<0,05$), en parte debido a una menor producción de ácidos grasos volátiles, con un perfil, además, más orientado a la producción de ácido acético. Como consecuencia, el número de papilas fue mayor y el color de la mucosa fue más blanco en el grupo Alfalfa respecto a los restantes grupos ($P<0,05$). Esta menor acidosis en el rumen se tradujo en un valor mayor de pH sanguíneo y menores valores de hematocrito y anión gap ($P<0,05$) en el día 15 de experimento, diferencias que desaparecieron al final del experimento. No se observaron diferencias entre los otros grupos experimentales en ninguno de los restantes parámetros evaluados.

El **capítulo III** se corresponde con el artículo titulado "*Vegetable oil soapstocks reduce methane production and modify ruminal fermentation*" cuyo objetivo fue evaluar el efecto sobre la fermentación ruminal y las emisiones de metano de las dietas estudiadas en la prueba previa y el posible empleo de oleínas para modular el mismo. Se llevó a cabo una prueba *in vitro* de fermentación ruminal, donde se compararon cuatro fuentes de oleína (palma, soja, girasol y oliva) de manera independiente. Como sustrato para la fermentación se utilizaron 400 mg de las raciones B05, B15 y B25 anteriormente descritas, sobre las que se añadieron dos dosis diferentes de oleína (30 o 60 g/kg) o de una mezcla de ácidos láurico y mirístico (4:1), que se utilizó como control positivo por sus efectos antimetanogénicos. El sustrato más el correspondiente suplemento lipídico fueron incubados a 39°C, utilizando como medio 50 ml de líquido ruminal tamponado. Tras 24 horas de incubación se midió la producción de gas total y la proporción de metano en el mismo, así como el pH y la concentración de AGV en el medio. A medida que aumentó la proporción de forraje en la dieta, disminuyó la producción de gas, así como las proporciones molares de los ácidos propiónico y butírico en el medio. En contraposición, aumentó el pH y la proporción molar de acético en el medio y el porcentaje de metano en el gas producido. Como consecuencia, la producción de metano por g de materia seca incubado disminuyó al aumentar la proporción de paja en la dieta. Todos los suplementos lipídicos redujeron linealmente la producción de gas ($P<0,05$). La mezcla de los ácidos láurico y mirístico y las oleínas de soja y girasol también redujeron la proporción de metano en el gas producido ($P<0,10$). La producción de AGV por g de materia seca incubada no varió ($P>0,05$) con ninguno de los suplementos lipídicos y porcentajes de inclusión evaluados, pero sí varió el patrón de fermentación, disminuyendo linealmente la proporción molar del ácido acético ($P<0,05$) al incrementarse el porcentaje de oleína de oliva y de girasol y aumentando con el porcentaje de oleína de soja. La proporción molar de propiónico aumentó linealmente con el porcentaje de oleína añadido, tanto de oliva, como de girasol y soja. A pesar de estas variaciones entre oleínas en el patrón de fermentación, todas redujeron la producción de metano expresada por g de materia seca incubada o mol de AGV ($P<0,05$). El hecho de que las oleínas de soja y de girasol sean fluidas a temperatura ambiente y contengan altas proporciones de ácidos grasos insaturados determinó que fueran seleccionadas para la siguiente prueba.

Con la finalidad de seleccionar uno de estos dos tipos de oleína (soja y girasol) para incluirla en la dieta de corderos en cebo, se llevó a cabo una prueba de preferencia con corderos. El objetivo de ésta fue determinar si los animales mostraban preferencia o rechazo por alguno de los dos tipos de oleína, así como identificar posibles problemas de palatabilidad asociados a la inclusión de la oleína en la ración. Para ello, se utilizaron 6 corderos a los que se les ofrecieron

dos dietas simultáneamente y *ad libitum*, una con un 3 % de oleína de girasol o de soja en comederos separados. Estas dietas se elaboraron utilizando como dieta base la dieta B15 utilizada en la primera prueba. La prueba tuvo una duración de 13 días, distribuidos en 6 días de adaptación y 7 de periodo de recogida de datos para medir la preferencia. En el periodo de adaptación 3 corderos fueron alimentados con uno de los piensos experimentales durante 3 días y el otro pienso durante los 3 días siguientes. Los corderos restantes fueron alimentados con los mismos piensos pero en orden inverso. Después del periodo de adaptación, los animales tuvieron libre acceso a los dos piensos experimentales para evaluar la preferencia durante 7 días. Los valores de preferencia para cada oleína fueron calculados mediante la fórmula: $P = MS$ ingerida de la ración con una determinada oleína/ MS total, donde P expresa el consumo del tratamiento como una proporción del total de la ingestión; posteriormente se calculó el logaritmo neperiano de la relación de P girasol/ P soja, de este modo la ausencia de preferencia corresponde a un valor de 0. Los resultados obtenidos pusieron de manifiesto una clara preferencia ($82,5 \pm 7,73$ %) por la ración elaborada con oleína de girasol respecto a la formulada con oleína de soja. Los resultados de ésta prueba, y una breve descripción de la metodología utilizada, se incluyen en la discusión general, debido a que no tuvo la entidad suficiente como para conformar un artículo científico.

A partir de estos resultados obtenidos en las pruebas anteriores, se diseñó la tercera prueba experimental, para evaluar el efecto de la inclusión de distintas proporciones de oleína de girasol en la dieta de corderos de cebo, sobre la ingestión, la utilización digestiva, el rendimiento productivo, el estado del rumen y el estado ácido-base y las características de la canal, recogida en el artículo titulado "*Effects of dietary inclusion of sunflower soap stocks on nutrient digestibility, growth performance, and ruminal and blood metabolites of light fattening lambs*" (**capítulo IV**). En ella se utilizaron 44 corderos machos de raza merina con un peso inicial de $15,6 \pm 0,21$ kg, que fueron alojados en jaulas individuales y asignados al azar a uno de los siguientes grupos experimentales (11 animales por tratamiento) en función del tipo de alimentación: grupo CONTROL (ración completa granulada con un 15 % de paja molida, que se corresponde con la ración B15 del primer experimento), y otros tres grupos alimentados con esta misma ración, pero suplementada con diferentes proporciones de oleína de girasol: 15 (grupo 15SS), 30 (grupo 30SS) o 60 (grupo 60SS) g de oleína/kg de ración, y modificada únicamente para mantener el aporte de proteína. Los animales recibieron la ración *ad libitum* a primera hora de la mañana y dispusieron de agua fresca en todo momento. Durante los días 19 al 23 del experimento se realizó una prueba de digestibilidad, utilizando 4 animales de cada grupo. Cuando los corderos alcanzaron los 27 kg de PV fueron sacrificados, siguiendo el mismo procedimiento descrito en el capítulo I. La

ingestión de materia seca, la ganancia media diaria y la duración del periodo de cebo fueron similares en los cuatro tratamientos estudiados, si bien, se observó una tendencia a mejorar el índice de conversión en el grupo 30SS ($P<0,10$) respecto al resto de grupos. La digestibilidad de la materia seca y de la fibra de la ración disminuyeron de manera lineal al incrementar el porcentaje de oleína, mostrando los animales del grupo 60SS valores menores que el resto de grupos ($P<0,05$). La producción total de AGV en el líquido ruminal no se vio afectada por la dieta ($P>0,10$); sin embargo, la proporción de propiónico aumentó linealmente con la dosis de oleína ($P<0,05$), mientras que los valores de la relación acético/propiónico y el pH tendieron a disminuir ($P<0,10$). El color de la mucosa del rumen fue más oscuro, indicativo de un mayor grado de paraqueratosis, a medida que aumentaba la cantidad de oleína en la dieta completa ($P<0,05$). Sin embargo, a nivel sanguíneo, con la inclusión de oleína se constató un incremento del pH y de la concentración de sodio acompañados de una disminución lineal del valor del anión gap, la presión de CO_2 y la concentración de potasio ($P<0,05$). Por lo que respecta a las características de la canal, tanto el rendimiento comercial como el peso de la canal fría tendieron a disminuir al aumentar la inclusión de oleína en la dieta ($P<0,10$). La proporción de oleína incluida en la ración no influyó en el pH de la carne, ni en las proporciones de las distintas piezas comerciales de la canal, como tampoco lo hizo en el color de la grasa subcutánea ($P>0,05$).

En el **capítulo V**, que se corresponde con el artículo titulado "*Effects of sunflower soapstocks on light lamb meat quality*", se agrupan los resultados de 32 de los 44 corderos que se describen en el capítulo IV (8 por tratamiento), en los cuales se estudió el efecto de la proporción de oleína sobre la calidad de carne. Para este estudio se extrajeron los músculos *longissimus thoracis*, *biceps femoris* y *adductor magnus* tras 24 horas de oreo de la canal. El músculo *longissimus thoracis* se utilizó para determinar la composición química de la carne y el perfil de ácidos grasos, el *biceps femoris* para determinar los compuestos volátiles y el *adductor magnus* para el análisis sensorial. La inclusión de oleína en la dieta disminuyó el porcentaje de ácidos grasos saturados y mejoró los índices de aterogenicidad y saturación de la grasa de la carne (estos índices disminuyeron un 31 y un 27 %, respectivamente en los grupos que recibieron oleína, frente al grupo control) ($P<0,05$). Sin embargo, también aumentó la concentración de ácidos grasos *trans* monoinsaturados y de algunos compuestos volátiles derivados del benceno ($P<0,05$), los cuales poseen conocidos efectos perjudiciales para la salud humana. Estos cambios en la composición química de la carne provocaron que los consumidores fueran capaces de distinguir la carne de los corderos alimentados con oleína (15SS) frente al control (sin oleína) ($P<0,05$). Sin embargo, cuando tuvieron que elegir

en una prueba de preferencia, no se decantaron por ningún tratamiento ($P>0,10$).

Considerando todos los resultados del trabajo de investigación se puede concluir que, en las condiciones del presente estudio, el empleo de dietas completas granuladas permite producir canales y carne de cordero de características similares a las que se obtienen con el sistema convencional de cebo. La inclusión de oleínas de girasol tuvo efectos positivos (mejora de los índices de aterogenicidad y saturación) y negativos (incremento de ácidos grasos *trans* y acumulación de compuestos bencénicos) sobre parámetros que inciden en la salud de los consumidores. Estos efectos dependieron de la dosis y considerando en conjunto todos los resultados obtenidos sería recomendable no utilizar niveles de inclusión de oleína de girasol superiores al 1,5 %.

Summary

Lamb meat production and consumption in Spain has experienced a significant decrease in the last decade. There are several factors that can definitely affect this sector, some of which are economic (production costs) whereas others are of social nature (the image of this product from the point of view of the consumers together with changes in their habits).

Given this situation, the lamb meat production sector faces the need to evolve through changes in the production systems to improve competitiveness and meet the new market demands. Feeding is a key element that can directly influence production costs, meat characteristics and added value, as well as the public image of the production system in terms of animal welfare and environmental impact.

In Spain, sheep meat comes mainly from suckling lambs and lambs slaughtered with weights between 25 and 30 kg. The latter are bred in intensive systems where they are traditionally fed on ad libitum supply of concentrated feed and cereal straw. Separate straw administration from the concentrate entails an additional cost to the value of the feed itself, derived from its storage and distribution.

One of the possible alternatives to this feeding system is the use of pelleted total mixed rations, in which forage and concentrate are mixed together and pelleted before being supplied. This type of rations allows optimization of feed storage (hoppers) and distribution (pellets can be automatically delivered to animals). However, the use of this type of rations in young fattening lambs has not been evaluated in depth. Therefore, it is necessary to set the scientific basis for their adequate formulation, particularly with regard to the proportion of forage that must be included for a balance between animal performance, environmental impact and animal welfare.

Furthermore, the use of lipid supplements is a common practice when formulating rations for fattening ruminants due to several reasons. On the one hand and from a performance point of view, lipids increase the energy density of the rations without increasing the risk of acidosis. On the other hand, lipid supplements can reduce the methanogenic potential of the ration and, consequently, reduce the environmental impact of the production system. Last, from a nutritional point of view, lipids open up the opportunity of enhancing meat fatty acid composition towards a healthier profile.

Among the lipid supplements, soapstocks are in general terms cheaper than the vegetable oils from which they come after refinement. Hence their use in animal feed contributes to the reuse of these by-products in the food chain as an alternative to vegetable oils.

For all these reasons, the present research work was raised with the overall objective of studying the effect of new feeding strategies (pelleted total mixed rations with different proportions of barley straw and sunflower soapstocks) for fattening lambs. We assessed feed intake, digestibility, animal performance and welfare, environmental impact and carcass and meat quality for the different feeding strategies.

To achieve this objective, different experimental trials were carried out, whose results were published in 5 scientific articles, corresponding to the 5 chapters of this dissertation.

Chapter I corresponds to the article entitled "Concentrate plus ground barley straw pellets to replace conventional feeding systems for light fattening lambs", which describes the effect of using different proportions of straw in total mixed rations on feed intake, digestive utilization, animal performance and carcass and meat characteristics. For this purpose, 40 merino lambs with an initial body weight of 14.1 ± 0.17 kg were used. Animals were housed in individual pens and assigned at random to one of the following experimental groups (ten lambs per treatment): CONTROL (ad libitum pelleted concentrate feed and long straw in different feeding troughs), B05 (ad libitum pelleted total mixed ration including 5% of straw in the pellet), B15 (ad libitum pelleted total mixed ration including 15% of straw in the pellet) and B25 (ad libitum pelleted total mixed ration including 25% of straw in the pellet). The animals received the daily ration early in the morning and had free access to fresh water. During the days 22 to 26 of the experimental period a digestibility trial was carried out by housing 4 lambs per group in cages that allowed the separate collection of faeces and urine. The lambs were slaughtered when they reached 27 kg of PV. The weight of different organs and the hot and cold carcass (after 24 h chilling) were recorded. Commercial cuts were obtained from the left carcass, each piece being weighed to calculate its proportion on the carcass. Meat quality was evaluated in the *longissimus thoracis et lumborum* muscle. The pH was measured at 0 hours and 45 minutes postmortem at the level of the sixth rib. After chilling (24 h) this muscle was removed from the carcass and sectioned to measure pH and color, and samples to analyze cooking losses, texture and chemical composition analysis were taken.

Straw, total dry matter, crude protein, FAD and FND intake increased linearly ($P < 0.05$) with the proportion of straw in the pellet. Increasing straw in the pellet caused a decrease in dry matter digestibility ($P < 0.05$), without affecting the NDF and FAD digestibility and N balance ($P < 0.10$). B25 lambs showed the highest average daily gain and B05 lambs the lowest. The feed/gain ratio was not affected by the diet ($P < 0.10$). However, the fecal N elimination in the total feeding period was lower in groups B05 and B15 than in the control

and B25 groups ($P < 0.05$). There were no differences between treatments in meat and carcass characteristics ($P < 0.10$).

In **chapter II** (article entitled "Total mixed ration pellets for light fattening lambs: effects on animal health"), the experimental animals and diets were the same mentioned in the previous chapter, plus a positive control (ALFALFA) of 10 animals fed with alfalfa *ad libitum* and a limited amount of concentrate feed (17 g/kg body weight), to evaluate the acidosis condition of the animals. Blood samples were collected at different times throughout the fattening period to analyze cell counts and acid-base status, and just before slaughtering to assess interferon gamma and interleukins production by lympho-stimulation. Rumen fluid samples taken after slaughter were used to determine VFA concentration and proportion, whereas ruminal mucosa samples were used for morphological analysis (degree of paraquetarosis). The animals of the ALFALFA group showed a lower average daily gain and a worse feed/gain ratio ($P < 0.05$), but the results clearly supported that these animals did not developed ruminal acidosis. ALFALFA lambs had higher ruminal fluid pH than the other groups (5.8, 5.2, 5.6, 5.7 and 6.9 for the groups control, B05, B15, B25 and ALFALFA, respectively, $P < 0.05$), partly due to a lower production of volatile fatty acids, with a pattern more oriented to acetic acid production. As a consequence, the number of papillae was higher and the color of the mucosa was whiter in the ALFALFA group compared to the remaining groups ($P < 0.05$). This low degree of ruminal acidosis resulted in higher values of blood pH and lower values of hematocrit and anion gap ($P < 0.05$) on day 15 of the experiment in ALFALFA lambs as compared to the other groups; however these differences disappeared at the end of the experiment. No differences were observed among the other experimental groups in any of the remaining parameters evaluated.

Chapter III includes the article entitled "Vegetable oil soapstocks reduces methane production and modify ruminal fermentation", whose objective was to evaluate the effect of the diets considered in the previous study on ruminal fermentation and methane emissions, and the possible use of soapstocks to modulate it. An *in vitro* ruminal fermentation test was carried out to compare the independent use of four sources of soapstocks (palm, soy, sunflower and olive). We incubated serum bottles containing 400 mg of substrate (B05, B15, B25 diets) including two different doses of soapstocks (30 or 60 g/kg) or a mixture of lauric and myristic acids (4:1, which was used as a positive control for its anti-methanogenic effects) and 50 ml of buffered rumen fluid at 39 °C for 24 h. After incubation, we measured gas and methane production, pH and volatile fatty acids concentration in the incubation medium. As the proportion of forage in the diet increased, gas production and propionic and butyric acids molar proportion in the medium decreased. In contrast, pH, acetic acid proportion in the medium and methane proportion in produced gas,

increased. As a consequence, methane production per gram of incubated dry matter decreased as the proportion of straw in the diet increased. All lipid supplements linearly reduced gas production ($P < 0.05$). The mixture of lauric and myristic acids and soybean and sunflower soapstocks also reduced methane proportion in the gas produced ($P < 0.10$). Volatile fatty acid production per g of incubated dry matter did not change ($P > 0.05$) with none of the lipid supplements and inclusion levels evaluated, but fermentation pattern was modified, acetic acid proportion decreased linearly ($P < 0.05$) as olive and sunflower soapstocks percentage increased, whereas acetic acid proportion increased with the level of soybean soapstock. Propionic acid proportion increased linearly with the proportion of soapstock (olive, sunflower and soybean) added. In spite of these variations in the fermentation pattern, all soapstocks reduced methane production per gram of incubated dry matter or mol of volatile fatty acids produced ($P < 0.05$). The fact that soybean and sunflower soapstocks are liquid at room temperature and are sources of unsaturated fatty acids determined their selection for the next trial.

In order to select one of these two types of soapstocks (soybean or sunflower) to be included in a diet for fattening lambs, a preference test was carried out with lambs. The objective of this trial was to determine the preference or rejection by lambs for either type of soapstocks, as well as to identify possible palatability problems associated with the inclusion of soapstocks in the ration. We offered to six lambs two diets based on the already mentioned B15 diet containing 3 % of either sunflower or soybean soapstock simultaneously and ad libitum in separate feeding troughs. The trial lasted 13 days: six day adaptation period and a seven day data collection period. During the adaptation period 3 lambs were fed on one of the experimental feeds for 3 days and on the other feed for the next 3 days, whereas the remaining 3 lambs were fed in reverse order. During the data collection period, the animals had free access to the two experimental diets to evaluate their preference for 7 days. We calculated preference values using the formula: $P = \frac{\text{soapstock (sunflower or soybean) diet dry matter intake}}{\text{total (sunflower+soybean) dry matter intake}}$ (consumption of the treatment expressed as the proportion of total intake); and subsequently the natural logarithm of the ratio $P_{\text{sunflower}}/P_{\text{soybean}}$, so that the absence of preference corresponds to a 0 value. The results obtained showed a preference (82.5 ± 7.73 %) for the diet containing sunflower soapstock. This test was not relevant enough to be published in a SCI journal, so a brief description of the methodology and the results are included in the general discussion.

From the previous outcomes, the third experimental trial was designed to evaluate the effect of the inclusion of different proportions of sunflower soapstock in the diet for fattening lambs, on the following parameters: intake,

digestive utilization, animal performance, rumen and acid-base status and carcass characteristics. This experiment is shown in the article entitled "Effects of dietary inclusion of sunflower soap stocks on nutrient digestibility, growth performance, and ruminal and blood metabolites of light fattening lambs" (**Chapter IV**). Forty four male merino lambs with an initial body weight of 15.6 ± 0.21 kg were housed in individual pens and assigned at random to one of the following experimental diets (11 animals per treatment): CONTROL group (pelleted total mixed ration including 15% ground straw in the pellet, i.e. B15 diet of the first experiment), and three other groups fed with the same ration (protein content was kept constant) supplemented with different proportions of sunflower soapstock: 15 (15SS group), 30 (30SS group) or 60 (60SS group) g soapstock/kg ration. The animals received the corresponding diet *ad libitum* in the morning and had free access to fresh water all experiment long. From days 19 to 23 of the experimental period, a digestibility trial was carried out, using 4 animals from each group. Lambs were slaughtered when they reached 27 kg body weight as described in chapter I. Dry matter intake, average daily gain and length of fattening period were similar in the four treatments studied. Lambs in the 30SS group tended to show an improved feed/gain ratio ($P < 0.10$). Dry matter and dietary fiber digestibility decreased linearly as the percentage of soapstock increased; the animals in 60SS group showed the lowest values ($P < 0.05$). Total VFA concentration in rumen fluid was not affected by diet ($P > 0.10$), albeit propionic proportion increased linearly with the soapstock dose ($P < 0.05$). Otherwise the acetic to propionic acid ratio and pH tended to decrease ($P < 0.10$). The color of the rumen mucosa was darker as the amount of soapstock in the diet increased ($P < 0.05$), indicative of a higher degree of parakeratosis. However, we observed an increase in blood pH and sodium concentration and a linear decrease in anion gap, CO₂ pressure and potassium concentration ($P < 0.05$) with the inclusion of soapstock. As for carcass characteristics, commercial cuts and cold carcass weight tended to decrease with the inclusion of soapstock in the diet ($P < 0.10$). The proportion of soapstock included in the diet did not influence meat pH, proportions of carcass commercial cuts and subcutaneous fat color ($P > 0.05$).

Chapter V corresponds to the article entitled "Effects of sunflower soapstocks on light lamb meat quality", which contains the results obtained from 32 out of the 44 lambs used in Chapter IV (8 animals per treatment), in order to assess the effect of sunflower soapstocks inclusion on meat quality. To do this, we extracted *longissimus thoracis*, *biceps femoris*, and *adductor magnus* muscles after 24 hours of carcass chilling. We used *longissimus thoracis* muscle to determine meat chemical composition and fatty acid profile; *biceps femoris* muscle to evaluate volatile compounds and *adductor magnus* for sensory analysis. The inclusion of soapstocks the diet for fattening lambs resulted in

improved meat atherogenicity and saturation indexes (that decreased by 31 % and 27 %, respectively, compared to the control group) ($P < 0.05$). However, the use of sunflower soapstocks also modified the concentration of monounsaturated *trans* fatty acids and some volatile compounds derived from benzene ($P < 0.05$), which are known to have detrimental effects on human health. These changes in meat chemical composition enable consumers to distinguish meat from lambs fed with soapstock (15SS) versus control (without soapstock) ($P < 0.05$). However, when these consumers had to choose, there was not a well-defined preference for any of these treatments ($P > 0.10$).

Overall we may concluded that, under the conditions of the present study, the use of pelleted total mixed rations allows to produce carcass and lamb meat with similar characteristics to those obtained with the conventional fattening system. The inclusion of sunflower soapstocks had positive (improvement of atherogenicity and saturation indexes) and negative (increase of *trans* fatty acids and accumulation of benzene compounds) effects on parameters that affect consumers' health. These effects depended on the dose and, the addition of sunflower soapstocks to a diet for fattening lambs should be limited to a maximum level of 1.5 %

Introducción y objetivos

El ganado ovino es una especie básica en la ganadería mundial, hallándose distribuida por todos los continentes para el aprovechamiento de su carne, leche, lana, cuero y estiércol. En España, el censo de ovino en 2015 registró 16,5 millones de cabezas (de ellas, casi 3,7 millones eran corderos), representando la carne comercializada un total de 115.864 t. Los datos de los últimos diez años muestran que la evolución de este tipo de producción ha sufrido un descenso considerable, como también lo ha hecho su importancia económica en la producción final agraria (MAGRAMA, 2015). Esta crisis productiva y económica en el sector ovino de carne puede tener su origen en diversos factores.

En primer lugar, cabe señalar el factor económico, ya que el coste de producción de la carne de cordero es mayor que en otras especies animales y, por tanto, su consumo resulta especialmente afectado en épocas de crisis económica (MAGRAMA, 2015; MAPAMA, 2015).

En segundo lugar, debemos añadir a la ecuación factores sociales relacionados con los hábitos de consumo, motivados por cambios en los gustos de los consumidores o por el impacto sobre la salud. La carne de cordero, fundamentalmente debido a su perfil de ácidos grasos y por el contenido de colesterol, se considera menos cardio-saludable que las denominadas carnes blancas (Fernández-Ginés et al., 2005; Wood et al., 2008). El reciente informe de la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer de la OMS (Bouvard et al., 2015) sobre la relación entre el consumo de carne y el cáncer también ha contribuido a incrementar esta imagen negativa.

En tercer lugar, se encuentran aquellos factores relacionados con el impacto ambiental y la competencia por los recursos con la especie humana. La producción de rumiantes, en comparación con otras especies (p.ej., porcino o aves), requiere, en general, una mayor cantidad de alimento por kg de carne producido (Gill et al., 2010; Herrero et al., 2013; Mottet et al., 2017). Esta circunstancia, en los actuales sistemas productivos (muy diferentes del tradicional aprovechamiento de pastizales), en un mundo con recursos limitados y con la previsión de crecimiento de la población humana y de la consiguiente demanda de productos de origen animal, está determinando un incremento de la competencia de los recursos nutritivos entre las diferentes especies y una presión de selección positiva hacia la explotación de las especies más eficientes. Estos hechos unidos a la contribución de la producción de rumiantes a la emisión de gases de efecto invernadero, en especial de metano, está determinando el crecimiento de una corriente de opinión contraria al consumo de este tipo de carne, a la que obviamente no es ajena la producción ovina.

En cuarto y último lugar, se debe considerar el respeto por los derechos de los animales y su bienestar. La producción de carne de ovino tiene,

posiblemente, una imagen mejor que la de otros sistemas de producción. No obstante, existen aspectos relacionados con el bienestar animal que deben ser mejorados. Uno de ellos tiene que ver con la incidencia de patologías relacionadas con la nutrición de manera directa o indirecta (por influencia sobre el sistema inmunitario de los animales) (Morán et al., 2012; Morán, 2013). Entre las libertades de los animales de producción, recogidas en el informe Brambell (Brambell, 1965), se encuentra la de mantener a los animales libres de sed, de hambre y de enfermedades, lo que implica proveerles de una nutrición adecuada para que no padezcan patologías debidas al exceso o defecto de nutrientes. Una alimentación inadecuada, por tanto, es un factor de malestar que debe evitarse. En el caso concreto de los sistemas intensivos de cebo de corderos, la acidosis ruminal es probablemente la patología más frecuente relacionada con una alimentación inapropiada.

Obviamente los dos primeros factores señalados son los que actualmente tienen mayor peso si se considera el conjunto de consumidores. No obstante, el impacto ambiental y el bienestar animal son factores con una importancia creciente, condicionando la decisión de un porcentaje importante de los consumidores.

Ante esta situación, el sector de producción de rumiantes y, por extensión, de carne de cordero se enfrenta a la necesidad de evolucionar y realizar cambios en los sistemas de producción para mejorar su competitividad y ajustarse a las nuevas exigencias. La alimentación es un elemento central que puede influir directamente tanto en los costes de producción como en las características de la carne – y, por ello, en su valor añadido –, así como en la imagen que proyecta el sistema de producción en términos de bienestar animal y de impacto ambiental.

En España, la carne de ovino procede, mayoritariamente, de corderos lechales y de corderos sacrificados con pesos comprendidos entre los 25 y 30 kg, criados fundamentalmente en sistemas intensivos (Sañudo et al., 1998; MAPAMA, 2015). En la mayoría de estos sistemas, la alimentación se ha basado, tradicionalmente, en el aporte a voluntad de pienso compuesto y paja de cereal. Pese a que el consumo de paja en estos sistemas es relativamente pequeño, puesto que representa menos del 10 % de la dieta consumida; (Bodas et al., 2007), su administración a voluntad de forma separada al pienso conlleva un coste económico adicional al del valor del propio alimento, derivado de que su distribución requiere una importante dedicación de mano de obra.

La búsqueda de sistemas alternativos se ha basado inicialmente en la supresión de la paja de la ración que, si bien logra rendimientos similares a los del sistema convencional, no está exento de inconvenientes (entre los que cabe destacar, por ejemplo, selección inadecuada de ingredientes, exceso de consumo

de algunos nutrientes, etc.) que todavía no se ha conseguido resolver de forma totalmente satisfactoria (Landa et al., 2001; Rodríguez, 2005).

No obstante, existe la alternativa de no suprimir la paja de la alimentación e incluirla en una ración completa (integral) que permita realizar una distribución automática de los alimentos. De esta manera, no se renuncia completamente al efecto beneficioso del forraje en la ración y se evita la problemática asociada a su distribución y almacenamiento. El empleo de este tipo de raciones, en las que forraje y pienso se suministran mezclados, ha sido ampliamente estudiado en ganado bovino y ovino adulto; sin embargo, en corderos, en concreto en la etapa de crecimiento-cebo e incorporando la paja muy picada, no ha sido evaluado en profundidad, por lo que resulta necesario establecer las bases científicas para una adecuada formulación de las mismas, sobre todo en lo concerniente a la proporción de forraje a incluir.

Por otro lado, complementariamente, el empleo de suplementos lipídicos es una práctica habitual a la hora de formular raciones para los rumiantes de alta producción. Más allá de la relación de esta estrategia con la modificación de características nutricionales y saludables de la carne (por ejemplo, la mejora del perfil de ácidos grasos; (Wood et al., 2008)), existen otros objetivos (productivos, relacionados con el bienestar animal, medioambientales) que justifican su utilización. Así, desde el punto de vista productivo, los suplementos lipídicos se han utilizado en nutrición animal para aumentar el contenido energético de la ración, lo que permite incrementar la ingestión de energía con una menor cantidad de alimento (Vernon, 1980; Mateos et al., 1996). Paralelamente, la suplementación lipídica permite disminuir la proporción de cereales en la parte concentrada de la ración, lo que contribuye a reducir el potencial acidogénico de los mismos y mejorar el bienestar de los animales (Enemark et al., 2002; Bodas et al., 2007). Finalmente, desde el punto de vista medioambiental, se ha observado que algunos aceites y ácidos grasos específicos presentan un efecto inhibidor de la producción de metano (Dohme et al., 2001; Machmuller et al., 2003). La amplia bibliografía existente al respecto pone de manifiesto que los efectos varían en función de múltiples factores, entre los que cabe destacar la naturaleza de la fuente lipídica y la proporción incluida en la dieta, la interacción con otros componentes de la dieta, el tipo y estado productivo de los animales que las reciben, etc.

En nuestro país, y en relación con el ganado ovino, se ha estudiado el efecto de jabones cálcicos y grasa parcialmente hidrogenada, así como de diferentes tipos de aceite (e.g. girasol, soja, oliva) y de semillas de oleaginosas, sobre las características de la carne y de la leche (Casals et al., 1999; Manso et al., 2006; Gómez-Cortés et al., 2008; Manso et al., 2009). Sin embargo, no se encuentran trabajos científicos publicados en los que se haya evaluado el empleo de oleínas en la alimentación de corderos. Las oleínas son una fuente lipídica, en

general, más económica que el aceite vegetal del cual provienen tras el refinamiento y su utilización en alimentación animal contribuye a la reutilización de este subproducto en la cadena alimentaria. No obstante, desde el punto de vista de la nutrición de rumiantes, tienen, a priori, el inconveniente de que su contenido en ácidos grasos libres (no esterificados) es mayor que en los aceites, siendo, por tanto, una fuente lipídica potencialmente más tóxica para la microbiota ruminal. Por consiguiente, es necesario profundizar en los potenciales efectos (productivos, medioambientales y sobre la salud humana) del empleo de estos ingredientes y establecer las bases para su correcta utilización.

Teniendo en cuenta todo lo expuesto, se planteó el presente trabajo de investigación cuyo objetivo general ha sido estudiar nuevas estrategias de alimentación (raciones completas granuladas con diferentes proporciones de paja de cebada y de oleína de girasol) para corderos en crecimiento-cebo sobre la ingestión, la utilización digestiva, el rendimiento productivo, el bienestar animal, el impacto ambiental y la calidad de la carne.

De forma más precisa, considerando que el presente trabajo de investigación se presenta en el modelo de compendio de artículos, para favorecer la comprensión del lector, a continuación se enumeran los objetivos concretos abordados en los diferentes artículos:

- Primer artículo: comparar el efecto del sistema de cebo tradicional (paja y concentrado *ad libitum* y por separado) con la utilización de raciones completas granuladas con diferentes proporciones de paja en el gránulo (5, 15 y 25 %) sobre la ingestión, los parámetros productivos y las características de la canal y de la carne en corderos en fase de crecimiento-cebo.
- Segundo artículo: evaluar el efecto del sistema de alimentación (sistema convencional, raciones completas granuladas con distintas proporciones de paja (5, 15 y 25 %) o alfalfa *ad libitum* y pienso restringido) sobre las características del rumen, la fermentación ruminal, el estado ácido-base, el recuento de células sanguíneas y producción de citoquinas en corderos en fase de crecimiento-cebo.
- Tercer artículo: estudiar el efecto de la dieta con diferentes proporciones de forraje (5, 15 y 25 %) y diferentes proporciones de distintos tipos de oleínas (3 y 6 % y de oleínas de girasol, soja, palma y oliva) sobre la fermentación ruminal *in vitro* y la producción de metano asociada.
- Cuarto artículo: evaluar el efecto de diferentes niveles de inclusión de oleína de girasol (1,5; 3 y 6 %) en una ración completa granulada para corderos en fase de crecimiento-cebo, sobre la ingestión, la digestibilidad, los parámetros productivos, las características del rumen, el estado ácido-base y las características de la canal.

- Quinto artículo: investigar el efecto de la inclusión de diferentes proporciones de oleína de girasol (1,5; 3 y 6 %) en la dieta de corderos en fase de crecimiento-cebo, sobre la composición química de la carne, el perfil de ácidos grasos y de compuestos volátiles y la aceptabilidad de los consumidores.

Por la limitación derivada de los requisitos de las publicaciones (extensión y naturaleza de la información aportada en cada artículo) y la propia dinámica del trabajo de investigación (realización de ensayos y análisis de muestras en diferentes etapas, colaboraciones, estancias, etc.), los resultados obtenidos se han separado lógicamente en diferentes artículos. No obstante, el trabajo de investigación que se incluye en la presente memoria se diseñó con un planteamiento holístico e interdisciplinar, abordando aspectos de rendimiento productivo, calidad de la canal y de la carne, impacto ambiental y bienestar animal, que ha requerido también la colaboración con expertos en sanidad animal y en ciencia y tecnología de los alimentos.

Referencias

- Bodas, R., Rodríguez, A.B., López, S., Fernández, B., Mantecón, A.R., Giráldez, F.J., 2007. Effects of the inclusion of sodium bicarbonate and sugar beet pulp in the concentrate for fattening lambs on acid-base status and meat characteristics. *Meat Science* 77, 696-702.
- Bouvard, V., Loomis, D., Guyton, K.Z., Grosse, Y., El Ghissassi, F., Benbrahim-Tallaa, L., Guha, N., Mattock, H., Straif, K. 2015. Carcinogenicity of consumption of red and processed meat. *Lancet Oncology* 16(16), 1599-1600.
- Casals, R., Caja, G., Such, X., Torre, C., Calsamiglia, S., 1999. Effects of calcium soaps and rumen undegradable protein on the milk production and composition of dairy ewes. *Journal of Dairy Research* 66, 177-191.
- Brambell, F.W.R. 1965. Report of the Technical Committee to Enquire into the Welfare of Animals kept under Intensive Livestock Husbandry Systems. Her Majesty's Stationery Office, London.
- Dohme, F., Machmuller, A., Wasserfallen, A., Kreuzer, M., 2001. Ruminant methanogenesis as influenced by individual fatty acids supplemented to complete ruminant diets. *Letters in Applied Microbiology* 32, 47-51.
- Enemark, J.M.D., Jorgensen, R.J., Enemark, P.S., 2002. Rumen acidosis with special emphasis on diagnostic aspects of subclinical rumen acidosis: a review. *Veterinarija ir Sootechnika* 20, 16-29.
- Fernández-Ginés, J.M., Fernández-López, J., Sayas-Barberá, E., Pérez-Alvarez, J., 2005. Meat products as functional foods: A review. *Journal of Food Science* 70, R37-R43.
- Gill, M., Smith, P., Wilkinson, J.M., 2010. Mitigating climate change: the role of domestic livestock. *Animal* 4, 323-333.
- Gómez-Cortés, P., Frutos, P., Mantecón, A.R., Juárez, M., de la Fuente, M.A., Hervás, G., 2008. Milk production, conjugated linoleic acid content, and in vitro ruminal fermentation in response to high levels of soybean oil in dairy ewe diet. *Journal of Dairy Science* 91, 1560-1569.

- Herrero, M., Havlik, P., Valin, H., Notenbaert, A., Rufino, M.C., Thornton, P.K., Blummel, M., Weiss, F., Grace, D., Obersteiner, M., 2013. Biomass use, production, feed efficiencies, and greenhouse gas emissions from global livestock systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110, 20888-20893.
- Landa, R., Mantecón, Á.R., Frutos, P., Rodríguez, A.B., Giráldez, F.J., 2001. Efecto del tipo de cereal (cebada vs maíz) sobre la ingestión, la ganancia de peso y las características de la canal de corderos alimentados con pienso y paja o sólo con pienso. *Itea Producción Animal* 99A (3), 204-216.
- Machmuller, A., Soliva, C.R., Kreuzer, M., 2003. Methane-suppressing effect of myristic acid in sheep as affected by dietary calcium and forage proportion. *British Journal of Nutrition* 90, 529-540.
- MAGRAMA, 2015. Informe del Consumo de Alimentación en España, Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. <http://www.magrama.gob.es/es>
- Manso, T., Bodas, R., Castro, T., Jimeno, V., Mantecón, A.R., 2009. Animal performance and fatty acid composition of lambs fed with different vegetable oils. *Meat Science* 83, 511-516.
- Manso, T., Castro, T., Mantecón, A.R., Jimeno, V., 2006. Effects of palm oil and calcium soaps of palm oil fatty acids in fattening diets on digestibility, performance and chemical body composition of lambs. *Animal Feed Science and Technology* 127, 175-186.
- MAPAMA, 2015. Encuesta de sacrificio de ganado, Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente.
- Mateos, G.G., Rebollar, P.G., Medel, P., 1996. Utilización de grasas y productos lipídicos en alimentación animal: grasas puras y mezclas. XII Curso de especialización FEDNA. Madrid.
- Morán, L., 2013. Efecto del ácido carnósico añadido a la dieta de corderos sobre el bienestar animal y la calidad de la carne, Instituto de Ganadería de Montaña, CSIC-Ule. Tesis doctoral.
- Morán, L., Andrés, S., Bodas, R., Prieto, N., Giráldez, F.J., 2012. Meat texture and antioxidant status are improved when carnosic acid is included in the diet of fattening lambs. *Meat Science* 91, 430-434.
- Mottet, A., de Haan, C., Falcucci, A., Tempio, G., Opio, C., Gerber, P., 2017. Livestock: On our plates or eating at our table? A new analysis of the feed/food debate. *Global Food Security*.
- Rodríguez, A.B., 2005. Alternativas a los sistemas actuales de alimentación en el cebo de cordero: efecto de la supresión de la paja de la ración y utilización el cereal en grano sobre la ingestión, el crecimiento las características de la canal. Instituto de Ganadería de Montaña, CSIC-Ule. Tesis doctoral.
- Sañudo, C., Sánchez, A., Alfonso, M., 1998. Small ruminant production systems and factors affecting lamb meat quality. *Meat Science* 49, S29-S64.
- Vernon, R.G., 1980. Lipid metabolism in the adipose tissue of ruminant animals. *Progress in Lipid Research* 19, 23-106.
- Wood, J.D., Enser, M., Fisher, A.V., Nute, G.R., Sheard, P.R., Richardson, R.I., Hughes, S.I., Whittington, F.M., 2008. Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Science* 78, 343-358.

Revisión bibliográfica

1. Situación actual de sector ovino en España

España es el segundo país productor de ovino de carne dentro de la UE de los 27 países miembros. La producción española representa el 22,6 % del total, considerando el número de animales sacrificados en toda la UE (EUROSTAT, 2014). Además, en concreto en nuestra región, la producción ovina es considerada una actividad económica estratégica y fundamental para el mantenimiento de poblaciones rurales.

Como se puede apreciar en la figura 1, en los últimos años la producción de carne de ovino en España ha sufrido una fuerte reducción (MAGRAMA, 2015). A pesar de ello, la explotación de ganado ovino sigue siendo una actividad económica relativamente importante, con un censo de 16.361.000 de cabezas y 112.464 t de carne comercializada en el año 2014 (MAGRAMA, 2015).

Es oportuno mencionar que, paralelamente a la reducción en la producción, con carácter general se produjo un notable descenso en el consumo de este tipo de carne, superior al observado en el censo (figura 2). Este efecto es consecuencia de diferentes causas, algunas de ellas son de naturaleza económica (los costes de producción) y otras de naturaleza social (la imagen que el consumidor tiene de este producto y los cambios en los hábitos de consumo) (Cruz, 2013).

Figura 1. Evolución de la producción de carne de ovino en España (MAGRAMA, 2015).

Figura 2. Evolución del consumo de carne fresca de ovino y caprino en los hogares españoles (MAGRAMA, 2015).

2. Sistemas de producción de carne

En España se comercializan diferentes tipos de cordero atendiendo tanto a la edad, como al manejo y a la alimentación recibida, estando muy ligada ésta última a las diferentes razas ovinas y al sistema de explotación.

2.1. Producción de lechazos

El cordero lechal o lechazo se alimenta exclusivamente de leche y se sacrifica en torno a los 9-12 kg de peso vivo, que alcanza con una edad de 20-30 días. Estos corderos producen canales de entre 5 y 7 kg y proceden fundamentalmente de razas de aptitud lechera, como la latxa, churra, castellana, manchega o assaf y sus cruces.

A su vez dentro de esta categoría de cordero hemos de distinguir tres tipos en función de la aptitud de la oveja de la que proceden y del tipo de lactancia.

En primer lugar se encuentra el cordero lechal, producto de ovejas de aptitud lechera y alimentado con leche materna hasta el destete; suelen provenir de explotaciones de tipo intensivo o semi-intensivo. En segundo lugar, se encuentra el cordero procedente de ovejas de aptitud lechera, pero alimentado con leche maternizada tras el encalostrado. Este tipo de cordero suele proceder de explotaciones intensivas. Por último, el cordero producto de oveja de aptitud

mixta o cárnica alimentado de leche materna, normalmente de raza castellana, churra, ojalada y merina. Éstos provienen de explotaciones extensivas o semiextensivas (Ciria et al., 2009; Sañudo et al., 2009).

2.2. Producción de cordero de cebo

La mayor parte de la carne de ovino producida en España (64 %) es de cordero de cebo, que produce canales de más de 10 kg de peso (MAPAMA, 2015). Estos corderos se sacrifican en edades comprendidas entre 1,5 y 3 meses y con pesos al sacrificio que se sitúan, fundamentalmente, entre los 25 y 30 kg. Dentro de este tipo de cordero podemos encontrar dos sistemas convencionales de producción: cebo con pasto y cebo con pienso en aprisco.

Aunque de manera minoritaria, el pastoreo en zonas de montaña y en dehesas es una forma de realizar el cebo de corderos y su relevancia evoluciona de manera proporcional a la de consumidores que demandan productos de origen animal criados de una manera “más natural” (Ciria et al., 2009). Este sistema se basa en corderos que permanecen con sus madres y alrededor de las 2-3 semanas empiezan a pastar. El destete suele realizarse con unos 90 días, momento en que los corderos pasarían a alimentarse exclusivamente de pasto (Sañudo et al., 2009).

Este tipo de corderos se sacrifican con pesos de 25-35 kg y edades muy variables, en función de la época de nacimiento. La principal ventaja de este sistema es la disminución del consumo de concentrado y el consiguiente ahorro económico. Sin embargo, la carne de estos animales es más oscura y las canales presentan un menor engrasamiento y una peor conformación, lo que hace que la demanda por parte del consumidor no sea elevada y su valor en el mercado sea menor (Carrasco et al., 2009; Ciria et al., 2009; Lemos, 2011).

No obstante, como ha sucedido en otras producciones ganaderas, las exigencias del mercado han derivado en una elevada intensificación, con explotaciones especializadas en el cebo con un gran número de animales, lo que permite realizar economías de escala y obtener un producto de calidad relativamente homogéneo durante todo el año (Lemos, 2011).

En este sistema, los corderos se alojan en lotes de animales homogéneos, es decir, que reúnen las mismas características, y permanecen en el mismo lugar desde el destete hasta el sacrificio, normalmente cuando alcanzan entre 25 y 30 kg de PV.

Este sistema se ha basado tradicionalmente en la administración de pienso compuesto y de paja de cereal por separado (Sañudo et al., 1998; Bodas

et al., 2007). El forraje, que tiene la finalidad de mantener la función del rumen, supone alrededor del 10 % de la materia seca ingerida por cada animal si se trata de paja de cereal (Bodas, 2004; López-Campos et al., 2010; Morán et al., 2012).

Los piensos utilizados en el cebo de corderos suelen estar compuestos por un 80-85 % de alimentos con alto contenido energético, un 15-20 % de suplementos proteicos y un 1,5-3 % de corrector vitamínico mineral y aditivos (Bodas et al., 2007; Ciria et al., 2009). En lo que respecta a las materias primas que forman parte del pienso, los cereales (por el alto contenido en almidón de su endospermo) son los alimentos más utilizados como fuente de energía. El cereal se suele presentar molido para reducir la selección de ingredientes y favorecer la utilización digestiva, ya que así se aumenta la superficie de ataque por parte de los microorganismos del rumen y también de las enzimas digestivas (Hejazi et al., 1999; Ciria, 2009). Sin embargo, como se analiza posteriormente, en el ganado ovino la molienda del cereal no parece influir en la digestibilidad, pero sí en la proporción digerida en los distintos tramos del tracto digestivo (Knowlton et al., 1998; Hutjens, 1999; Huntington et al., 2005).

Los suplementos proteicos más utilizados son las tortas de oleaginosas, siendo la de soja la que más se emplea en los piensos para el cebo de corderos; en ocasiones también se incluyen algunas leguminosas grano de origen nacional en la formulación de los piensos (colza, altramuza, guisantes, habas, lentejas) (Purroy et al., 1993; Daza Andrada, 1997).

2.3. Cebo intensivo y fermentación ruminal

En condiciones normales el pH del líquido ruminal varía, dependiendo de la composición de la ración y del momento del día, en un rango de 5,5 a 7 (Nocek, 1997; Bodas et al., 2007; Kleen y Cannizzo, 2012). Tras la ingesta de alimento y su fermentación en el rumen se incrementa la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) en el líquido ruminal y desciende el pH, alcanzando su valor más bajo entre las 2 y 4 horas posteriores. A medida que aumenta el aporte de carbohidratos fácilmente fermentables, las bacterias ruminales responden incrementando la tasa de crecimiento y la fermentación, por lo que también se eleva la producción de AGV y su absorción a través de la pared del rumen.

En el caso de animales que reciben dietas con altas proporciones de concentrado, las bacterias amilolíticas son las predominantes, representando el 90-95 % de la población microbiana (Nagaraja y Titgemeyer, 2006). Entre ellas destacan *Bifidobacterium*, *Butyrivibrio*, *Eubacterium*, *Lactobacillus*, *Mitsoukella*, *Prevotella*, *Ruminobacter*, *Selenomonas*, *Streptococcus*, *Succinimonas* y

Succinivibrio (Kotarski et al., 1992; Nagaraja y Titgemeyer, 2006; McCann et al., 2016). En estas condiciones los microorganismos que mayores tasas de crecimiento presentan son *Streptococcus bovis*, *Selenomonas ruminantium* y *Lactobacillus* (Russell y Hino, 1985; Nagaraja y Titgemeyer, 2006; Mao et al., 2013; Petri et al., 2013). El efecto de estos cambios en la microbiota favorece la producción de ácido láctico y la acumulación del mismo, descendiendo más el pH, ya que el ácido láctico es 10 veces más potente que el acético, propiónico o butírico. Si el pH disminuye por debajo de 4,7 la tasa de crecimiento de *Streptococcus bovis* disminuye y la de *Lactobacillus* aumenta, produciéndose de este modo mayores cantidades de ácido láctico (Bramley et al., 2008; Hernández et al., 2014).

Por otra parte, con este tipo de raciones de cebo intensivo se disminuye el tiempo empleado en la masticación y la rumia, con la consiguiente reducción de la producción de saliva (Hernández et al., 2014). La secreción de saliva aporta sustancias al rumen con capacidad amortiguadora del pH (sales minerales). El flujo es continuo, pero se incrementa durante los procesos de ingestión y rumia. Así, cuando los animales consumen dietas muy concentradas se incrementa el ritmo de secreción de saliva durante la ingestión. Sin embargo, puesto que la ingestión se realiza de un modo muy rápido, y se reduce también el tiempo de rumia, la cantidad de saliva total producida es menor. Por el contrario, la producción de saliva aumenta al hacerlo la relación forraje/concentrado y el tamaño de picado del forraje (Uden, 1988; Van Soest, 1994; Krause et al., 2002; González et al., 2012b).

Se ha demostrado que cuando se induce una acidosis subaguda se produce una disminución en la digestibilidad de la materia seca y de la fibra de la ración (Plaizier et al., 2001; Guo et al., 2013), consecuencia del descenso en el pH del rumen y de la reducción de la actividad celulolítica (Wedekind et al., 1986). La tasa de supervivencia de las bacterias celulolíticas disminuye cuando el pH es inferior a 6,2 (Calsamiglia y Ferret, 2002; Nagaraja y Titgemeyer, 2006).

Además, al descender el pH, consecuencia de la mayores concentraciones de AGV y de ácido láctico, se incrementa la presión osmótica en el contenido ruminal. Este hecho favorece la reabsorción de agua desde el torrente sanguíneo hacia el rumen, causando un incremento en el hematocrito (Owens et al., 1998; Hernández et al., 2014). Este aumento de flujo de agua, añadido a los bajos valores de pH, daña las papilas ruminales y termina causando una atrofia de las mismas y un aumento del espesor del estrato córneo (Van Soest, 1994; Kleen et al., 2003; Benavides et al., 2013). Todos estos hechos y las alteraciones de la mucosa ruminal provocan una disminución de la absorción de AGV, ejerciendo un efecto de retroalimentación, cuyo resultado es la acumulación de más AGV en el rumen (Nocek, 1997; Owens et al., 1998) y

una mayor dificultad para mantener el pH (Oetzel, 2003). En estas condiciones se activan mecanismos para reestablecer las condiciones fisiológicas normales, siendo la reducción de la ingestión uno de los efectos observados (Elam, 1976; Krause y Oetzel, 2005). A nivel metabólico, la producción de gran cantidad de ácido en el rumen da lugar a cambios en el perfil bioquímico de la sangre, entre ellos el pH de ésta. Algunos autores han observado una disminución del mismo (Huber, 1976; Patra et al., 1996; Owens et al., 1998; Brossard et al., 2003); sin embargo, otros autores no coinciden con estas observaciones, indicando que el pH sanguíneo puede mantenerse o incluso aumentar (Horn et al., 1979; Kleen et al., 2003). A este respecto, cabe indicar que la queratinización de la mucosa ruminal causa una disminución de la absorción a través de la pared del rumen, actuando como un mecanismo de defensa del organismo (Kleen et al., 2003). El bicarbonato y la presión de CO₂ en sangre también juegan un papel clave para la regulación del pH y tienen un comportamiento parecido. Tras la acidosis, ambas concentraciones, de manera general, disminuyen en la sangre (Horn et al., 1979; West et al., 1992; Krehbiel et al., 1995), aunque en algunos trabajos con dietas con altas proporciones de concentrado, se ha observado que los valores de estos parámetros pueden mantenerse dentro de los valores fisiológicos normales (Krehbiel et al., 1995; Bodas, 2004). La concentración de glucosa en plasma también puede ser un indicador de acidosis, ya que aumenta cuando el animal se encuentra bajo esta patología (Nour et al., 1998). Estos cambios también pueden venir acompañados por diferencias en la concentración de diferentes iones. Así, Nikolov, (2003) observó un aumento en la concentración plasmática de sodio y fósforo y una disminución de calcio y potasio, alterándose el anión gap.

Si bien la acidosis ruminal compromete el bienestar animal, una acidosis subclínica leve puede dar lugar a una serie de consecuencias sobre la eficiencia de aprovechamiento del alimento y las características de los productos obtenidos que no pueden considerarse como aspectos negativos. Cuando desciende el pH en la fermentación ruminal, aumenta la producción de propiónico y desciende la de acético. La producción de este último va ligada a la de metano, lo cual supone una pérdida energética. De este modo, la reducción en la producción de acético supone asimismo una disminución en la síntesis de metano (Johnson y Johnson, 1995; Russell, 1998; Martin et al., 2010), siendo más eficiente la utilización de los nutrientes por parte del animal.

Por otra parte, los cambios que se producen en la microbiota (disminución de las bacterias celulolíticas a expensas del incremento de las amilolíticas) pueden disminuir la biohidrogenación de los ácidos grasos en el rumen (Alves et al., 2013). Este hecho puede ser positivo para producir un perfil de ácidos grasos en carne menos saturado; sin embargo, también se ha observado en condiciones de acidez un cambio en la ruta metabólica del ácido *trans*11 C18:1 hacia la ruta alternativa del ácido *trans*10 C18:1 (Colman et al.,

2013). El ácido *trans10* C18:1 está relacionado con el síndrome de baja grasa en la leche (Shingfield et al., 2010), lo que en corderos de cebo tal vez podría traducirse en una menor deposición de tejido adiposo.

El conjunto, todas estas circunstancias implican que el empleo de raciones que rozan el límite de la acidosis ruminal podrían aportar una serie de ventajas, pese a las consecuencias negativas (Bach, 2002). No obstante, sobrepasado este límite, puede derivar en ruminitis, acidosis metabólica, laminitis, abscesos hepáticos, neumonía e incluso llegar hasta la muerte del animal (Lean et al., 2000; Hernández et al., 2014).

Es importante señalar que la aparición de acidosis ruminal depende de muchos factores (alimentación, edad, estado de producción y genética) y por ello, debe considerarse como un desorden de naturaleza compleja (Bramley et al., 2008).

2.4. Alternativas a los sistemas tradicionales de cebo de corderos

La administración de la paja a voluntad en el sistema convencional conlleva un coste económico adicional al del valor del propio alimento, debido a las necesidades de espacio para su almacenamiento y a que su distribución se realiza de forma manual o semiautomática, al contrario de lo que sucede con el pienso que se distribuye de forma automática.

Esta circunstancia, unida al hecho de que el consumo de paja por parte de los animales en estos sistemas es relativamente pequeño (puede representar menos del 10 % de la dieta consumida), ha promovido el interés por buscar sistemas de alimentación alternativos (Ørskov et al., 1974; Keskin et al., 2004; Rodríguez, 2005).

2.4.1. Raciones todo concentrado con cereal procesado o entero

Entre las alternativas al sistema convencional evaluadas, cabe destacar el uso de raciones todo concentrado (Lawlor y Crowley, 1971; Ørskov et al., 1974; González et al., 2000; Keskin et al., 2004; Rodríguez, 2005). Estas se pueden presentar de dos formas: molidas y sin moler.

La presentación del cereal procesado o molido supone varias ventajas. En primer lugar, el procesado asegura la homogeneidad de la mezcla y facilita la inclusión de diversas sustancias (e.g. aditivos); además de este modo se evitarían problemas de selección de los componentes de la ración por parte de los animales (Landa et al., 2001). Y, en segundo lugar, por motivos nutricionales,

ya que el procesado del cereal pretende incrementar la disponibilidad de los nutrientes y, por consiguiente, mejorar la eficiencia de utilización del alimento (Ørskov et al., 1974; Ciria, 2009). No obstante, la administración de raciones todo concentrado con cereales procesados conlleva una serie de problemas: aumenta la tasa de fermentación y la producción de ácidos, disminuye el pH en el rumen y, en consecuencia, incrementa el riesgo de acidosis (Castrillo et al., 1989; Askar, 2004; Askar et al., 2006).

Por otra parte en la especie ovina, diferentes trabajos ponen de manifiesto que el empleo de cereal entero permitiría suministrar una ración desprovista de paja sin que por ello se viera afectada ni la salud, ni el rendimiento de los animales (González et al., 2000; Landa et al., 2001; Cañeque et al., 2003). Se ha observado, por ejemplo, que la alimentación con cebada en grano entero incrementa el pH del rumen y el tiempo de rumia en comparación con su administración molida (Ørskov et al., 1974; Ørskov y Fraser, 1975).

La utilización de este tipo de raciones, no obstante, podría favorecer que los corderos seleccionasen entre los distintos componentes de la dieta, lo que en condiciones prácticas (producción en lote) se traduciría en una variación a lo largo del día de la composición del pienso en oferta y, por tanto, de la dieta consumida por los animales (Landa et al., 2001).

2.4.2. Sistemas basados en libre elección de alimentos

Otra de las alternativas al cebo tradicional de corderos es el sistema basado en la libre elección de alimentos. Este sistema consiste en administrar de forma separada y a voluntad los distintos componentes de la ración, de manera que los animales puedan seleccionar entre los distintos ingredientes para cubrir sus necesidades (Kyriazakis y Oldham, 1993; 1997; Scott y Provenza, 2000).

Sin embargo, los resultados obtenidos en trabajos realizados con corderos de cebo son contradictorios. En algunos de ellos no se observaron diferencias en la ingestión (Sahin et al., 2003; Askar, 2004; Rodríguez, 2005; Rodríguez et al., 2007) y en otros se detectó un aumento (Keskin et al., 2004).

En cuanto a la ingestión de proteína, en algunos trabajos se ha comprobado que el sistema de libre elección conlleva aparejada una disminución en la ingestión de la misma (Gorgulu et al., 1996). Sin embargo, en la mayoría de los trabajos se observó un incremento en el consumo de proteína en comparación con el grupo control (Sahin et al., 2003; Askar, 2004; Keskin et al., 2004; Rodríguez et al., 2007). Este hecho implicaría un incremento en el precio de la ración, además de aumentar el impacto ambiental asociado a la mayor eliminación de nitrógeno al medio (Rodríguez et al., 2007).

Además, cabe señalar que en todos ellos se constató una gran variabilidad individual de la dieta seleccionada entre los distintos animales y en el índice de conversión, si bien en todos los casos la dieta seleccionada permitió un adecuado ritmo de crecimiento. La causa de este comportamiento, no obstante, se desconoce y podrían estar implicados múltiples factores por lo que sería necesario realizar nuevos estudios para esclarecer las causas.

2.4.3. Raciones completas

Las raciones completas o piensos completos o también llamadas raciones integrales, unifeed o raciones mixtas completas (conocidas con el acrónimo de TMR, derivado de la expresión en inglés *total mixed rations*), se definen como las mezclas de alimentos para animales que, por su composición, sean suficientes para garantizar una ración diaria (Reglamento (CE) 727/2009 sobre la comercialización y utilización de los piensos). Por lo tanto, una ración completa incluye todos los ingredientes necesarios para satisfacer las necesidades de los animales.

En la alimentación de ganado vacuno es frecuente el empleo de este tipo de raciones. Desde los trabajos iniciales de Owen (Owen, 1969; Owen y Appleman, 1971), se han realizado numerosos trabajos de investigación para evaluar los efectos de la relación forraje/concentrado, así como del tipo de forraje y del tamaño de picado del mismo sobre la ingestión voluntaria, la utilización digestiva y el rendimiento productivo. La mayoría de estos estudios se han realizado en vacuno de leche (Raven et al., 1969; Bines y Davey, 1970; Allen, 2000; van Ackeren et al., 2009; Miyaji y Matsuyama, 2016). No obstante, en los últimos años este tipo de raciones se ha empezado a utilizar también en el cebo de terneros (Devant et al., 2000; Faleiro, 2011; Vahmani et al., 2016).

En el ganado ovino adulto destinado a la producción de leche también se utilizan raciones completas cada vez con más frecuencia, siendo una práctica habitual en algunas zonas y existiendo una base científica y técnica que avala este tipo de alimentación (Sierra Alfranca, 1996; Bodas, 2004; Fernández et al., 2009; Miguel et al., 2009; Mierlita, 2012; Yani et al., 2015; Manso et al., 2016).

Estas raciones completas pueden presentar el inconveniente de que los animales sean capaces seleccionar entre los distintos ingredientes que las componen (Morgante et al., 2007; Fernández et al., 2009). Este problema se puede solventar realizando un granulado de la ración. El uso de las raciones completas granuladas además permitiría reducir los problemas asociados al almacenamiento y distribución del forraje (paja), ya que se podría almacenar en silos y además se podría distribuir de manera automática, lo cual repercutiría en una reducción de la carga de trabajo. Sin embargo, el granulado conlleva un

procesado adicional de las raciones con respecto a aquellas sin granular, que implica un incremento en el gasto energético asociado al proceso de fabricación (Pérez-Torres et al., 2011). Por otra parte, la inclusión del forraje en el gránulo conlleva un elevado grado de picado y la disminución, de este modo, del contenido de "fibra efectiva" (que aúna los conceptos de composición química y tamaño de partícula; Allen, 1997), lo que puede influir en la salud del tracto digestivo y, por tanto, en el bienestar animal (Cozzi et al., 2002; Pérez-Torres et al., 2011; Bonfante et al., 2016).

En corderos, el empleo de raciones completas granuladas fue muy estudiado en las décadas de 1950 a 1970, pero en animales con pesos comprendidos entre los 30 y 50 kg, empleando fundamentalmente alfalfa como fuente de forraje y con porcentajes de forraje en la ración muy elevados en comparación con los sistemas de cebo intensivo en nuestro país (Cate et al., 1955; Perry et al., 1959; Weir et al., 1959). Un trabajo más reciente, realizado por Eldin et al. (2011) en corderos desde los 22 kg y cebados hasta los 40, donde se compararon dietas con la misma composición presentadas de diferentes manera (granulada y sin granular) y a su vez con otra granulada, pero con menor densidad energética, se observó una menor ingestión, mejor índice de conversión y mayor ganancia media diaria para las dietas de alta densidad energética, sin importar su forma de presentación.

Sin embargo, en la fase comprendida entre los 15 y los 30 kg existen pocos trabajos publicados con dietas diferentes a las empleadas en los sistemas de cebo intensivo en España. Así, por ejemplo, se puede citar el trabajo de Lawlor y Crowley (1971), en el que se compararon una dieta granulada todo concentrado, con dietas granuladas completas con proporciones variables de forraje (35-51 %), compuesto por diferentes combinaciones de paja, salvado de avena o hierba.

Cabe señalar que utilizando exclusivamente paja como forraje y en el intervalo de crecimiento hasta los 30 kg de peso PV, características intrínsecas del sistema de producción de nuestro país, esta alternativa, en lo que nosotros conocemos no ha sido estudiada.

3. Efecto de la relación forraje/concentrado, de la forma de administración del forraje y del concentrado

3.1. Ingestión y selección de dieta

En general, se asocia una mayor proporción de forraje en la ración con un menor consumo de materia seca (Tripathi et al., 2007; Santra y Pathak, 2009) debido a un aumento en el tiempo de masticación, durante la ingestión y

la rumia, y, por tanto, del tiempo de permanencia del alimento en el tracto digestivo (Beauchemin et al., 2008).

No obstante, el efecto de la relación forraje/concentrado parece estar modulado por diferentes factores, tales como el tipo de forraje o la forma de administración (Wainman y Blaxter, 1972). Así por ejemplo, Cate et al. (1955), en un estudio donde comparaban distintas proporciones y tipos de forraje (40, 50 y 60 % y alfalfa y heno) en raciones completas granuladas para corderos de cebo, comprobaron que al incrementar el porcentaje de heno aumentó la ingestión. En otro estudio con corderos de cebo, con un peso inicial de 16 kg y sacrificados a los 50 días de experimento, a los que se les administró una ración completa granulada utilizando como forraje alfalfa en distintas proporciones (38 y 69 %), se observó una mayor ingestión de alimento por parte de los corderos que recibieron el gránulo con mayor porcentaje de forraje (Pérez-Lanzac et al., 1987). Similares resultados fueron obtenidos por Lawlor y Crowley (1971) al comparar una ración granulada todo concentrado con distintas raciones granuladas con diferentes proporciones y tipos de forraje. En estos estudios, la inclusión del forraje muy picado o molido, no limitó la ingestión.

El efecto del tamaño de picado del forraje se ha estudiado exhaustivamente en raciones completas no granuladas, aunque los resultados son contradictorios. Así por ejemplo, en vacuno, algunos autores no han observado diferencias en la ingestión cuando el forraje se presentaba picado a distintos tamaños (Krause et al., 2002; Leonardi et al., 2005). Sin embargo, Fischer et al. (1994) demostraron que al aumentar el tamaño de partícula de 3,02 a 9,57 mm descendió la ingestión de materia seca en vacas. De manera contraria, Krause y Combs (2003) observaron que al reducir el tamaño de partícula del forraje de 5,3 a 2,7 mm disminuyó la ingestión de materia seca.

En ovino los resultados también son discordantes. Así, por ejemplo, Pérez-Torres et al. (2011) no constataron diferencias en la ingestión en ovejas a las que se les administró una ración completa con un 60 % de paja picada a 6 y 10 mm. Sin embargo, Hunt et al., (1984) observaron que corderos alimentados con paja picada a 2,5 cm tuvieron una mayor ingestión que aquellos a los que se les administró a 10 cm. Este resultado es similar al encontrado por Norouzian y Valizadeh (2014), quienes compararon dos dietas con la misma composición, pero diferenciadas por el tamaño de picado de la alfalfa (2 vs 35 mm).

El efecto del tamaño de partícula del forraje cuando la ración se administra granulada ha sido objeto de menor estudio, aunque existen algunos trabajos. Así por ejemplo, Al-Saiady et al. (2010) incluyeron un 25 % de alfalfa en el gránulo, previamente picada utilizando distintos tamaños de criba (9,5 y 14 mm), en la dieta de corderos de cebo y no observaron diferencias entre los dos

grupos. Cabe indicar que en este estudio se introdujo un tercer grupo al que se le administró, por separado, concentrado y alfalfa con mayor tamaño de picado ($17 \pm 2,4$ cm) siendo la ingestión similar a la registrada en los animales que recibieron las dietas granuladas. En otro trabajo realizado por Lawlor y Crowley (1971), donde se comparó una dieta compuesta por gránulos y heno largo administrados por separado, con una ración completa granulada en la cual el forraje suponía más del 40 % de la ración, se comprobó que la ingestión fue menor en los corderos que recibieron el primer tratamiento, probablemente por la concentración energética de la ración, ya que no encontraron diferencias en los rendimientos productivos. Sin embargo, cuando la primera dieta se ofreció sin alfalfa, es decir una dieta todo concentrado granulada, la disminución de la ingestión repercutió negativamente en la ganancia diaria de peso, aunque el índice de conversión fue mejor para estos animales.

3.2. Utilización digestiva y rendimientos productivos

En general, al aumentar la proporción de forraje en la ración, disminuye la concentración energética y la digestibilidad de la materia seca, ya que ambos parámetros suelen presentar menores valores en los forrajes que en los alimentos concentrados (Jarrige, 1980).

Independientemente de la variación en la ingestión, al aumentar la proporción de forraje, también se incrementa el ritmo de paso tanto del forraje como del concentrado, repercutiendo negativamente en la digestibilidad, en especial del componente fibroso de la ración (Shaver et al., 1986; Colucci et al., 1990; Bartocci et al., 1997; Tripathi et al., 2007; Al-Saiady et al., 2010).

Como consecuencia de los efectos señalados, en general, al aumentar el porcentaje de forraje, suele disminuir la ganancia diaria de peso y empeorar el índice de conversión. En este sentido, Fimbres et al. (2002), en un estudio realizado en corderos que recibieron dietas con un 0, 10, 20 y 30 % de heno, demostraron que al aumentar el porcentaje de forraje disminuía la ganancia diaria de peso y aumentaba el índice de conversión. Resultados similares fueron observados, también en corderos, por Jabbar y Anjum (2008), empleando Berseem forraje en proporciones del 75, 50 y 25 %, y por Cilliers et al. (1998) incluyendo proporciones del 30 al 70 % de silo de distintos forrajes.

El efecto de la relación forraje/concentrado, no obstante, puede estar modulado por el tamaño de picado del forraje, ya que cuando éste se administra muy picado o molido no limita la ingestión (Cate et al., 1955; Pérez-Lanzac et al., 1987).

El efecto del tamaño de picado es relativamente claro cuando se comparan tamaños extremos, afectando a la ingestión voluntaria y la digestibilidad (Yang et al., 2001; Jabbar y Anjum, 2008; Moharrery, 2010). En ganado ovino, en general, y en el cebo de corderos, en particular, existen muy pocos estudios en los que se haya evaluado el efecto del tamaño de partícula y además se ha observado gran variabilidad en los resultados. Así por ejemplo, en el trabajo de Al-Saiady et al. (2010) anteriormente mencionado, utilizando una ración completa granulada elaborada con heno de alfalfa picado a diferentes tamaños (tamaño medio de 17,8, 1,4 y 0,95 cm), se observó una reducción en la ganancia media diaria y un aumento en el índice de conversión al aumentar el tamaño de partícula. Estos autores también constataron una reducción en la digestibilidad de la FND y FAD al disminuir el tamaño de partícula, si bien no afectó a la digestibilidad de la materia seca.

El efecto del tamaño de partícula del forraje sobre la digestibilidad está relacionado con el ritmo de paso y la producción de saliva. Al reducirse el tamaño de partícula aumenta el ritmo de paso, permaneciendo el alimento menos tiempo en el rumen y reduciéndose la digestibilidad fundamentalmente del componente fibroso (Wilkins et al., 1972; Shain et al., 1999; Al-Saiady et al., 2010).

Por otra parte, el aporte de forraje en la ración estimula la producción de saliva durante la ingestión y la rumia, contribuyendo al adecuado funcionamiento del rumen y reduciendo la incidencia de acidosis (Kleen et al., 2003; Kleen y Cannizzo, 2012; Colman et al., 2013). Si se reduce en exceso el tamaño de partícula, la fibra aportada con el forraje pierde su efectividad, resultando en una menor producción de saliva y una menor capacidad de amortiguación del medio ruminal, favoreciendo un descenso en el pH ruminal y finalmente la reducción de la población y actividad de microorganismos celulolíticos, que son más sensibles a medios ácidos (Stewart, 1977; Shaver et al., 1986; Nagaraja y Titgemeyer, 2006).

La forma en que se administra la parte concentrada de la ración también juega un papel importante en la digestión y en la eficiencia de utilización de la misma. El procesado del grano afecta al lugar en el que se digiere el almidón, influyendo en la eficiencia de utilización del alimento (Knowlton et al., 1998; Hutjens, 1999; Huntington et al., 2005).

Cuando el almidón se digiere en el intestino delgado se absorbe glucosa. Sin embargo, cuando se digiere en el rumen, se fermenta la glucosa, produciendo ácidos grasos volátiles, lo que supone una pérdida energética (Harmon et al., 2004; Huntington et al., 2005). La digestibilidad aparente del almidón se estima en un rango entre el 90 y 100 % del total ingerido. En el

rumen se digiere aproximadamente entre un 75 y 80 % y este porcentaje no se ve muy afectado por la ingestión; en el intestino delgado se estima en un rango de entre el 80 y el 34 %, disminuyendo a medida que el flujo aumenta. Las causas de este descenso no están muy claras, pero parecen ser debidas a limitaciones en la actividad de las enzimas que intervienen en la hidrólisis del almidón; esta actividad, además, parece depender, entre otros factores, de la fuente de almidón administrada (Harmon et al., 2004; Huntington et al., 2005; Moharrery et al., 2014).

El procesado del grano del cereal rompe su estructura, mejorando la fermentación (Theurer, 1986; Huntington, 1997) y como consecuencia aumenta la proporción digerida en el rumen. Cuando se administra el cereal entero, en ganado vacuno disminuye la digestibilidad (Galyean et al., 1979; Lee et al., 1982). Sin embargo, algunos autores han afirmado que en ovino la masticación es más completa que en bovino y, por lo tanto, sugieren que en ovino, el procesado del cereal no tiene tanto beneficio como en ganado bovino (Hale, 1973; Theurer, 1986). De este modo, en corderos de cebo, MacRae y Armstrong (1969) no observaron diferencias ni en la digestión total del almidón, ni en el lugar de digestión, al comparar dietas elaboradas con cebada entera o molida. Beever et al. (1970) tampoco encontraron diferencias en la digestibilidad total del almidón al comparar dietas elaboradas con maíz molido o con maíz troceado. En este estudio, sin embargo, sí se observaron diferencias en el lugar de digestión, siendo mayor la proporción que se digirió en el rumen en los animales que recibieron la dieta elaborada con cereal troceado.

3.3. Efecto sobre las características de la canal y de la carne

El nivel de forraje incluido en la ración puede afectar a las características de la canal y de la carne, en particular, cuando la proporción de forraje es muy alta y la densidad energética de la ración y el ritmo de crecimiento de los animales se ven afectados (Joy et al., 2008; Carrasco et al., 2009; Zervas y Tsiplakou, 2011).

Generalmente, al aumentar el porcentaje de forraje, y reducir la concentración energética de la ración, disminuye el grado de engrasamiento de la canal, la deposición de grasa intramuscular y la terneza (Bowling et al., 1977; Lochner et al., 1980; Priolo et al., 2001).

Sin embargo, se han observado algunas discrepancias con respecto a la terneza. De este modo, algunos autores no encontraron diferencias en este parámetro al comparar la carne de terneros alimentados con diferentes proporciones de forraje en la dieta (Realini et al., 2004). Otros autores obtuvieron resultados similares en corderos (Santos-Silva et al., 2004; Bessa et

al., 2005). Por el contrario, Hachemi et al. (2016) observaron el efecto contrario, siendo mayor la dureza de la carne procedente de corderos alimentados con concentrado en comparación con otros alimentados con un 70 % de silo de maíz.

En cualquier caso, la terneza de la carne no depende únicamente del contenido de grasa infiltrada, sino también de otros parámetros, como el contenido y tipo de colágeno y los procesos de degradación de la estructura miofibrilar durante el proceso de maduración (Yeates et al., 1975; Lochner et al., 1980; Allingham et al., 1998; Maltin et al., 2003; Lee et al., 2010). Ambos parámetros pueden ser modulados a través de la alimentación que reciben los animales.

En este sentido, el contenido de colágeno y sus diferentes proporciones (soluble y no soluble) condicionan en gran medida la terneza de la carne debido a su alta resistencia. El contenido en colágeno está asociado generalmente a la edad de los animales, aumentado éste con la misma (Maltin et al., 2003). En cuanto a las proporciones de sus diferentes componentes, se ha constatado que a menores ritmos de crecimiento, asociados a una mayor proporción en la dieta de forraje, el colágeno presenta una menor solubilidad, producto de un menor recambio proteico, lo cual contribuye a una menor terneza (Yeates et al., 1975; Maltin et al., 2003).

La rápida degradación de las proteínas miofibrilares es un factor clave en la mejora de la terneza de la carne. El pH de la carne juega un papel crítico en la degradación de estas proteínas durante su almacenamiento postmortem (Wu et al., 2014). De manera general, existe una relación inversa entre el pH y la terneza de la carne (Guignot et al., 1994; Silva et al., 1999), aunque diferentes estudios señalan mayor terneza con valores bajos y altos de pH, que con valores intermedios (Jelenikova et al., 2008; Wu et al., 2014).

Las diferencias en el pH de la carne suelen estar relacionadas con las reservas energéticas (glucógeno). En general, dietas con altas concentraciones de energía, como las de cebo, permiten incrementar las reservas musculares de glucógeno, debido a una mayor disponibilidad de propionato para la gluconeogénesis (Kennedy et al., 1994), lo que favorece la bajada postmortem del pH en la carne. No obstante, la evolución del pH también depende del estado de engrasamiento de la canal, ya que el engrasamiento de la canal la protege durante el periodo de oreo, disminuyendo la velocidad con la que disminuye la temperatura, la cual afecta a la actividad metabólica y proteolítica del músculo. De este modo, Priolo et al. (2001) observaron diferencias significativas en la caída del pH de la carne comparando corderos alimentados con altas proporciones de forraje frente a corderos cebados con elevadas proporciones de concentrado, siendo más rápido el descenso de pH en los primeros, cuya canal

tenía un menor grado de engrasamiento. Estos resultados han sido constatados también en terneros por Espejo et al. (1998), quienes los atribuyeron a un enfriamiento más lento de la canal en los terneros acabados con concentrado, por su mayor cobertura de grasa.

La proporción y el tipo de forraje incluido en la ración también pueden influir en la capacidad de retención de agua, en el color, en el perfil de ácidos grasos y en el flavor.

En cuanto a la capacidad de retención de agua, se ha observado que las diferencias en este parámetro suelen estar relacionadas con diferencias en la grasa de cobertura, que reduce las pérdidas de agua durante el oreo, y con cambios acusados en el pH de la carne (Shackelford et al., 1992). Sin embargo, generalmente, es difícil observar diferencias en este parámetro. De este modo, Diaz et al. (2002) y Bessa et al. (2005) no observaron diferencias en la capacidad de retención de agua de la carne entre corderos alimentados con pasto y con concentrado. De manera contraria, Santos-Silva et al. (2002) hallaron diferencias en la capacidad de retención de agua en corderos alimentados bajo distintos sistemas (extensivo, semiextensivo e intensivo). Sin embargo, estos corderos fueron sacrificados a un peso fijo, por lo que atribuyeron estas diferencias a la edad al sacrificio.

Algunos autores consideran el sistema de alimentación como un factor extrínseco que afecta al color de la carne (López et al., 1981; Lee et al., 2010; Andrés et al., 2012). En general, los animales que consumen pastos presentan una carne con mayor contenido en pigmentos hemínicos (más oscura), en relación con aquella procedente de animales alimentados con dietas concentradas (Priolo et al., 2001; Diaz et al., 2002). Además, los animales alimentados con proporciones altas de forraje, depositan menos cantidad de grasa en el músculo y, por tanto, dan lugar a carnes menos luminosas (Priolo et al., 2001; Aourousseau et al., 2007). Así mismo, en animales alimentados con altas proporciones de forraje la grasa se vuelve más amarillenta debido a los carotenos presentes en el mismo (Realini et al., 2004; Prache et al., 2007).

El ritmo de crecimiento también puede influir en el color de la carne. Diferencias en este parámetro pueden causar a su vez diferencias microestructurales en los músculos, modificando los porcentajes de los distintos tipos de fibras y el tamaño de las mismas (Rehfeldt, 2005; Lee et al., 2010). Así por ejemplo, Mlyned y Gulissky (2007) observaron un menor número de fibras blancas y un mayor número de fibras rojas en terneros con un menor ritmo de crecimiento, lo que afectó al color de la carne, disminuyendo la luminosidad (L^*) y el índice de amarillo (b^*). Resultados similares obtuvo nuestro grupo de investigación en un experimento con corderos de cebo que mostraron un ritmo

de crecimiento más lento debido a la incorporación de flores de lúpulo en la dieta (Blanco et al., 2014).

El flavor es una cualidad organosensorial que resulta de la combinación de gusto y olor. El flavor está condicionado por el tipo de alimentación que reciben los animales y se ha observado que el aroma de la carne de animales alimentados con altas proporciones de forraje está relacionado con componentes hexanales derivados del ácido oleico (C18:1 *cis*-9) y del alfa linolénico (C18:3 n-3); en animales alimentados con concentrado, por el contrario, predomina un aroma con componentes octanales, derivados del ácido oleico (C18:2 n-6) (Lorenz et al., 2002).

De manera general, en bovino, se considera que la carne procedente de animales alimentados con pasto tienen un flavor más intenso que la de animales alimentados con altas proporciones de concentrado (Raes et al., 2003). Sin embargo, en corderos, Priolo et al. (2001) observaron que la carne procedente de animales alimentados con altas proporciones de concentrado mostraban un flavor más intenso que aquella proveniente de animales alimentados con altas proporciones de forraje, resultados similares a los hallados por Jacques et al. (2016). Estas diferencias parecen estar asociadas con un mayor contenido en ácidos grasos ramificados. Los ácidos grasos ramificados, particularmente el 4 metiloctanoico y 4 metilnonanoico, son considerados los responsables del flavor característico de carne de ovino (Priolo et al., 2001) y están presentes en mayores proporciones en animales alimentados con altas proporciones de concentrado porque provienen del ácido propiónico. Cuando los niveles de propiónico exceden la capacidad del hígado para metabolizarlos, se produce un incremento en la formación de ácidos grasos ramificados, que también afecta a la consistencia de la grasa, siendo más blanda y aceitosa (Garton et al., 1972; Solomon et al., 1992).

La relación forraje/concentrado es uno de los factores que tiene más influencia sobre el perfil de ácidos grasos de la carne. En general, una dieta rica en forraje da lugar a una carne con un mayor contenido en ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) y ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) (Enser et al., 1998; Bessa et al., 2005; Elmore et al., 2005; Howes et al., 2015; Jacques et al., 2016). Además, la carne de rumiantes alimentados con dietas con elevado porcentaje de forraje presenta un mayor contenido de ácidos grasos omega-3 en la grasa intramuscular y una relación n-6/n-3 más baja, que animales finalizados con dietas con un alto porcentaje de concentrado (Mitchell et al., 1991; Enser et al., 1998; French et al., 2000; Aurousseau et al., 2007; Howes et al., 2015; Jacques et al., 2016).

No obstante, el efecto de la relación forraje/concentrado sobre la relación poliinsaturados/saturados (PUFA/SFA) depende de diferentes factores y, por tanto, es variable. Así por ejemplo, Realini et al. (2004) comprobaron que en terneros alimentados con pasto, en su periodo final, el índice PUFA/SFA en la carne fue menor (0,2) que en la carne de aquellos que consumieron en su periodo final de cebo concentrado (0,45). Por el contrario, Duckett et al. (1993) observaron que el cociente PUFA/SFA en músculo era más alto para terneros finalizados con pasto (0,26) que para animales que consumieron concentrado (0,07). En ovino, Saccol et al. (2014) encontraron diferencias en el ratio PUFA/SFA en corderos alimentados con pasto frente a corderos alimentados con concentrado, con un mayor valor en los primeros.

En cuanto a los isómeros del ácido linoleico conjugado (CLA), se ha demostrado que con altas proporciones de forraje aumenta su contenido en la carne. Así, corderos cebados en pastoreo (solo o con un aporte de concentrado) tuvieron una mayor proporción de ácido ruménico (*cis9-trans11* C18:2) en la grasa intramuscular que aquellos cebados exclusivamente con concentrado y paja de cereales (0,79 y 1,01 *vs* 0,4 %) (Diaz et al., 2005). Resultados similares obtuvieron Jacques et al. (2016) y Hajji et al. (2016) en corderos alimentados con distintas proporciones de concentrado en la dieta.

Además, como se señaló anteriormente, proporciones muy altas de concentrado incrementan proporcionalmente el contenido en carne de los ácidos grasos *trans* (Jacques et al., 2016) y en concreto del *trans10* C18:1, considerado perjudicial para la salud humana (Wang et al., 2012).

Es importante tener en cuenta que en la mayoría de los experimentos citados se utilizaron forrajes considerados de buena calidad (alfalfa o hierba). En el caso de la paja, hay pocos estudios que evalúen su efecto sobre el perfil de ácidos grasos de la carne pero los efectos cabría esperar que fuesen de escasa magnitud debido a su bajo contenido de grasa en general, y de ácidos grasos insaturados. Posiblemente cuando se apliquen a raciones completas granuladas con paja picada como forraje, los efectos que se puedan encontrar puedan deberse a diferencias en los distintos ritmos de crecimiento de los animales, debido a la dilución energética de la ración y a modificaciones en las condiciones ruminales, que pudieran influir en los procesos de biohidrogenación. En este sentido, Aurousseau et al. (2004) observaron mayores proporciones de C18:0 en los triglicéridos y menores en los fosfolípidos en el *longissimus dorsi* de corderos de tasas de crecimiento lento en comparación con corderos con tasas de crecimiento altas. Además, también observaron un menor contenido en ácido ruménico (*cis9-trans11* C18:2) en los corderos que mostraron los menores ritmos de crecimiento. Estas diferencias posiblemente guarden relación con

diferencias en la biohidrogenación, consecuencia de distinto ritmo de paso del alimento a través del tracto digestivo y de las condiciones del medio ruminal.

4. Empleo de suplementos lipídicos en alimentación animal

4.1. Generalidades

Las grasas o lípidos se definen químicamente como sustancias orgánicas insolubles en agua, pero solubles en disolventes orgánicos.

La forma más tradicional de clasificar los lípidos es la que se basa en su comportamiento frente a la reacción de hidrólisis en medio alcalino. Los lípidos saponificables son los que se hidrolizan en medio alcalino, liberando ácidos grasos que están presentes en su estructura; en este grupo se incluyen las ceras, los triacilglicéridos, los fosfoglicéridos y los esfingolípidos. Los lípidos no saponificables son los que no experimentan esta reacción (terpenos, esteroides y prostaglandinas, en este último grupo también estarían incluidos los ácidos grasos libres o no esterificados). Los lípidos en los seres vivos desempeñan tres tipos de funciones: energética (principalmente los triacilglicéridos), estructurales (fosfoglicéridos, esfingolípidos y colesterol) y dinámicas (vitaminas, coenzimas, hormonas, pigmentos fotosintéticos...).

Los ácidos grasos que forman parte de los rumiantes son predominantemente saturados ($C14:0 + C16:0 + C18:0 = 40-45\%$) y monoinsaturados ($C16:1 + C18:1 = 40-45\%$) (Bas y Morand-Fehr, 2000; Bas y Sauvant, 2001; Morán et al., 2013). La fracción poliinsaturada (PUFA, 11 % de media) (Bas y Sauvant, 2001) contiene ácidos grasos omega 6 (n-6) y omega 3 (n-3) en relación variable (1 a 10) en función del tipo de alimentación (Enser et al., 1998).

Los ácidos grasos saturados y monoinsaturados suponen más del 95 % del total de ácidos grasos de los triglicéridos de reserva, mientras que los fosfolípidos de las membranas celulares contienen más de un 30 % de PUFA (Bas y Sauvant, 2001).

El contenido medio de grasa intramuscular en los bovinos y ovinos jóvenes es de aproximadamente un 5 %, aunque depende de múltiples factores, tales como raza, sexo, peso al sacrificio o alimentación (Bas y Sauvant, 2001; Okeudo y Moss, 2007). Así, por ejemplo, en la carne de buey puede alcanzar valores de entre un 9 y un 35 % (Prieto, 2006). Por otra parte, la relación PUFA/SFA disminuye al aumentar el grado de engrasamiento (Martínez Marín, 2007).

4.2. Fuentes de lípidos en alimentación animal

Los suplementos lipídicos han sido utilizados en los últimos años en el cebo de rumiantes con varias finalidades: aumentar la concentración energética de la dieta sin por ello incrementar el riesgo de acidosis ruminal, modificar la composición de la grasa (perfil de ácidos grasos) de la carne y, desde el punto de vista ambiental, reducir la producción de metano (Chilliard, 1993).

En el mercado mundial existen numerosos tipos de grasa. Su utilización en alimentación animal varía en función de su disponibilidad y del precio relativo con respecto a otras fuentes energéticas. Según su origen, las grasas se clasifican en animales, vegetales y mezclas de diversos orígenes (Mateos et al., 1996):

- Grasas de origen animal: dentro de éstas se pueden distinguir aquellas de origen marino (procedentes de aceites de pescado), que se caracterizan por tener un elevado contenido en ácidos grasos poliinsaturados. También están las procedentes de ave y porcino (insaturadas), así como de vacuno (saturadas). También se comercializan mezclas de ellas.
- Grasas de origen vegetal: dentro de las grasas vegetales, los aceites de semillas procedentes del girasol, maíz o soja son más insaturados que los de oliva, palma o coco.
- De diversos orígenes: Un tercer grupo de lípidos de interés creciente es el formado por subproductos de diversas industrias, cuya materia prima original es la grasa. En este grupo están las oleínas (residuos del refinado de los aceites para consumo humano), las lecitinas (gomas de los procesos de refinado industrial), las grasas de freiduría (resultantes del reciclado de grasas comestibles), los subproductos industriales y los destilados procedentes de la industria del glicerol, entre otros.

La inclusión de lípidos no protegidos en distintas formas de presentación (semillas de oleaginosas, aceites, grasas y otros subproductos industriales) en la dieta de rumiantes puede afectar negativamente a la población microbiana del rumen, con el consiguiente efecto sobre los parámetros de fermentación ruminal y la digestión de los componentes de la dieta (Bas y Sauvant, 2001), si bien los efectos dependen, además del tipo de ingrediente, del nivel de inclusión (Doreau y Chilliard, 1997; FEDNA, 2016).

Para reducir el efecto negativo sobre la microbiota ruminal, estas grasas a veces son tratadas mediante procedimientos físico-químicos. Estas grasas

protegidas, también denominadas by-pass, pueden presentarse de varias maneras:

- encapsuladas: consiste en el recubrimiento con capas proteicas de la grasa, formando una cápsula con el fin de que la grasa no sea atacada por la microbiota ruminal y quede disponible para el animal en el intestino delgado (Haddad y Younis, 2004; Arar y Harb, 2010),
- hidrogenadas: consiste en un proceso químico que añade hidrógeno en los enlaces insaturados haciendo más estable la grasa en el medio ruminal (O'brien, 2008),
- sales cálcicas de ácidos grasos: en las cuales los ácidos grasos se someten a una reacción de saponificación con calcio, produciendo así una grasa inerte a nivel ruminal, que minimiza la interacción con la microbiota (Ashes et al., 1997).

Estos tipos de grasa tienen poco (Grummer, 1988) o ningún efecto negativo sobre la digestión de los componentes de la dieta (Alba et al., 1997; Gagliostro y Schroeder, 2007) y permiten incrementar los ácidos grasos disponibles para la absorción intestinal a la par que se evitan o minimizan los efectos negativos sobre la población microbiana del rumen (Jenkins y Bridges, 2007).

En la última década se ha incrementado el empleo de aceites vegetales y marinos; a dosis relativamente bajas (hasta un 6 %). Este tema será desarrollado con más profundidad en el apartado 4.8.

4.2.1. Oleínas

Las oleínas son un subproducto del refinado de aceites vegetales (Bender, 2009). Durante el proceso de refinado se separan, mediante la adición de NaOH, los triglicéridos de los ácidos grasos libres, que son los responsables de la acidez. Posteriormente, se segrega ambas fases por centrifugación y decantación. Las pastas sódicas resultantes se neutralizan con ácido sulfúrico, originándose las llamadas oleínas aciduladas. Estas oleínas se lavan con agua abundante, para arrastrar el exceso de sulfúrico, y se secan por decantación, dando lugar a las oleínas comerciales (FEDNA, 2016) (figura 3).

Figura 3. Diagrama de obtención de oleínas en una almazara.

Las oleínas son un producto comercial que se puede vender como puro (procedente de la extracción de un solo aceite) o como mezcla (proceden de la extracción de varios tipos de aceite). Estas últimas son las más comunes; no obstante, aunque provengan de una mezcla, el perfil de ácidos grasos de los distintos tipos comercializados suele estar bien definido, lo que ayuda a identificar el tipo de aceite originario mayoritario y, por consiguiente, asimilarlo al mismo.

Las oleínas se utilizan con relativa frecuencia en las dietas de monogástricos (cerdos y aves) (Dumont y Narine, 2007), con varias finalidades. Una de ellas, mejorar el granulado de las raciones, reduciendo de este modo la separación de partículas que forman la ración (Dumont y Narine, 2007). Además, se utilizan para incrementar el contenido energético de las raciones y ayudar a paliar el estrés calórico (Bartov et al., 1974; Bock et al., 1991; Carvalho et al., 2014). Y también, dependiendo del tipo de oleína, modificar el perfil lipídico de la carne (Dumont y Narine, 2007), incrementando la proporción de ácidos grasos insaturados (González et al., 2012a).

Sin embargo, su bajo pH y el alto contenido de ácidos grasos libres, especialmente si son de cadena larga, son factores que limitan su empleo, ya que pueden influir negativamente en la palatabilidad, la digestibilidad y la salud del tracto digestivo (Johnson y McClure, 1973; Bock et al., 1991; Kerr et al., 2015). Por ello, se recomienda su inclusión en pequeños porcentajes (FEDNA, 2016).

Con el objetivo de mejorar la digestibilidad de las oleínas, se ha intentado, mediante procesos físicos y químicos, reducir su acidez, disminuyendo el porcentaje de ácidos grasos libres. El valor nutritivo de las oleínas se puede mejorar cuando se someten al proceso de re-esterificación de los ácidos grasos con la adición de glicerol, un subproducto derivado de la producción de biodiesel, para de este modo aumentar la energía digestible (Vilarrasa et al., 2014; Trullas et al., 2016). El proceso de re-esterificación consiste en una reacción que envuelve a los ácidos grasos libres junto con el glicerol, para de este modo formar triglicéridos (Karabulut et al., 2004; Idris y Dian, 2005). El producto resultante mantiene el perfil lipídico y el grado de saturación de la mezcla de donde proviene, pero presenta diferencias estequiométricas, lo que determina unas nuevas características físico-químicas y nutricionales (Klinkesorn et al., 2004).

Estas grasas reconstituidas se han utilizado en monogástricos. En este sentido, se ha observado que la inclusión en la dieta de cerdos de un 4 % de aceites de palma re-esterificados no modificó el perfil lipídico de la carne en comparación con los animales que consumieron el aceite normal (Tres et al., 2015). En pollos, el mismo tipo de aceite re-esterificado añadido al 6 % en la dieta, no provocó diferencias en la absorción de la grasa, ni en los rendimientos productivos comparado con el aceite de palma normal (Vilarrasa et al., 2014). En general, parece que los aceites re-esterificados pueden ser una alternativa al uso de aceites convencionales para el cebo de monogástricos. Sin embargo, en rumiantes no se han encontrado trabajos de investigación que evalúen su empleo.

Con respecto al tipo de oleína, la de soja, la cual es producida a gran escala, ha sido la más estudiada hasta ahora, sobretodo en dietas de monogástricos. Algunos estudios han concluido que puede ser utilizada como alternativa del aceite de soja o de maíz en la dieta de pollos de engorde (Bartov et al., 1974) o en gallinas ponedoras, sin afectar a la composición de la yema del huevo (Pardio et al., 2005). Sin embargo, otro estudio mostró que la adición de oleína de soja a las dietas de pollos y cerdos puede disminuir la digestibilidad de los aminoácidos y afectar al crecimiento (Bruce et al., 2006). González et al. (2012a) observaron cambios en el perfil de ácidos grasos al incluir oleína de oliva en la dieta de cerdos de engorde. Sin embargo, Rojas-Cano et al. (2014) en un

estudio realizado también en cerdos de engorde, no encontraron diferencias significativas en los rendimientos productivos.

4.3. Digestión y metabolismo de los lípidos.

4.3.1. Modificación de los lípidos a nivel ruminal

La grasa de la carne y de la leche difiere notablemente de la grasa que consumen los rumiantes, como consecuencia de los procesos de digestión y metabolismo que tienen lugar en el rumen y en los tejidos.

La digestión ruminal de la grasa incluye una fase de hidrólisis o lipólisis seguida de otra de hidrogenación. Estos procesos afectan a la mayor parte de la grasa ingerida, lo que justifica que la grasa de los rumiantes sea en general más saturada que la de los monogástricos. Este es un aspecto que ha sido muy ampliamente estudiado en los últimos años, por lo que aquí se realizará únicamente una breve descripción de los principales procesos (Harfooty y Hazlewood, 1997; Bauman et al., 2003; Hiller, 2014).

La hidrólisis de los lípidos de la dieta tiene lugar en el rumen por la acción de enzimas microbianas (lipasas, galactosidasas y fosfolipasas) producidas por bacterias y protozoos (Harfoot y Hazlewood, 1997). De este modo se liberan los ácidos grasos esterificados de los triglicéridos, glicolípidos y fosfolípidos.

Si los lípidos de la ración son accesibles (no protegidos) a la microbiota ruminal, se van a hidrolizar extensamente (más del 80 %). Si las grasas están protegidas o se integran en la estructura celular, como las semillas de oleaginosas enteras, el grado de lipólisis será mucho menor (Doreau y Ferlay, 1994).

La lipólisis puede verse reducida cuando el pH ruminal disminuye (Van Nevel y Demeyer, 1996), así como por el incremento de la proporción de grasa incluida en la dieta o un elevado punto de fusión de la misma (Beam et al., 2000).

Después de la hidrólisis de los lípidos, los ácidos grasos saturados liberados no sufren modificaciones en el rumen, mientras que los insaturados sufren un proceso de biohidrogenación para generar moléculas más saturadas (Plascencia et al., 1999). Este es un mecanismo de defensa de los microorganismos ruminales para reducir la toxicidad de los ácidos grasos insaturados, pues éstos inhiben el crecimiento microbiano de una forma proporcional a su grado de insaturación (Bauman y Griinari, 2001).

Los principales sustratos para la biohidrogenación presentes en los alimentos de los rumiantes son los ácidos linoleico (*cis9-cis12* C18:2) y linolénico (*cis9 cis15* C18:3) (Doreau y Ferlay, 1994). El proceso de biohidrogenación de los ácidos grasos insaturados de 18 carbonos conduce a la formación de ácido esteárico (figura 4). El caso del ácido linoleico (*cis9-cis12* C18:2) es el más estudiado y, por tanto, el mejor conocido. Este proceso se inicia con una reacción de isomerización, en la que la forma geométrica *cis* del doble enlace en posición 12 pasa a la forma *trans* en el carbono 11, más estable en el rumen. Ello da lugar al ácido ruménico (RA; *cis9-trans11* CLA), isómero mayoritario del ácido linoleico conjugado (CLA), que a continuación sufre una rápida hidrogenación del enlace *cis9* para formar ácido vaccénico (VA; *trans11* C18:1). La gran estabilidad que posee la configuración del enlace *trans11* hace que el VA sea hidrogenado más lentamente a ácido esteárico (C18:0) y, por tanto, se acumule en el rumen.

Como se recoge en la figura 5, la biohidrogenación del ácido linolénico (*cis9-cis12-cis15* C18:3 n-3) comienza igualmente con la isomerización del enlace *cis12* a *trans11*, posteriormente se hidrogenan los enlaces *cis9* y *cis15* dando lugar a VA para formar el ácido esteárico (C18:0) (Bauman et al., 1999; Duckett et al., 2002; Qiu et al., 2004; Lee et al., 2006).

Figura 4. Principales rutas de biohidrogenación del ácido linoleico en el rumen (Shingfield y Wallace, 2014; Gallardo, 2013).

El metabolismo ruminal de otros ácidos grasos omega-3 menos frecuentes en dietas de rumiantes, tales como el ácido eicosapentaenoico (C20:5

n-3, EPA) y ácido docohexaenoico (C22:6 n-3, DHA), es menos conocido. En estos procesos (lipólisis y biohidrogenación) participan un amplio número de bacterias. En la lipólisis ruminal, *Anaerovibrio lipolyticus* y *Butyrivibrio spp.* han sido consideradas como las más activas (Lourenço et al., 2010), siendo la primera más abundante en los animales que reciben una dieta con altas proporciones de concentrado, como es el caso de los corderos de cebo (Prive et al., 2013). En dietas con altas proporciones de forraje dominan las cepas de *Butyrivibrio*, debido a su capacidad de romper las moléculas lipídicas presentes en los forrajes (Hazlewood et al., 1983). *Butyrivibrio* también participa en el proceso de biohidrogenación, siendo las especies más representativas *Butyrivibrio fibrisolvens* y *Butyrivibrio proteoclasticus* (Harfoot y Hazlewood, 1997; Wallace et al., 2007).

Figura 5. Principales rutas de biohidrogenación del ácido linoléico (Shingfield y Wallace, 2014; Gallardo, 2013).

Las rutas principales de biohidrogenación de los ácidos linoleico y linolénico (representadas en las figuras 4 y 5 por líneas continuas) son las más estudiadas; sin embargo, estudios recientes *in vivo* e *in vitro* sugieren rutas alternativas de biohidrogenación con la formación de metabolitos intermediarios específicos, lo que da lugar a un flujo al duodeno de distintos ácidos grasos insaturados y metabolitos intermedios (Jenkins, 1993; Bauman et al., 1999; Shingfield et al., 2010; Shingfield et al., 2013).

Estas rutas alternativas se incrementan con raciones con bajo contenido de fibra, como es el caso de los piensos y raciones empleados en sistemas

intensivos, o con un tamaño de partícula del forraje excesivamente pequeño. Este tipo de raciones reducen el pH ruminal y afectan negativamente a las bacterias celulolíticas (Colman et al., 2013), principales responsables de la biohidrogenación. Entre estos metabolitos intermediarios cabe destacar los ácidos grasos *trans* como *trans*10-*cis*12 C18:2 y el *trans*10 C:18:1, asociados al síndrome de baja grasa (Shingfield et al., 2010).

Otros factores que también repercuten negativamente en la eficacia de la biohidrogenación ruminal son una elevada concentración de ácido linoleico o linolénico (Noble et al., 1974; Qiu et al., 2004; Harvatine y Allen, 2006) y la presencia en el medio de ácidos grasos poliinsaturados de más de 20 carbonos (Kitessa et al., 2001; Loor et al., 2005a; Loor et al., 2005b; Lee et al., 2006). Se ha podido comprobar que estos ácidos grasos de cadena larga, al igual que el ácido linoleico, contribuyen a la acumulación de ácido vaccénico a nivel ruminal debido a la inhibición que producen en la reducción de *trans*11 C18:1 a C18:0. Por este motivo, la incorporación de ácidos grasos de cadena larga en las raciones se ha propuesto como estrategia para aumentar, además de los ácidos grasos omega-3 (PUFA n-3), los niveles de ácido ruménico (Ponnampalam et al., 2001; Lock y Bauman, 2004).

La composición de los ácidos grasos del producto final (bien carne o leche) puede ser modificada por una manipulación en la fermentación ruminal o una protección de los ácidos grasos insaturados aportados con la dieta de la biohidrogenación ruminal (Harfoot y Hazlewood, 1997).

4.3.2. Digestión postruminal

Los lípidos que pasan al intestino delgado de los rumiantes son predominantemente ácidos grasos libres (85-90 %) y mayoritariamente saturados (80-90 %), representando el ácido esteárico (C18:0) dos tercios del total y el ácido palmítico el tercio restante (Drackley, 2007). También pasa la pequeña fracción de ácidos grasos insaturados que escapa a la biohidrogenación (10-15 %).

Todos ellos llegan al duodeno, donde las sales biliares actúan como detergente para emulsionarlos y facilitar la formación de micelas (Palmquist et al., 1993; Givens y Gibbs, 2006). En el duodeno se empiezan a absorber, pero debido al bajo pH la absorción en este tramo es mínima; el principal sitio de absorción de las grasas es el tramo medio y final del yeyuno (Martínez Marín et al., 2010). En el primer tercio se absorben exclusivamente los ácidos grasos libres que llegan al duodeno con la digesta, mientras que los ácidos grasos procedentes de la digestión enzimática de las grasas neutras y los fosfolípidos son absorbidos en los dos tercios finales. Los ácidos grasos absorbidos que

tienen menos de 12 carbonos son vertidos directamente a la vena porta y transportados al hígado unidos a la albúmina sérica; el resto son esterificados e incorporados a lipoproteínas de muy baja densidad y quilomicrones que se transportan por vía linfática hasta el torrente sanguíneo para su distribución a los tejidos (Hocquette y Bauchart, 1999).

4.3.3. Metabolismo de los lípidos a nivel tisular

La grasa procedente de los rumiantes tiene más de 400 ácidos grasos distintos, algunos de los cuales poseen actividad biológica reconocida.

El principal ácido graso disponible para su absorción intestinal en los rumiantes es el ácido esteárico; sin embargo, el ácido oleico es predominante en la musculatura de los rumiantes, suponiendo en torno al 40% del total de ácidos grasos (Bas y Morand-Fehr, 2000; Bas y Sauvant, 2001). Esto es debido a que una gran parte del ácido esteárico absorbido es deshidrogenado previamente a su deposición tisular por la enzima $\Delta 9$ -desaturasa (Bauman et al., 1999).

El ácido ruménico absorbido en el intestino se deposita como tal en los tejidos, mientras que el ácido vaccénico es parcialmente convertido en ácido ruménico por la enzima $\Delta 9$ -desaturasa para su deposición (Bauman et al., 1999). El ácido ruménico representa, en términos generales, más del 85 % del CLA presente en la grasa muscular (Chin et al., 1992; Morán et al., 2013; Bravo-Lamas et al., 2016) y se deposita principalmente en los triglicéridos, por lo que se asocia positivamente con el grado de engrasamiento (Raes et al., 2003).

La actividad de la enzima $\Delta 9$ -desaturasa es inhibida por la presencia del isómero *trans*-10-*cis*-12 C18:2 (Baumgard et al., 2001). La producción elevada de este isómero en el rumen requiere la presencia de ácidos grasos insaturados y un ambiente alterado que modifique la ruta de la biohidrogenación, provocado normalmente por una bajada acusada de pH (Bauman y Griinari, 2001). Los ácidos EPA y el DHA absorbidos en el intestino son incorporados, preferentemente, en los fosfolípidos musculares (Wood et al., 1999), con concentraciones normales de 2,1-2,8 % y 0,4-0,6 % en terneros (Scollan et al., 2001) y 2,4-2,6 y 0,6-1,2 % de la grasa intramuscular en corderos (Cooper et al., 2004), siendo prácticamente indetectables en los triglicéridos (Raes et al., 2003). El contenido de fosfolípidos es relativamente constante e independiente del engrasamiento (Bas y Sauvant, 2001).

4.4. Efecto sobre la fermentación ruminal

Los resultados obtenidos en diferentes situaciones experimentales muestran que las principales características de las grasas que afectan

negativamente a la microbiota ruminal son el grado de insaturación y la presencia de grupos carboxilos libres (Jenkins, 1993; Doreau y Chilliard, 1997).

Se ha observado que el efecto negativo sobre la digestibilidad es menor en las dietas que contienen calcio soluble, normalmente asociado al forraje, ya que bloquea el grupo carboxilo de los ácidos grasos libres, formando sales cálcicas, siendo de este modo menos tóxico para la microbiota (Palmquist, 1991).

Respecto a la producción de AGV, con la inclusión de grasas no protegidas en la dieta de rumiantes se han observado resultados discordantes. Algunos trabajos no han encontrado diferencias significativas ni en las concentraciones, ni en las proporciones molares de los AGV en el rumen, a pesar de existir diferencias en la digestibilidad de la grasa (Bock et al., 1991; Drackley y Elliott, 1993; Palmquist et al., 1993; Dohme et al., 1999). Esto podría ser debido al aporte de glicerol, el cual se transforma en AGV y compensaría esta reducción. Sin embargo, algunos estudios han observado un descenso del total de AGV, al aumentar el grado de insaturación de las fuentes de grasa (Pantoja et al., 1994; Jenkins, 1995; Patra y Yu, 2013; Zhao et al., 2016).

En cuanto a la proporción de los diferentes AGV, algunos estudios han observado un incremento en la proporción de ácido propiónico (Shingfield et al., 2008; Santra et al., 2012) a expensas de la disminución de ácido acético, posiblemente como consecuencia de la inhibición de las bacterias Gram positivas (productoras de acético) en relación a las Gram negativas (productoras de propiónico) (Spanghero et al., 2008).

Otro efecto ampliamente estudiado de los aceites vegetales es la inhibición de la producción de metano (Czerkawski et al., 1975; Machmuller et al., 1998; Machmüller et al., 2000), consecuencia de la reducción de la materia orgánica fermentable, la disminución de la fermentación de la fibra asociada a un descenso en su digestibilidad y un efecto inhibitorio directo sobre las bacterias metanogénicas y de los protozoos (Czerkawski et al., 1975; Machmuller et al., 1998; Machmüller et al., 2000; Kumar et al., 2014). Se ha estimado que la producción de metano asociada a los protozoos puede suponer entre un 9 y un 37 % del metano producido en el rumen (Machmüller et al., 2000; Hook et al., 2010), por esa razón la inhibición de estos organismos puede una disminuir la producción de metano entérico.

El efecto de los suplementos lipídicos sobre el metabolismo del nitrógeno parece ser mínimo. La incorporación de lípidos a la dieta, generalmente, provoca, en un descenso o, de forma más frecuente, no se observan variaciones en la concentración de amoniaco en el rumen (Montgomery et al., 2008; Doreau et al., 2009). Cabe indicar que las poblaciones bacterianas asociadas a la reutilización

del nitrógeno son las Gram negativas, que no se ven muy afectadas por el uso de suplementos lipídicos.

En el caso de los protozoos se ha constatado un descenso en la población de éstos con el uso de lípidos en la dieta, lo que podría resultar en un aumento en la eficiencia de la síntesis de proteína microbiana (Ferkins et al., 2006).

Existe poca información con respecto a la utilización de oleínas sobre la fermentación ruminal en rumiantes. En este sentido Bock et al. (1991), en un ensayo realizado en terneros, no observaron diferencias en la producción de AGV entre el grupo control y el grupo que recibió la misma ración que el grupo control, pero a la que se incorporó un 3,5 % de oleína de soja. Tampoco encontraron diferencias en la proporciones de acético, propiónico, butírico, valérico e isovalérico.

4.5. Efecto sobre la digestibilidad

El efecto del aporte de fuentes de grasa no protegidas sobre la digestión de la fibra ha sido ampliamente estudiado, analizando el efecto del grado de insaturación (tipo de fuente), la forma de presentación (semillas oleaginosas, aceites o grasas protegidas), tipo de procesamiento de las semillas (enteras frente a extrusionadas), el nivel de inclusión en la dieta y la interacción entre ellas y otros factores, como la proporción del forraje en la ración (Flachowsky et al., 2006; Benchaar et al., 2014).

La inclusión de grasa no protegida en la dieta suele ir acompañada por una reducción en la digestibilidad de la FND y FAD (Doreau y Chilliard, 1997). Así por ejemplo, Manso et al. (2006), incluyendo en la dieta de corderos un 4% de aceite de palma, observaron una disminución del 16 % de la digestibilidad de la FND y Bhatt et al. (2011), añadiendo un 7,5 % de aceite de coco en la dieta de corderos de cebo, constataron un descenso del 7 y 13 % en la digestibilidad de la MS y de la FND, respectivamente.

En cuanto a la forma de presentación del suplemento lipídico, Moore et al. (1986) observaron que la inclusión de un 6,3 % de grasa aportada por de semilla de algodón, aceite de algodón o grasa animal, en dietas para terneros, con un 62 a 76 % de paja de trigo, redujo significativamente la digestibilidad de la FAD en relación con la dieta control (31, 29, 27 *vs* 36 %, respectivamente). De forma similar, Martin et al. (2008) advirtieron que la inclusión de semilla, cruda o extrusionada, o aceite de lino, en la proporción necesaria para lograr un aporte extra de un 5 % de grasa, disminuyó la digestibilidad de la FND, con valores

similares entre las tres fuentes de grasa (42, 38 y 42 *vs* 47 %, en la dieta control).

En algunos trabajos, con aportes de grasa no protegida en la dieta superiores al 4%, no se encontraron efectos negativos significativos sobre la digestibilidad de la FND (Salem et al., 1993; Pantoja et al., 1994; Zervás et al., 1998), independientemente del grado de insaturación (Hristov et al., 2005; Palmquist et al., 2005), la forma de presentación (Palmquist y Conrad, 1978), y la interacción del grado de insaturación con la forma de presentación (Petit et al., 1997).

El efecto del aporte de grasa parece también estar relacionado con el tipo de ración. En este sentido, Salem et al. (1993) observaron que la inclusión de un 7 % de aceite de colza causó una reducción de la digestibilidad de la FND mayor en relación con la dieta control cuando el forraje fue ensilado de maíz (47 *vs* 57 %) que cuando se utilizó heno de hierba (50 *vs* 55 %).

En cuanto a la digestibilidad de la proteína los resultados no son concluyentes. Así, algunos estudios con aceites vegetales no señalan diferencias significativas (Hristov et al., 2005; Manso et al., 2006; Awawdeh et al., 2009). Por el contrario, otros estudios ponen de manifiesto un efecto positivo. Así por ejemplo, Machmüller et al. (2000), incluyendo en la dieta de corderos de cebo diferentes fuentes de grasa, comprobaron que se produjo un aumento en la digestibilidad de la proteína, que podría estar relacionado con cambios en las poblaciones bacterianas (Lor et al., 2002; Kim et al., 2007; Beauchemin et al., 2009).

En el caso de las fuentes de grasa protegidas se ha demostrado que tienen poco (Grummer, 1988; Bayourthe et al., 1993; Cruywagen et al., 2003) o ningún efecto negativo sobre la digestibilidad de los distintos componentes de la ración (Alba et al., 1997; Ramana et al., 2003; Gagliostro y Schroeder, 2007; Arar y Harb, 2010).

En cuanto a las oleínas, existe poca información relativa a su uso en nutrición de rumiantes. Bock et al. (1991), en terneros en cebo, observaron que la inclusión de un 3,5 % de oleínas de soja no disminuyó la digestibilidad de la materia seca, ni del almidón; sin embargo, redujo la digestibilidad de los ácidos grasos. Cabe señalar que en este estudio el pH del rumen no descendió en los animales que recibieron la dieta con oleína, a pesar de su acidez. Pantoja et al. (1994) evidenciaron que la eficiencia de la síntesis de proteína bacteriana aumenta cuando la insaturación de la grasa disminuye, probablemente debido una reducción en el reciclaje del nitrógeno microbiano en el rumen.

En otro estudio realizado por Shain et al. (1993) en terneros, a los que se les aportó un suplemento constituido por una mezcla de subproductos de la industria del refinado del aceite de soja (cascarilla, lecitina y oleína), se encontró una disminución lineal de la digestión de la FND a medida que aumentó la incorporación de suplemento y, en consecuencia, de la grasa (3, 5 y 7 %).

4.6. Efectos sobre el rendimiento productivo

La bibliografía consultada pone de manifiesto resultados muy variables respecto al efecto de la incorporación de fuente lipídicas en la dieta sobre el rendimiento productivo, dependiendo el efecto, entre otros factores, del tipo de suplemento utilizado y del nivel de inclusión. Así por ejemplo, Beaulieu et al. (2002), administrando un 5 % de aceite de soja en la dieta de terneras, no encontraron cambios en la ganancia diaria de peso (GDP). Del mismo modo, Madrón et al. (2002) no observaron diferencias significativas entre terneros a los que se les administraron dietas con diferentes niveles de soja extrusionada (0; 12,7; 25,6 %), en el peso final, ni tampoco en la GDP. Por el contrario, otros autores señalan que la suplementación de grasa animal y mezcla de animal y vegetal en diferentes dosis (0, 4, 8 %) produce un aumento en el peso final al sacrificio y de la GDP en terneros en fase de cebo (Zinn, 1989).

Shain et al. (1993), en un ensayo realizado en terneros, no observaron ningún efecto sobre el índice de conversión, la materia seca ingerida, ni la GDP, al incluir en la ración porcentajes de grasa por encima del 5 % de un suplemento lipídico compuesto por lecitina de soja y oleínas de soja en la proporción 4:1. En otro estudio en terneros de cebo, en el que se incluyó en la dieta un 6 % de grasa de origen animal o de oleínas de algodón, se constató que los animales que recibieron el suplemento lipídico presentaron una menor ingestión de materia seca y un mejor índice de conversión que los terneros del grupo control (sin suplemento lipídico) (Zinn, 1992).

Manso et al. (2009), en corderos de cebo, no encontraron diferencias en la GDP al añadir un 4 % de aceite de girasol en la dieta. Estos resultados son similares a los obtenidos por Bessa et al. (2005) con un 4 % de aceite de soja y Bhatt et al. (2011) con distintas proporciones de aceite de coco (0, 2,5, 5 y 7,5 %). Lough et al. (1993) observaron un efecto positivo sobre la GDP y el índice de conversión al incluir un 10,5 % de aceite de palma. No obstante, en este estudio se utilizaron corderos de mayor peso y que recibieron dietas con alto contenido en forraje (55 %).

En algunos trabajos, sin embargo, se ha evidenciado una disminución en la GDP con la inclusión de aceites en la dieta. Así, por ejemplo, Santos-Silva et al. (2004) observaron un descenso en la GDP al incluir un 8% de aceite de soja en

la dieta de corderos de cebo, efecto que estuvo asociado a una reducción de la ingestión.

En el caso de las oleínas, Bock et al. (1991), utilizando un 3,5 % de oleína de soja en la dieta de terneros de cebo, observaron un aumento significativo en la GDP y una mejora en el índice de conversión. En cuanto a la utilización de oleínas comerciales sobre la respuesta en el crecimiento de corderos en cebo no se ha encontrado información en la literatura científica, a excepción de un trabajo realizado con borras de soja (también llamadas pastas sódicas). Éstas son un producto intermedio de la obtención de oleínas comerciales. En este estudio se incluyeron en la dieta de corderos de cebo en diferentes porcentajes (0, 2,9; 5,8; 8,6 y 11,5 %) y se observó un descenso lineal de la ingestión de todos los nutrientes, menos del extracto etéreo, del peso al sacrificio y de la ganancia diaria de peso. Sin embargo, dado el bajo coste de este subproducto, el beneficio obtenido por cordero no resultó afectado, por lo que los autores concluyeron que sería un sistema viable para cebar corderos (Carvalho et al., 2014).

4.7. Efecto sobre las características de la canal

La alimentación ejerce una gran influencia sobre el peso y el rendimiento de la canal. El efecto de la administración de suplementos lipídicos, sin embargo, es muy variable. Así por ejemplo, Gibb et al. (2004) observaron un incremento en el rendimiento de la canal en terneros de cebados durante 100 días al incluir un 9 % de semillas de girasol en la dieta.

Por el contrario, Griswold et al. (2003), constataron que tanto el rendimiento de la canal como su calidad descendían en los terneros alimentados con dietas que contenían un mayor porcentaje de aceite de soja (8 %) durante un periodo de 42 días. Igualmente, Engle et al. (2000) demostraron que, en animales a los que se les había añadido en su periodo final de cebo (84 días) un 4 % de aceite de soja en la dieta disminuía el peso de la canal caliente, el porcentaje de la grasa de los riñones, corazón y grasa pélvica, el rendimiento y la calidad de la canal. Beaulieu et al. (2002) también señalan una tendencia a un menor rendimiento de la canal en terneras al incluir un 5 % de aceite de soja en su periodo final de cebo (102 días), sin encontrar cambios en la calidad de la canal.

En estudios similares realizados en la especie ovina, varios autores no han observado diferencias en las características de la canal. Así por ejemplo, Manso et al. (2009) estudiaron el efecto de la inclusión en la dieta de corderos de cebo (hasta 25 kg) de distintos aceites vegetales (aceite de palma hidrogenado y aceite de girasol, al 4 %) sobre las características de la canal, no encontrando

diferencias en ninguno de los parámetros estudiados. De manera similar, Castro et al. (2005) con la inclusión de aceite de palma al 2,5 y al 4,1 % no observaron diferencias en los rendimientos de la canal en corderos sacrificados cuando alcanzaban 25 kg de PV.

El efecto de la administración de suplementos lipídicos, no obstante, depende del tipo de fuente lipídica, del nivel de inclusión y del tipo de dieta en la que se incluya. Así por ejemplo, Brandt y Anderson (1990) comprobaron que había una mayor deposición de grasa pélvico-renal y cardiaca incluyendo sebo animal en la dieta que cuando emplearon grasa de freiduría, posiblemente este resultado se deba al mayor contenido de ácidos grasos insaturados de esta última.

Lough et al. (1993), en corderos alimentados con altas proporciones de forraje (58 %) y cebados hasta los 45 kg de peso vivo, observaron un incremento en el depósito de grasa pélvico-renal en corderos que recibieron un suplemento de aceite de palma (10 %) en comparación con los que no lo recibieron. Además, estos corderos también presentaron un mayor recubrimiento de grasa en la canal. Este efecto parece ser menos evidente en animales sacrificados a menor peso, posiblemente debido a que el tejido adiposo es un componente de madurez tardía.

Scollan et al. (2001), en terneros alimentados con cuatro dietas diferentes según el tipo de grasa incorporada (jabón cálcico, aceite de lino, aceite de pescado y una mezcla de aceite de pescado y de lino), encontraron una mejor conformación de la canal en los animales alimentados con la dieta que contenía aceite de pescado en comparación con las que incorporaban jabón cálcico y de lino. Sin embargo, en el mismo trabajo no se observaron diferencias significativas en el estado de engrasamiento, por lo que estos autores señalan que, aunque este hecho es complicado de explicar, podría deberse al posible efecto positivo que tiene el aceite de pescado sobre el músculo. Otros autores, por el contrario, demostraron en terneros una peor conformación cuando se incorporó aceite de soja en la ración (Engle et al., 2000; Griswold et al., 2003), efecto que atribuyeron a una disminución en la ingestión.

En corderos de cebo, de manera general no se han observado diferencias en la conformación cuando se añaden suplementos lipídicos en la dieta. Así, Castro et al. (2005), evaluando el efecto de la adición a la dieta para corderos en cebo de aceite palma al 2,5 y 4,1 %, no encontraron diferencias significativas frente al grupo control en cuanto a su conformación, resultados similares a los que observaron Manso et al. (2009) en corderos de cebo sacrificados con 25 kg de peso vivo y alimentados sin un aporte lipídico extra (control) o con un 4 % de

inclusión de distintos aceites vegetales (aceite de palma hidrogenado o aceite de girasol).

4.8. Efecto sobre la calidad de la carne

a. Características físico-químicas y organolépticas

En general, no se han observado diferencias significativas en el pH de la canal de rumiantes cuando se administran suplementos lipídicos (aceites vegetales) (Manso et al., 2009; Pérez Espés, 2011). Sin embargo, algunos autores han señalado diferencias en el ritmo de descenso del pH en corderos asociadas con el estado de engrasamiento de la canal, explicando este hecho como un descenso más lento en las canales más engrasadas debido al aislamiento térmico que proporciona la cubierta de grasa subcutánea (Espejo et al., 1998). No obstante, Sañudo et al. (2000) evaluaron el pH de canales que presentaban distintos estados de engrasamiento y no encontraron diferencias.

La capacidad de retención de agua depende en gran medida del estado de engrasamiento de las canales, ya que como se ha dicho anteriormente, la grasa puede actuar como una capa protectora y evitar pérdidas de agua por evaporación, pudiendo ser mayores en carne más magra (Tichenor, 1970).

No obstante, en general, en corderos de cebo no se han observado diferencias en este parámetro con el uso de suplementos lipídicos. Así por ejemplo, Bessa et al. (2005) incluyeron un 10 % de aceite de soja en la dieta de corderos alimentados con pasto y con concentrado y no encontraron diferencias ni en el estado de engrasamiento de la canal, ni en la capacidad de retención de agua.

Russo et al. (1999) no observaron efecto sobre la capacidad de retención de agua al incluir un 5 % de aceite de maíz en la dieta de corderos. En este caso, no obstante, se observó un mayor contenido en grasa intramuscular en la carne de los corderos que recibieron el aceite. Sañudo et al. (2000) no evidenciaron diferencias en la capacidad de retención de agua al comparar estados de engrasamiento diferentes, con proporciones de grasa intramuscular que oscilaban entre 9,5 a 12,5 %. Sin embargo, en otro estudio donde las diferencias fueron mayores (10,2 – 28,5 %) sí que se constató una variación en este parámetro (Kemp et al., 1972).

El color es un atributo que depende de varios factores, entre ellos la concentración de mioglobina y su estado químico, así como la estructura de la superficie y de la proporción de grasa intramuscular (Renerre, 2000; Listrat et al., 2016). De manera general, el valor de la coordenada L* (luminosidad)

depende de varios factores como el pH, la capacidad de retención de agua, la humedad, la integridad de la estructura muscular, la cantidad de pigmentos y en menor medida del grado de oxidación de los hemopigmentos (Palombo y Wijngaards, 1990; Listrat et al., 2016).

Algunos autores han sugerido que la luminosidad puede estar relacionada con el contenido de grasa (Pérez-Álvarez et al., 1998), siendo un valor inversamente proporcional al contenido de la misma. Por el contrario, Manso et al. (2009) y Pérez Espés (2011) no observaron diferencias en la luminosidad de la carne al comparar dietas con diferentes suplementos lipídicos. Estos autores, no obstante, tampoco encontraron diferencias en el contenido de grasa intramuscular entre los distintos grupos experimentales.

Bessa et al. (2005) demostraron que corderos alimentados con una ración basal de alfalfa mostraban un mayor valor de b^* (índice de amarillo) que cuando se incluía un 10 % de aceite de soja, debido fundamentalmente al incremento de grasa que se observó en el músculo *longissimus thoracis*. Este efecto, sin embargo, no se advirtió, cuando se trató de corderos criados con concentrado, posiblemente porque varió en menor medida la concentración energética de las raciones y, por tanto, su deposición de grasa intramuscular.

El color evoluciona durante la maduración, en gran medida, como consecuencia de los procesos de oxidación. La oxidación se ve favorecida por la presencia de grasa insaturada (Min y Ahn, 2005; Howes et al., 2015). Por tanto, el aporte de suplementos lipídicos que puedan modificar el perfil de ácidos grasos pueden influir en la evolución del color, normalmente con un efecto negativo (Scollan et al., 2014). En este sentido, Pérez Espés (2011) observó una menor estabilidad en el índice de rojo (a^*) al añadir aceite de soja y oliva en la ración de terneros de cebo. En otro estudio, llevado a cabo por Poulson et al. (2004), en terneros a los que se añadió a la dieta isómeros sintéticos del CLA los resultados mostraron una menor estabilidad del índice de rojo (a^*) y del índice de amarillo (b^*).

Respecto a la ternera, se ha demostrado que los animales que consumen dietas con un elevado contenido energético producen carne más tierna, debido probablemente al mayor contenido de grasa infiltrada. De este modo, Nelson et al. (2004) observaron que la ternera de la carne aumentó cuando se incorporó un 3 y un 6 % de grasa de freiduría en la dieta de terneros.

No obstante, la inclusión de suplementos lipídicos no siempre produce diferencias en el contenido de grasa intramuscular. Bessa et al. (2005) no encontraron diferencias significativas en la fuerza de corte de carne de corderos alimentados con una dieta concentrada a la que añadieron aceite de soja frente

a la de animales que no recibieron este aceite. Cabe señalar, que tampoco observaron diferencias en el contenido de grasa intramuscular entre los dos grupos experimentales. De forma similar Mir et al. (2003) no obtuvieron diferencias en la terneza o palatabilidad de la carne de terneras que recibieron un suplemento de aceite de girasol. Gibb et al. (2004) tampoco encontraron diferencias en la dureza de la carne de terneros a los que se les administró una dieta con semilla de girasol rica en oleico y linoleico frente a los que no recibieron este suplemento.

Como se mencionó en el apartado 3.3., el flavor depende, entre otros factores, del contenido de grasa y del perfil de ácidos grasos. En consecuencia, la inclusión de suplementos lipídicos que modifiquen el contenido de grasa de la carne y su composición pueden causar diferencias en el flavor.

En este sentido, McNiven et al. (2004) observaron valores más intensos de flavor en carne de animales alimentados con dietas con alto contenido en ácidos grasos insaturados. Del mismo modo, Wood et al. (2004) señalaron que con una alimentación rica en ácidos grasos insaturados, principalmente ácido linolénico, se obtienen puntuaciones más altas relacionadas con la intensidad de flavor en la carne de rumiantes.

En un trabajo realizado por Vieira et al. (2012), con corderos lechales a cuyas madres se les suministraron diferentes aceites vegetales en la dieta (palma, oliva, soja y lino), se observó un cambio en la composición de los compuestos volátiles en la carne de corderos provenientes de las madres que recibieron un suplemento de aceite de soja, con un incremento en los principales hidrocarburos alifáticos (pentanal y hexanal). Estos compuestos provienen de la oxidación de los ácidos grasos, en concreto del C18:2 n-6, cuyo contenido fue mayor en la leche de las madres que recibieron la dieta que incluyó dicho aceite.

b. Calidad higiénico-sanitaria

Entendemos por calidad higiénica de la carne aquellas propiedades que aseguran su inocuidad, especialmente en lo que se refiere a contaminación microbiana, ya que la carne es un medio de cultivo excelente para muchos tipos de microorganismos.

Por otra parte, la salubridad tiene una acepción más amplia, extendiéndose a componentes químicos de la carne que pueden influir en la salud de los consumidores, tales como el contenido en colesterol o el grado de saturación de la grasa (Grundy y Vega, 1988; Krisetherton et al., 1988; Grundy y Denke, 1990).

El tipo de dieta que reciben los animales puede influir sobre la calidad microbiológica de la carne de diferentes formas. Por una parte, el tipo de alimentación puede provocar cambios en las poblaciones microbianas del aparato digestivo y, consecuentemente, podrían contaminar la carne de diferente modo. No hay que olvidar que el contenido digestivo es el factor que más afecta a la contaminación de la carne, junto a la piel de los animales (Daly et al., 1999; Dave y Ghaly, 2011). Por otra, la alimentación recibida por los animales influye en la composición de la carne y ésta a su vez puede influir en el crecimiento microbiano. En este sentido, una mayor proporción de ácidos grasos insaturados implica una mayor oxidación lipídica, lo que también se traduce en una reducción de la vida útil de la carne (Min y Ahn, 2005). En este caso podemos decir que los factores de oxidación y contaminación microbiana están interrelacionados puesto que la oxidación favorece rupturas que ayudan a los microorganismos a colonizar la carne y, a su vez, el deterioro microbiano también provoca una mayor exposición de las estructuras celulares a los prooxidantes y a las sustancias reactivas al oxígeno, por lo que incrementa la oxidación (Asghar et al., 1991; Shin et al., 2007; Morán, 2013; Scollan et al., 2014).

A través de la alimentación se pueden incorporar a la carne compuestos con propiedades antioxidantes y antimicrobianas, por los que se pueden modular los procesos de oxidación y de crecimiento microbiano. Así por ejemplo, Morán (2013) observó una menor decoloración de la carne de corderos cuando se les administraba ácido carnósico al 0,12 %. Nieto et al. (2010) encontraron una mayor actividad antioxidante y antimicrobiana en la carne de corderos a cuyas madres había recibido tomillo durante la gestación.

La alimentación que reciben los animales también es una herramienta para aumentar el contenido de compuestos con propiedades funcionales beneficiosas para los consumidores o que permiten atenuar el incremento de sustancias perjudiciales durante el almacenamiento de la carne. En este sentido, la incorporación de suplementos lipídicos en la dieta de los animales con un perfil poco saturado, normalmente de origen vegetal o de pescado, es una de las estrategias más utilizadas en los últimos años con el fin de producir una carne más saludable, incrementando el porcentaje de ácidos grasos insaturados y reduciendo, de este modo, el índice de aterogenicidad de la misma (Elmore et al., 2005; Wood et al., 2008).

Tabla 1. Efecto de la utilización de distintos tipos de aceites en la alimentación de corderos en cebo sobre los diferentes grupos de ácidos grasos de la grasa intramuscular.

Fuente lipídica y porcentaje de inclusión	Relación forraje concentrado	Ácido graso modificado	Efecto	Referencia
Semillas de lino (10,5 %)	100:0	n-3, EPA, DHA, total ácidos <i>trans</i>	Aumenta	Wachira et al. (2002)
		n-6	Disminuye	
Aceite de pescado (3,6 %)		n-3, EPA, DHA, total ácidos <i>trans</i>	Aumenta	
		n-6	Disminuye	
Aceite de soja (10 %)	10:90	CLA	Disminuye	Bessa et al. (2005)
	100:0		Aumenta	
Aceite de soja (8 %)	100:0	CLA, n-6/n-3	Aumenta	Santos-Silva et al. (2004)
		DHA, EPA, oleico	Disminuye	
Aceite de girasol (6 %)	100:0	CLA, n-6, n-6/n-3	Aumenta	Bessa et al. (2007)
Aceite de lino (6 %)		n-3		

Aceite de soja (3 %)	60:40	PUFA y CLA	Aumenta	Chen et al. (2008)
Aceite de girasol (4 %)	94:6	<i>Trans</i> C18:1	Aumenta	Manso et al. (2009)
		n-3, C16:0,	Disminuye	
Aceite de lino protegido (10 %)	30:70	SFA, n-6, n-3	Aumenta	Kitessa et al. (2009)
Aceite de soja y lino (2:1) (2,68 %)	33:67	PUFA	Aumenta	Radunz et al. (2009)
Mezcla de aceites vegetales (6 %)	75:25	PUFA, n-3, CLA	Aumenta	Jeronimo et al. (2010)
Palma (3%) a las madres	50:50	C16:0	Aumenta	Manso et al. (2011)
Oliva (3 %) a las madres		MUFA		
Soja (3 %) a las madres		CLA		
Lino (3 %) a las madres		CLA		
Aceite de pescado (3,5 %)	0:100	EPA y DHA	Aumenta	Annett et al. (2011)
	100:0	C18:2 n-6 y n-6	Disminuye	
Aceite de CLA concentrado (2 %)	concentrada sin especificar	CLA y <i>trans</i> 10-cis 12	Aumenta	du Toit et al. (2013)
Aceite de girasol (2 %)		CLA		

Mezcla de aceite de pescado y aceite de soja (0,75 y 3,2 % respectivamente)	10:90	Vaccénico, EPA, DHA y CLA	Aumenta	Ferreira et al. (2014)
Lino extruido a las madres (128 g/día) a las madres	50:50	N-3, PUFA, CLA	Aumenta	Gómez-Cortés et al. (2014)
Semillas de lino (8,5 %)	85:15	EPA, DHA, CLA, <i>trans</i> 10	Aumenta	Andrés et al. (2014)
Aceite de pescado (3,3 %)	90:10	SFA, PUFA, n-3	Aumenta	de la Fuente-Vázquez et al. (2014)
Aceite de pescado en jabón cálcico a las madres (3 %)	50:50	n-3, vaccénico y CLA	Aumenta	Gallardo et al. (2014)
Semillas de girasol	0:100	Linoleico, CLA, vaccénico	Aumenta	de Almeida et al. (2015)
Aceite de soja y lino (2:1) (4 y 8 %)	50:50	n-6 y n-3, <i>trans</i> -10 y <i>trans</i> -11	Aumenta	Francisco et al. (2015)
Aceite de lino (3 %)a las madres	45:55	<i>Trans</i> -10, <i>trans</i> -11, CLA, MUFA, PUFA, n-3, n-6	Aumenta	Gallardo et al. (2015)
Semillas del lino (5 y 10 %)	concentrado más aporte de paja (sin dato de ingestión)	n-6/n-3	Disminuye	Urrutia et al. (2015)
Lino extruido a las madres (15 %)	Forrajera sin especificar	n-3	Aumenta	Nudda et al. (2015)

No obstante, algunos suplementos lipídicos también pueden aumentar el contenido de determinados ácidos grasos *trans* (Bessa et al., 2005), siendo algunos de ellos, como el *trans10* C18:1, perjudiciales para la salud (Wang et al., 2012).

Desde el punto de vista de la salud de los consumidores, es también muy importante la relación entre los ácidos omega 6 y omega 3 (n-6/n-3) de la carne. Aumentar los ácidos grasos omega 3 (relacionados con el sistema inmune y con características antiinflamatorias) y disminuir los omega 6 (con propiedades proinflamatorias y asociadas con el desarrollo de múltiples enfermedades) se ha demostrado que reduce la incidencia de enfermedades cardiovasculares hasta en un 70 % (Simopoulos, 2008). Por ello, la OMS y la FAO (FAO, 2010) recomiendan una relación de 4:1 y 2:1, respectivamente.

La carne de rumiantes tiene un ratio más favorable en este parámetro que la de otras especies (Wood et al., 2004) y puede variar de 1 a 10 en función del tipo de alimentación (Enser et al., 1998). La carne de rumiantes también contiene CLA que posee diferentes propiedades beneficiosas (anticarcinogénicas, antidiabéticas, antiadipogénicas, inmunomoduladoras y favorecedoras del crecimiento de los huesos) (Pariza et al., 2001; Wahle et al., 2004; Park y Pariza, 2007; Turpeinen et al., 2008). En la tabla 1 se recoge el efecto de distintos tipos de suplementos lipídicos sobre el perfil de ácidos grasos en la carne de corderos de cebo.

En cuanto al efecto de las oleínas en el perfil de ácidos grasos de la carne de rumiantes, únicamente hemos encontrado un estudio realizado por Bock et al. (1991) en terneros alimentados con una dieta basal concentrada y con un suplemento de oleínas de soja del 3,5 %, donde observaron que aumentaba la concentración de ácido esteárico y disminuía la de C16:1 en la grasa intermuscular, mientras que no observaron diferencias ni en el perfil de la grasa intramuscular del *longissimus dorsi*, ni a nivel sanguíneo. En cualquier caso, el efecto esperado dependerá del tipo de oleína que determina su perfil de ácidos grasos (FEDNA, 2016).

Por otra parte, la incorporación de antioxidantes en la dieta puede mejorar la estabilidad oxidativa de la carne y reducir la formación de compuestos perjudiciales para la salud durante el cocinado. Así, por ejemplo, Morán et al. (2012) observaron una reducción de la formación de oxisteroles durante el cocinado de la carne de cordero al incluir extracto de romero en la dieta que recibieron los animales en el periodo de cebo.

Referencias

- Al-Saiady, M.Y., Abouheif, M.A., Makkawi, A.A., Ibrahim, H.A., Al-Owaimer, A.N., 2010. Impact of particle length of alfalfa hay in the diet of growing lambs on performance, digestion and carcass characteristics. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 23, 475-482.
- Alba, L.M., De Souza Cavalcanti, S., Hernandez, M.P., Marin, A.M., Marin, G.F., 1997. Calcium soaps of olive fatty acids in the diets of Manchega dairy ewes: effects on digestibility and production. *Journal of Dairy Science* 80, 3316-3324.
- Allen, M.S., 1997. Relationship between fermentation acid production in the rumen and the requirement for physically effective fibre. *Journal of Dairy Science* 80, 1447-1462.
- Allen, M.S., 2000. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 83, 1598-1624.
- Allingham, P.G., Harper, G.S., Hunter, R.A., 1998. Effect of growth path on the tenderness of the *semitendinosus* muscle of Brahman-cross steers. *Meat Science* 48, 65-73.
- Alves, S.P., Santos-Silva, J., Cabrita, A.R.J., Fonseca, A.J.M., Bessa, R.J.B., 2013. Detailed dimethylacetal and fatty acid composition of rumen content from lambs fed lucerne or concentrate supplemented with soybean oil. *Plos One* 8.
- Andrés, S., Moran, L., Aldai, N., Tejido, M.L., Prieto, N., Bodas, R., Giraldez, F.J., 2014. Effects of linseed and quercetin added to the diet of fattening lambs on the fatty acid profile and lipid antioxidant status of meat samples. *Meat Science* 97, 156-163.
- Andrés, S., Tejido, M.L., Bodas, R., Morán, L., Prieto, N., Blanco, C., Giráldez, F.J., 2012. Quercetin dietary supplementation of fattening lambs at 0.2% rate reduces discolouration and microbial growth in meat during refrigerated storage. *Meat Science* 93(2), 207-212.
- Annett, R.W., Carson, A.F., Fearon, A.M., Kilpatrick, D.J., 2011. Effects of supplementation with fish oil and barium selenate on performance, carcass characteristics and muscle fatty acid composition of late season lamb finished on grass-based or concentrate-based diets. *Animal* 5, 1923-1937.
- Arar, H.R., Harb, M. 2010. The effect of adding protected fat in the ration of lactating awassi ewes and fattening lambs. *Jordan Journal of Agricultural Sciences* 2-1.
- Asghar, A., Gray, J.I., Booren, A.M., Gomaa, E.A., Abouzied, M.M., Miller, E.R., Buckley, D.J., 1991. Effects of supranutritional dietary vitamin E levels on subcellular deposition of α -tocopherol in the muscle and on pork quality. *Journal Of The Science Of Food And Agriculture* 57, 31-41.
- Ashes, J.R., Gulati, S.K., Scott, T.W., 1997. Potential to alter the content and composition of milk fat through nutrition. *Journal Of Dairy Science* 80, 2204-2212.
- Askar, A.R., Guada, J.A., Gonzalez, J.M., de Vega, A., Castrillo, C., 2006. Diet selection by growing lambs offered whole barley and a protein supplement, free choice: Effects on performance and digestion. *Livestock Science* 101, 81-93.
- Askar, A.R.T., 2004. Alimentación de corderos con cebada en grano y suplemento proteico a libre elección: Digestión ruminal, síntesis microbiana y rendimientos productivos. Tesis Doctoral.
- Aurousseau, B., Bauchart, D., Calichon, E., Micol, D., Priolo, A., 2004. Effect of grass or concentrate feeding systems and rate of growth on triglyceride and phospholipid and their fatty acids in the *M-longissimus thoracis* of lambs. *Meat Science* 66, 531-541.

- Aurousseau, B., Bauchart, D., Faure, X., Galot, A.L., Prache, S., Micol, D., Priolo, A., 2007. Indoor fattening of lambs raised on pasture. Part 1: Influence of stall finishing duration on lipid classes and fatty acids in the *longissimus thoracis* muscle. *Meat Science* 76, 241-252.
- Awawdeh, M.S., Obeidat, B.S., Abdullah, A.Y., Hananeh, W.M., 2009. Effects of yellow grease or soybean oil on performance, nutrient digestibility and carcass characteristics of finishing Awassi lambs. *Animal Feed Science and Technology* 153, 216-227.
- Bach, A., 2002. Trastornos ruminales en el vacuno lechero: un enfoque práctico. *Curso de especialización FEDNA* 18, 119-139.
- Bartocci, S., Amici, A., Verna, M., Terramoccia, S., Martillotti, F., 1997. Solid and fluid passage rate in buffalo, cattle and sheep fed diets with different forage to concentrate ratios. *Livestock Production Science* 52, 201-208.
- Bartov, I., Lipstein, B., Bornstein, S., 1974. Differential effects of dietary acidulated soybean oil soapstock, cottonseed oil soapstock and tallow on broiler carcass fat characteristics. *Poultry Science* 53, 115-124.
- Bas, P., Morand-Fehr, P., 2000. Effect of nutritional factors on fatty acid composition of lamb fat deposits. *Livestock Production Science* 64, 61-79.
- Bas, P., Sauvant, D., 2001. Variations de la composition des dépôts lipidiques chez les bovins. *Productions Animales* 14, 311-322.
- Bauman, D.E., Baumgard, L.H., Corl, B.A., Griinari, J.M., 1999. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants, *Journal of Animal Science* 77, 1-15.
- Bauman, D.E., Griinari, J.M., 2001. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. *Livestock Production Science* 70, 15-29.
- Bauman, D.E., Perfield, J.W., de Veth, J., Lock, A.L., 2003. New perspectives on lipid digestion and metabolism in ruminants. *Cornell Nutrition Conference Proceedings* 65, 175-189.
- Baumgard, L.H., Sangster, J.K., Bauman, D.E., 2001. Milk fat synthesis in dairy cows is progressively reduced by increasing supplemental amounts of trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid (CLA). *The Journal of Nutrition* 131, 1764-1769.
- Bayourthe, C., Moncoulon, R., Vernay, M., 1993. Effect of protein-protected fat on ruminal and total nutrient digestibility of sheep diets. *Journal of Animal Science* 71, 1026-1031.
- Beam, T.M., Jenkins, T.C., Moate, P.J., Kohn, R.A., Palmquist, D.L., 2000. Effects of amount and source of fat on the rates of lipolysis and biohydrogenation of fatty acids in ruminal contents. *Journal of Dairy Science* 83, 2564-2573.
- Beauchemin, K.A., Eriksen, L., Norgaard, P., Rode, L.M., 2008. Short communication: Salivary secretion during meals in lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 91, 2077-2081.
- Beauchemin, K.A., McGinn, S.M., Benchaar, C., Holtshausen, L., 2009. Crushed sunflower, flax, or canola seeds in lactating dairy cow diets: effects on methane production, rumen fermentation, and milk production. *Journal of Dairy Science* 92, 2118-2127.
- Beaulieu, A.D., Drackley, J.K., Merchen, N.R., 2002. Concentrations of conjugated linoleic acid (*cis*-9, *trans*-11-octadecadienoic acid) are not increased in tissue lipids of cattle fed a high-concentrate diet supplemented with soybean oil. *Journal of Animal Science* 80, 847-861.
- Beever, D.E., Dasilva, J.C., Armstrong, D.G., 1970. Effect of processing maize on its digestion in sheep. *Proceedings of the Nutrition Society* 29, A43.
- Benavides, J., Martínez-Valladares, M., Tejido, M.L., Giraldez, F.J., Bodas, R., Prieto, N., Pérez, V., Andrés, S., 2013. Quercetin and flaxseed included in the diet of

- fattening lambs: Effects on immune response, stress during road transport and ruminal acidosis. *Livestock Science* 158, 84-90.
- Benchaar, C., McAllister, T.A., Petit, H.V., Chouinard, P.Y., 2014. Whole flax seed and flax oil supplementation of dairy cows fed high-forage or high-concentrate diets: Effects on digestion, ruminal fermentation characteristics, protozoal populations and milk fatty acid profile. *Animal Feed Science and Technology* 198, 117-129.
- Bender, D.A., 2009. A dictionary of food and nutrition. Oxford University Press.
- Bessa, R.J.B., Alves, S.P., Jeronimo, E., Alfaia, C.M., Prates, J.A.M., Santos-Silva, J., 2007. Effect of lipid supplements on ruminal biohydrogenation intermediates and muscle fatty acids in lambs. *European Journal of Lipid Science and Technology* 109, 868-878.
- Bessa, R.J.B., Portugal, P.V., Mendes, I.A., Santos-Silva, J., 2005. Effect of lipid supplementation on growth performance, carcass and meat quality and fatty acid composition of intramuscular lipids of lambs fed dehydrated lucerne or concentrate. *Livestock Production Science* 96, 185-194.
- Bhatt, R.S., Soren, N.M., Tripathi, M.K., Karim, S.A., 2011. Effects of different levels of coconut oil supplementation on performance, digestibility, rumen fermentation and carcass traits of Malpura lambs. *Animal Feed Science and Technology* 164, 29-37.
- Bines, J.A., Davey, A.W.F., 1970. Voluntary intake, digestion, rate of passage, amount of material in the alimentary tract and behaviour in cows receiving complete diets containing straw and concentrates in different proportions. *British Journal of Nutrition* 24, 1013-1018.
- Blanco, C., Bodas, R., Andrés, S., Casado, D., Cayetano, J.A., Tejido, M.L., Giráldez, F.J., 2014. Efecto de la inclusión de flores de lúpulo en la dieta de corderos en cebo sobre la ingestión, el rendimiento y la evolución del color de la carne. Congreso de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprirotecnia, Ourense.
- Bock, B.J., Harmon, D.L., Brandt, R.T., Schneider, J.E., 1991. Fat source and calcium level effects on finishing steer performance, digestion, and metabolism. *Journal of Animal Science* 69, 2211-2224.
- Bodas, R., 2004. El bicarbonato sódico en la alimentación de corderos en la etapa de crecimiento-cebo y de ovejas en lactación. Tesis Doctoral. Universidad de León.
- Bodas, R., Rodríguez, A.B., López, S., Fernández, B., Mantecón, A.R., Giráldez, F.J., 2007. Effects of the inclusion of sodium bicarbonate and sugar beet pulp in the concentrate for fattening lambs on acid-base status and meat characteristics. *Meat Science* 77, 696-702.
- Bonfante, E., Palmonari, A., Mammi, L., Canestrari, G., Fustini, M., Formigoni, A., 2016. Effects of a completely pelleted diet on growth performance in Holstein heifers. *Journal of Dairy Science* 99, 9724-9731.
- Bowling, R.A., Smith, G.C., Carpenter, Z.L., Dutson, T.R., Oliver, W.M., 1977. Comparison of forage finished and grain finished beef carcasses. *Journal of Animal Science* 45(2), 209-215.
- Bramley, E., Lean, I.J., Fulkerson, W.J., Stevenson, M.A., Rabiee, A.R., Costa, N.D., 2008. The definition of acidosis in dairy herds predominantly fed on pasture and concentrates. *Journal of Dairy Science* 91, 308-321.
- Brandt, R.T., Anderson, S.J., 1990. Supplemental fat source affects feedlot performance and carcass traits of finishing yearling steers and estimated diet net energy value. *Journal of Animal Science* 68, 2208-2216.
- Bravo-Lamas, L., Barron, L.J.R., Kramer, J.K.G., Etaio, I., Aldai, N., 2016. Characterization of the fatty acid composition of lamb commercially available in

- northern Spain: Emphasis on the trans-18:1 and CLA content and profile. *Meat Science* 117, 108-116.
- Brossard, L., Martin, C., Michalet-Doreau, B., 2003. Ruminant fermentative parameters and blood acido-basic balance changes during the onset and recovery of induced latent acidosis in sheep. *Animal Research* 52, 513-530.
- Bruce, K.J., Karr-Lilienthal, L.K., Zinn, K.E., Pope, L.L., Mahan, D.C., Fastinger, N.D., Watts, M., Utterback, P.L., Parsons, C.M., Castaneda, E.O., 2006. Evaluation of the inclusion of soybean oil and soybean processing by-products to soybean meal on nutrient composition and digestibility in swine and poultry. *Journal of Animal Science* 84, 1403-1414.
- Calsamiglia, S., Ferret, A., 2002. Fisiología ruminal relacionada con la patología digestiva: acidosis y meteorismo. XVIII Curso de Especialización FEDNA. Madrid, España.
- Carrasco, S., Ripoll, G., Sanz, A., Álvarez-Rodríguez, J., Panea, B., Revilla, R., Joy, M., 2009. Effect of feeding system on growth and carcass characteristics of Churra Tensina light lambs. *Livestock Science* 121, 56-63.
- Carvalho, S., Pires, C.C., Macari, S., Lopes, J.F., Moro, A.B., Venturini, R.S., Lins, A., Teixeira, R.S., 2014. Características produtivas de cordeiros terminados em confinamento com dietas contendo diferentes teores de borra de soja. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 66, 259-267.
- Castrillo, C., Guada, J.A., Gasa, J., 1989. Efecto del procesado de la cebada y la inclusión de paja en la dieta sobre su utilización por los corderos en cebo. *Investigación Agraria: Producción y Sanidad Animal* 4, 111-119.
- Castro, T., Manso, T., Mantecon, A.R., Guirao, J., Jimeno, V., 2005. Fatty acid composition and carcass characteristics of growing lambs fed diets containing palm oil supplements. *Meat Science* 69, 757-764.
- Cate, H.A., Lewis, J.M., Webb, R.J., Mansfield, M.E., Garrigus, U.S., 1955. The effect of pelleting rations of varied quality on feed utilization by lambs. *Journal of Animal Science* 14, 137-142.
- Cañeque, V., Velasco, S., Diaz, M.T., De Huidobro, F.R., Perez, C., Lauzurica, S., 2003. Use of whole barley with a protein supplement to fatten lambs under different management systems and its effect on meat and carcass quality. *Animal Research* 52, 271-286.
- Chen, X.J., Mao, H.L., Lin, J., Liu, J.X., 2008. Effects of supplemental soybean oil and vitamin E on carcass quality and fatty acid profiles of meat in Huzhou lamb. *Acta Agriculturae Scandinavica Section a-Animal Science* 58, 129-135.
- Chilliard, Y., 1993. Dietary fat and adipose tissue metabolism in ruminants, pigs, and rodents: a review. *Journal of Dairy Science* 76, 3897-3931.
- Chin, S.F., Liu, W., Storkson, J.M., Ha, Y.L., Pariza, M.W., 1992. Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. *Journal of Food Composition and Analysis* 5, 185-197.
- Cilliers, J.W., Cilliers, H.J., Nel, W.R.L., 1998. Maize silage, grain sorghum silage and forage sorghum silage in diets with different proportions of concentrate for the finishing of weaner lambs. *Animal Science* 66, 189-196.
- Ciria, 2009. Alimentación del cordero: lactancia y cebo. *Ovinotecnia: producción y economía en la especie ovina: homenaje al profesor Isidro Sierra Alfranca*. Prensas Universitarias de Zaragoza.
- Ciria, J.C., Martín, B.A., Romera, J.A.M., Ruiz, J.L.C., 2009. Alimentación del cordero: lactancia y cebo. *Prensas Universitarias de Zaragoza*.
- Colman, E., Khafipour, E., Vlaeminck, B., De Baets, B., Plaizier, J.C., Fievez, V., 2013. Grain-based versus alfalfa-based subacute ruminal acidosis induction experiments:

- Similarities and differences between changes in milk fatty acids. *Journal of Dairy Science* 96, 4100-4111.
- Colucci, P.E., Macleod, G.K., Grovum, W.L., McMillan, I., Barney, D.J., 1990. Digesta kinetics in sheep and cattle fed diets with different forage to concentrate ratios at high and low intakes. *Journal of Dairy Science* 73, 2143-2156.
- Cooper, S.L., Sinclair, L.A., Wilkinson, R.G., Hallett, K.G., Enser, M., Wood, J.D., 2004. Manipulation of the n-3 polyunsaturated fatty acid content of muscle and adipose tissue in lambs. *Journal of Animal Science* 82, 1461-1470.
- Cozzi, G., Burato, G.M., Berzaghi, P., Andrighetto, I., 2002. Evaluation of pellets from different industrial processing of dehydrated lucerne in dairy cattle feeding. *Animal Feed Science and Technology* 99, 13-24.
- Cruywagen, C.W., Lategan, E.L.I., Hoffman, L.C., 2003. The effect of rumen inert fat supplementation and protein degradability in starter and finishing diets on veal calf performance. *South African Journal of Animal Science* 33, 257-265.
- Cruz, J., 2013. El sector ovino y caprino busca soluciones a la caída del consumo y la subida de los costes de producción. *Eurocarne: La revista internacional del sector cárnico* 220, 31-40.
- Czerkawski, J.W., Christie, W.W., Breckenridge, G., Hunter, M.L., 1975. Changes in the rumen metabolism of sheep given increasing amounts of linseed oil in their diet. *British Journal of Nutrition* 34, 25-44.
- Daly, C.C., Young, O.A., Graafhuis, A.E., Moorhead, S.M., Easton, H.S., 1999. Some effects of diet on beef meat and fat attributes. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 42, 279-287.
- Dave, D., Ghaly, A.E., 2011. Meat spoilage mechanisms and preservation techniques: a critical review. *American Journal of Agricultural and Biological Science* 6(4), 486-510.
- Daza Andrada, A., 1997. Reproducción y sistemas de explotación del ganado ovino. Mundi Prensa, Madrid.
- De Almeida, F.A., Sobrinho, A.G.D., Manzi, G.M., Lima, N.L.L., Endo, V., Zeola, N., 2015. Dietary supplementation with sunflower seeds and vitamin E for fattening lambs improves the fatty acid profile and oxidative stability of the Longissimus lumborum. *Animal Production Science* 55, 1030-1036.
- De la Fuente-Vázquez, J., Díaz-Díaz-Chiron, M.T., Pérez-Marcos, C., Cañeque-Martínez, V., Sánchez-González, C.I., Álvarez-Acero, I., Fernández-Bermejo, C., Rivas-Canedo, A., Lauzurica-Gómez, S., 2014. Linseed, microalgae or fish oil dietary supplementation affects performance and quality characteristics of light lambs. *Spanish Journal of Agricultural Research* 12, 436-447.
- Devant, M., Ferret, A., Gasa, J., Calsamiglia, S., Casals, R., 2000. Effects of protein concentration and degradability on performance, ruminal fermentation, and nitrogen metabolism in rapidly growing heifers fed high-concentrate diets from 100 to 230 kg body weight. *Journal of Animal Science* 78, 1667-1676.
- Díaz, M.T., Álvarez, I., De la Fuente, J., Sañudo, C., Campo, M.M., Oliver, M.A., Font i Furnols, M., Montossi, F., San Julián, R., Nute, G.R., 2005. Fatty acid composition of meat from typical lamb production systems of Spain, United Kingdom, Germany and Uruguay. *Meat Science* 71, 256-263.
- Díaz, M.T., Velasco, S., Cañeque, V., Lauzurica, S., Ruiz de Huidobro, F., Pérez, C., González, J., Manzanares, C., 2002. Use of concentrate or pasture for fattening lambs and its effect on carcass and meat quality. *Small Ruminant Research* 43, 257-268.

- Dohme, F., Machmüller, A., Estermann, B.L., Pfister, P., Wasserfallen, A., Kreuzer, M., 1999. The role of the rumen ciliate protozoa for methane suppression caused by coconut oil. *Letters in Applied Microbiology* 29, 187-192.
- Doreau, M., Chilliard, Y., 1997. Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. *British Journal of Nutrition* 78, S15-S35.
- Doreau, M., Ferlay, A., 1994. Digestion and utilisation of fatty acids by ruminants. *Animal Feed Science and Technology* 45, 379-396.
- Doreau, M., Laverroux, S., Normand, J., Chesneau, G., Glasser, F., 2009. Effect of linseed fed as rolled seeds, extruded seeds or oil on fatty acid rumen metabolism and intestinal digestibility in cows. *Lipids* 44, 53-62.
- Drackley, J.K., 2007. Overview of fat digestion and metabolism in dairy cows.
- Drackley, J.K., Elliott, J.P., 1993. Milk composition, ruminal characteristics, and nutrient utilization in dairy cows fed partially hydrogenated tallow. *Journal of Dairy Science* 76, 183-196.
- du Toit, A.N., Einkamerer, O.B., Hugo, A., van der Merwe, H.J., Fair, M.D., 2013. The effect of dietary lipid saturation and monensin-Na on the CLA content of lambs' meat. *South African Journal of Animal Science* 43, S81-S85.
- Duckett, S.K., Andrae, J.G., Owens, F.N., 2002. Effect of high-oil corn or added corn oil on ruminal biohydrogenation of fatty acids and conjugated linoleic acid formation in beef steers fed finishing diets. *Journal of Animal Science* 80, 3353-3360.
- Duckett, S.K., Wagner, D.G., Yates, L.D., Dolezal, H.G., May, S.G., 1993. Effects of time on feed on beef nutrient composition. *Journal of Animal Science* 71, 2079-2088.
- Dumont, M.-J., Narine, S.S., 2007. Soapstock and deodorizer distillates from North American vegetable oils: Review on their characterization, extraction and utilization. *Food Research International* 40, 957-974.
- Elam, C.J., 1976. Acidosis in feedlot cattle - practical observations. *Journal of Animal Science* 43, 898-901.
- Eldin, H.A.T., Babiker, I.A., El Khidir, O.A., 2011. Feedlot performance of Sudanese desert lambs fed with mash or pelleted diet of varying energy levels. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* 10, 77-79.
- Elmore, J.S., Cooper, S.L., Enser, M., Mottram, D.S., Sinclair, L.A., Wilkinson, R.G., Wood, J.D., 2005. Dietary manipulation of fatty acid composition in lamb meat and its effect on the volatile aroma compounds of grilled lamb. *Meat Science* 69, 233-242.
- Engle, T.E., Spears, J.W., Fellner, V., Odle, J., 2000. Effects of soybean oil and dietary copper on ruminal and tissue lipid metabolism in finishing steers. *Journal of Animal Science* 78, 2713-2721.
- Enser, M., Hallett, K.G., Hewett, B., Fursey, G.A.J., Wood, J.D., Harrington, G., 1998. Fatty acid content and composition of UK beef and lamb muscle in relation to production system and implications for human nutrition. *Meat Science* 49, 329-341.
- Espejo, M., García, S., López, M.M., Izquierdo, M., Costela, A., 1998. The influence of genotype and feeding systems in meat quality parameters of pure Retinto, Charolais x Retinto and Limusin x Retinto male calves. 44th International Conference Of Meat Science and Technology, 302-303.
- EUROSTAT, 2014. Anuario de estadística. Unión Europea.
- Faleiro, A.G., González, L.A., Blanch, M., Cavini, S., Castells, L., de la Torre, J.R., Ferret, A., 2011. Performance, ruminal changes, behaviour and welfare of growing heifers fed a concentrate diet with or without barley straw. *Animal* 5, 294-303.

- FAO, 2010. Fats and fatty acids in human nutrition, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.
- FEDNA, 2016. Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos, Fundación Española Desarrollo Nutrición Animal, Madrid, Spain.
- Fernández, B., Bodas, R., López-Campos, O., Andrés, S., Mantecón, A.R., Giráldez, F.J., 2009. Vinasse added to dried sugar beet pulp: Preference rate, voluntary intake, and digestive utilization in sheep. *Journal of Animal Science* 87, 2055-2063.
- Ferreira, E.M., Pires, A.V., Susin, I., Gentil, R.S., Parente, M.O.M., Nolli, C.P., Meneghini, R.C.M., Mendes, C.Q., Ribeiro, C., 2014. Growth, feed intake, carcass characteristics, and meat fatty acid profile of lambs fed soybean oil partially replaced by fish oil blend. *Animal Feed Science and Technology* 187, 9-18.
- Fimbres, H., Hernandez-Vidal, G., Picon-Rubio, J.F., Kawas, J.R., Lu, C.D., 2002. Productive performance and carcass characteristics of lambs fed finishing ration containing various forage levels. *Small Ruminant Research* 43, 283-288.
- Fischer, J.M., Buchanansmith, J.G., Campbell, C., Grieve, D.G., Allen, O.B., 1994. Effects of forage particle-size and long hay for cows fed total mixed rations based on alfalfa and corn. *Journal of Dairy Science* 77, 217-229.
- Flachowsky, G., Erdmann, K., Huether, L., Jahreis, G., Moeckel, P., Lebzien, P., 2006. Influence of roughage/concentrate ratio and linseed oil on the concentration of trans-fatty acids and conjugated linoleic acid in duodenal chyme and milk fat of late lactating cows. *Archives of Animal Nutrition* 60, 501-511.
- Francisco, A., Dentinho, M.T., Alves, S.P., Portugal, P.V., Fernandes, F., Sengo, S., Jeronimo, E., Oliveira, M.A., Costa, P., Sequeira, A., Bessa, R.J.B., Santos-Silva, J., 2015. Growth performance, carcass and meat quality of lambs supplemented with increasing levels of a tanniferous bush (*Cistus ladanifer* L.) and vegetable oils. *Meat Science* 100, 275-282.
- French, P., O'Riordan, E.G., Monahan, F.J., Caffrey, P.J., Vidal, M., Mooney, M.T., Troy, D.J., Moloney, A.P., 2000. Meat quality of steers finished on autumn grass, grass silage or concentrate-based diets. *Meat Science* 56, 173-180.
- Gagliostro, G., Schroeder, G., 2007. Efectos de la suplementación con sales cálcicas de ácidos grasos insaturados sobre la digestión ruminal en vacas lecheras en pastoreo. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal* 15, 88-99.
- Gallardo, B., 2013. Utilización de diferentes fuentes lipídicas en la ración de ovejas churras en lactación: Efecto sobre los rendimientos y calidad de los productos. Tesis Doctoral. Universidad de Valladolid.
- Gallardo, B., Gómez-Cortés, P., Mantecón, A.R., Juárez, M., Manso, T., de la Fuente, M.A., 2014. Effects of olive and fish oil Ca soaps in ewe diets on milk fat and muscle and subcutaneous tissue fatty-acid profiles of suckling lambs. *Animal* 8, 1178-1190.
- Gallardo, B., Manca, M.G., Mantecón, A.R., Nudda, A., Manso, T., 2015. Effects of linseed oil and natural or synthetic vitamin E supplementation in lactating ewes' diets on meat fatty acid profile and lipid oxidation from their milk fed lambs. *Meat Science* 102, 79-89.
- Galyean, M.L., Wagner, D.G., Owens, F.N., 1979. Corn particle-size and site and extent of digestion by steers. *Journal of Animal Science* 49, 204-210.
- Garton, G.A., Hovell, F.D.B., Duncan, W.R.H., 1972. Influence of dietary volatile fatty-acids on fatty-acid composition of lamb triglycerides, with special reference to effect of propionate on presence of branched-chain components. *British Journal of Nutrition* 28, 409.

- Gibb, D.J., Owens, F.N., Mir, P.S., Mir, Z., Ivan, M., McAllister, T.A., 2004. Value of sunflower seed in finishing diets of feedlot cattle. *Journal of Animal Science* 82, 2679-2692.
- Givens, D.I., Gibbs, R.A., 2006. Very long chain n-3 polyunsaturated fatty acids in the food chain in the UK and the potential of animal-derived foods to increase intake. *Nutrition Bulletin* 31, 104-110.
- Gómez-Cortés, P., Bach, A., Luna, P., Juárez, M., de la Fuente, M.A., 2009. Effects of extruded linseed supplementation on n-3 fatty acids and conjugated linoleic acid in milk and cheese from ewes. *Journal of Dairy Science* 92, 4122-4134.
- Gómez-Cortés, P., Gallardo, B., Mantecón, A.R., Juárez, M., de la Fuente, M.A., Manso, T., 2014. Effects of different sources of fat (calcium soap of palm oil vs. extruded linseed) in lactating ewes' diet on the fatty acid profile of their suckling lambs. *Meat Science* 96, 1304-1312.
- González, E., Hernández-Matamoros, A., Tejeda, J.F., 2012a. 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.
- González, L.A., Manteca, X., Calsamiglia, S., Schwartkopf-Genswein, K.S., Ferret, A., 2012b. Ruminal acidosis in feedlot cattle: Interplay between feed ingredients, rumen function and feeding behavior (a review). *Animal Feed Science and Technology* 172, 66-79.
- González, J.M., Janacua, H., Guada, J.A., Castrillo, C., Ferrer, L.M., 2000. Cebo de corderos con cebada en grano y núcleo proteico. XXV Jornadas Científicas de la SEOC 1, 283-286.
- Gorgulu, M., Kutlu, H.R., Demir, E., Ozturkcan, O., Forbes, J.M., 1996. Nutritional consequences among ingredients of free-choice feeding Awassi lambs. *Small Ruminant Research* 20, 23-29.
- Griswold, K.E., Apgar, G.A., Robinson, R.A., Jacobson, B.N., Johnson, D., Woody, H.D., 2003. Effectiveness of short-term feeding strategies for altering conjugated linoleic acid content of beef. *Journal of Animal Science* 81, 1862-1871.
- Grummer, R.R., 1988. Influence of prilled fat and calcium salt of palm oil fatty acids on ruminal fermentation and nutrient digestibility. *Journal of Dairy Science* 71, 117-123.
- Grundy, S.M., Denke, M.A., 1990. Dietary influences on serum-lipids and lipoproteins. *Journal of Lipid Research* 31, 1149-1172.
- Grundy, S.M., Vega, G.L., 1988. Plasma-cholesterol responsiveness to saturated fatty-acids. *American Journal of Clinical Nutrition* 47, 822-824.
- Guignot, F., Touraille, C., Ouali, A., Renner, M., Monin, G., 1994. Relationships between postmortem pH changes and some traits of sensory quality in veal. *Meat Science* 37, 315-325.
- Guo, Y.Q., Xu, X.F., Zou, Y., Yang, Z.S., Li, S.L., Cao, Z.J., 2013. Changes in feed intake, nutrient digestion, plasma metabolites, and oxidative stress parameters in dairy cows with subacute ruminal acidosis and its regulation with pelleted beet pulp. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 4-31.
- Hachemi, M.A., Campo, M.M., Barahona, M., Sañudo, C., López, J., Olleta, J.L., Martínez, A.A., 2016. Influencia del sistema de alimentación en el cebo sobre la textura de la carne dentro de la IGP carne de Ávila. XVI Jornadas sobre Producción Animal, Zaragoza, España 1, 711-713.
- Haddad, S.G., Younis, H.M., 2004. The effect of adding ruminally protected fat in fattening diets on nutrient intake, digestibility and growth performance of Awassi lambs. *Animal Feed Science and Technology* 113, 61-69.

- Hajji, H., Joy, M., Ripoll, G., Smeti, S., Mekki, I., Gahete, F.M., Mahouachi, M., Atti, N., 2016. Meat physicochemical properties, fatty acid profile, lipid oxidation and sensory characteristics from three North African lamb breeds, as influenced by concentrate or pasture finishing diets. *Journal of Food Composition and Analysis* 48, 102-110.
- Hale, W.H., 1973. Influence of processing on utilization of grains (starch) by ruminants. *Journal of Animal Science* 37, 1075-1080.
- Harfoot, C.G., Hazlewood, G.P., 1997. Lipid metabolism in the rumen. The rumen microbial ecosystem. Springer 382-426.
- Harmon, D.L., Yamka, R.M., Elam, N.A., 2004. Factors affecting intestinal starch digestion in ruminants: A review. *Canadian Journal of Animal Science* 84, 309-318.
- Harvatiné, K.J., Allen, M.S., 2006. Fat supplements affect fractional rates of ruminal fatty acid biohydrogenation and passage in dairy cows. *The Journal of Nutrition* 136, 677-685.
- Hazlewood, G.P., Orpin, C.G., Greenwood, Y., Black, M.E., 1983. Isolation of proteolytic rumen bacteria by use of selective medium containing leaf fraction-I protein (ribulosebiphosphate carboxylase). *Applied and Environmental Microbiology* 45, 1780-1784.
- Hejazi, S., Fluharty, F.L., Perley, J.E., Loerch, S.C., Lowe, G.D., 1999. Effects of corn processing and dietary fiber source on feedlot performance, visceral organ weight, diet digestibility, and nitrogen metabolism in lambs. *Journal of Animal Science* 77, 507-515.
- Hernández, J., Benedito, J.L., Abuelo, A., Castillo, C., 2014. Ruminal acidosis in feedlot: from aetiology to prevention. *The Scientific World Journal*. Article ID 702572
- Hiller, B., 2014. Recent developments in lipid metabolism in ruminants - the role of fat in maintaining animal health and performance. *Animal Production Science* 54, 1549-1560.
- Hocquette, J.F., Bauchart, D., 1999. Intestinal absorption, blood transport and hepatic and muscle metabolism of fatty acids in preruminant and ruminant animals. *Reproduction Nutrition Development* 39, 27-48.
- Hook, S.E., Wright, A.D.G., McBride, B.W., 2010. Methanogens: Methane Producers of the Rumen and Mitigation Strategies. *Archaea-an International Microbiological Journal* 2010.
- Horn, G.W., Gordon, J.L., Prigge, E.C., Owens, F.N., 1979. Dietary buffers and ruminal and blood parameters of subclinical lactic acidosis in steers. *Journal of Animal Science* 48, 683-691.
- Howes, N.L., Bekhit, A., Burritt, D.J., Campbell, A.W., 2015. Opportunities and implications of pasture-based lamb fattening to enhance the long-chain fatty acid composition in meat. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 14, 22-36.
- Hristov, A.N., Kennington, L.R., McGuire, M.A., Hunt, C.W., 2005. Effect of diets containing linoleic acid-or oleic acid-rich oils on ruminal fermentation and nutrient digestibility, and performance and fatty acid composition of adipose and muscle tissues of finishing cattle. *Journal of Animal Science* 83, 1312-1321.
- Huber, T.L., 1976. Physiological effects of acidosis on feedlot cattle. *Journal of Animal Science* 43, 902-909.
- Hunt, C.W., Paterson, J.A., Zinn, G.M., Williams, J.E., 1984. Effect of particle length and sodium-hydroxide treatment of wheat straw on site and extent of digestion by lambs. *Journal of Animal Science* 58, 1454-1460.

- Huntington, G., Richards, C., Harmon, D., 2005. Sites, rates, and limits of starch digestion and glucose metabolism in growing cattle. *Journal of Animal Science* 83, 72-72.
- Huntington, G.B., 1997. Starch utilization by ruminants: From basics to the bunk. *Journal of Animal Science* 75, 852-867.
- Hutjens, M.F., 1999. Ration physical form and rumen health. *Four-State Dairy Management Seminal Proceedings* 1-3.
- Idris, N.A., Dian, N., 2005. Interesterified palm products as alternatives to hydrogenation. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* 14, 396-401.
- Jabbar, M.A., Anjum, M.I., 2008. Effect of diets with different forage to concentrate ratio for fattening of lohi lambs. *Pakistan Veterinary Journal* 28, 150-152.
- Jacques, J., Chouinard, Y., Gariépy, C., Cinq-Mars, D., 2016. Meat quality, organoleptic characteristics and fatty acid composition of Dorset lambs fed different forage to concentrate ratio or fresh grass. *Canadian Journal of Animal Science*.
- Jarrige, R., 1980. Alimentation des ruminants: principes de la nutrition et de l'alimentation des ruminants: besoins alimentaires des animaux: valeur nutritive des aliments. *Institut National de la Recherche Agronomique*.
- Jelenikova, J., Pipek, P., Staruch, L., 2008. The influence of ante-mortem treatment on relationship between pH and tenderness of beef. *Meat Science* 80, 870-874.
- Jenkins, S.P., 1995. Easy estimation methods for discrete-time duration models. *Oxford Bulletin of Economics and Statistics* 57, 129-136.
- Jenkins, T.C., 1993. Lipid metabolism in the rumen. *Journal of Dairy Science* 76, 3851-3863.
- Jenkins, T.C., Bridges, W.C., 2007. Protection of fatty acids against ruminal biohydrogenation in cattle. *European Journal of Lipid Science and Technology* 109, 778-789.
- Jeronimo, E., Alves, S.P., Martins, S.V., Prates, J.A.M., Bessa, R.J.B., Santos-Silva, J., 2010. Effect of sodium bentonite and vegetable oil blend supplementation on growth, carcass quality and intramuscular fatty acid composition of lambs. *Animal Feed Science and Technology* 158, 136-145.
- Johnson, K.A., Johnson, D.E., 1995. Methane Emissions from Cattle. *Journal of Animal Science* 73, 2483-2492.
- Johnson, R.R., McClure, K.E., 1973. High fat rations for ruminants. II. Effects of fat added to corn plant material prior to ensiling on digestibility and voluntary intake of the silage. *Journal of Animal Science* 36, 397-406.
- Joy, M., Ripoll, G., Delfa, R., 2008. Effects of feeding system on carcass and non-carcass composition of Churra Tensina light lambs. *Small Ruminant Research* 78, 123-133.
- Karabulut, I., Turan, S., Ergin, G., 2004. Effects of chemical interesterification on solid fat content and slip melting point of fat/oil blends. *European Food Research and Technology* 218, 224-229.
- Kemp, J.D., Shelley, J.M., Moody, W.G., Ely, D.G., 1972. Effects of castration and slaughter weight on fatness, cooking losses and palatability of lamb. *Journal of Animal Science* 34, 560-562.
- Kennedy, D.G., Kennedy, S., Blanchflower, W.J., Scott, J.M., Weir, D.G., Molloy, A.M., Young, P.B., 1994. Cobalt vitamin-b-12 deficiency causes accumulation of odd-numbered, branched-chain fatty-acids in the tissues of sheep. *British Journal of Nutrition* 71, 67-76.
- Kerr, B.J., Kellner, T.A., Shurson, G.C., 2015. Characteristics of lipids and their feeding value in swine diets. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 7(3), 249-271

- Keskin, M., Sahin, A., Biçer, O., Gül, S., 2004. Comparison of the behaviour of Awassi lambs in cafeteria feeding system with single diet feeding system. *Applied Animal Behaviour Science* 85, 57-64.
- Kim, S.C., Adesogan, A.T., Badinga, L., Staples, C.R., 2007. Effects of dietary n-6: n-3 fatty acid ratio on feed intake, digestibility, and fatty acid profiles of the ruminal contents, liver, and muscle of growing lambs. *Journal of Animal Science* 85, 706-716.
- Kitessa, S.M., Gulati, S.K., Ashes, J.R., Fleck, E., Scott, T.W., Nichols, P.D., 2001. Utilisation of fish oil in ruminants: I. Fish oil metabolism in sheep. *Animal Feed Science and Technology* 89, 189-199.
- Kitessa, S.M., Williams, A., Gulati, S., Boghossian, V., Reynolds, J., Pearce, K.L., 2009. Influence of duration of supplementation with ruminally protected linseed oil on the fatty acid composition of feedlot lambs. *Animal Feed Science and Technology* 151, 228-239.
- Kleen, J.L., Cannizzo, C., 2012. Incidence, prevalence and impact of SARA in dairy herds. *Animal Feed Science and Technology* 172, 4-8.
- Kleen, J.L., Hooijer, G.A., Rehage, J., Noordhuizen, J., 2003. Subacute ruminal acidosis (SARA): a review. *Journal of Veterinary Medicine Series A* 50, 406-414.
- Klinkesorn, U., H-Kittikun, A., Chinachoti, P., Sophanodora, P., 2004. Chemical transesterification of tuna oil to enriched omega-3 polyunsaturated fatty acids. *Food Chemistry* 87, 415-421.
- Knowlton, K.F., Glenn, B.P., Erdman, R.A., 1998. Performance, ruminal fermentation, and site of starch digestion in early lactation cows fed corn grain harvested and processed differently. *Journal of Dairy Science* 81, 1972-1984.
- Kotarski, S.F., Waniska, R.D., Thurn, K.K., 1992. Starch hydrolysis by the ruminal microflora. *Journal of Nutrition* 122, 178-190.
- Krause, K.M., Combs, D.K., 2003. Effects of forage particle size, forage source, and grain fermentability on performance and ruminal pH in midlactation cows. *Journal of Dairy Science* 86, 1382-1397.
- Krause, K.M., Combs, D.K., Beauchemin, K.A., 2002. Effects of forage particle size and grain fermentability in midlactation cows. II. Ruminal pH and chewing activity. *Journal of Dairy Science* 85, 1947-1957.
- Krause, K.M., Oetzel, G.R., 2005. Inducing subacute ruminal acidosis in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 88, 3633-3639.
- Krehbiel, C.R., Britton, R.A., Harmon, D.L., Wester, T.J., Stock, R.A., 1995. The effects of ruminal acidosis on volatile fatty acid absorption and plasma activities of pancreatic enzymes in lambs. *Journal of Animal Science* 73, 3111-3121.
- Krisetherton, P.M., Krummel, D., Russell, M.E., Dreon, D., Mackey, S., Borchers, J., Wood, P.D., 1988. The effect of diet on plasma-lipids, lipoproteins, and coronary heart-disease. *Journal of the American Dietetic Association* 88, 1373-1400.
- Kumar, S., Choudhury, P.K., Dolores Carro, M., Griffith, G.W., Dagar, S.S., Puniya, M., Calabro, S., Ravella, S.R., Dhewa, T., Upadhyay, R.C., Sirohi, S.K., Kundu, S.S., Wanapat, M., Puniya, A.K., 2014. New aspects and strategies for methane mitigation from ruminants. *Applied Microbiology and Biotechnology* 98, 31-44.
- Kyriazakis, I., Oldham, J.D., 1993. Diet selection in sheep - the ability of growing lambs to select a diet that meets their crude protein (nitrogen x 6.25) requirements. *British Journal of Nutrition* 69, 617-629.
- Kyriazakis, I., Oldham, J.D., 1997. Food intake and diet selection in sheep: The effect of manipulating the rates of digestion of carbohydrates and protein of the foods offered as a choice. *British Journal of Nutrition* 77, 243-254.

- Landa, R., Mantecón, Á.R., Frutos, P., Rodríguez, A.B., Giráldez, F.J., 2001. Efecto del tipo de cereal (cebada vs maíz) sobre la ingestión, la ganancia de peso y las características de la canal de corderos alimentados con pienso y paja o sólo con pienso. ITEA.
- Lawlor, M.J., Crowley, J.P., 1971. Pelleted roughage-concentrate diets in indoor fattening of early weaned lambs. *Irish Journal of Agricultural Research* 10, 31.
- Lean, I.J., Wade, L., K., Curtis, M.A., Porter, J., 2000. New approaches to control of ruminal acidosis in dairy cattle. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences* 13, 266-269.
- Lee, M.R.F., Tweed, J.K.S., Dewhurst, R.J., Scollan, N.D., 2006. Effect of forage: concentrate ratio on ruminal metabolism and duodenal flow of fatty acids in beef steers. *Animal Science-Glasgow Then Penicuik* 82(01), 31-40.
- Lee, R.W., Galyean, M.L., Lofgreen, G.P., 1982. Effects of mixing whole shelled and steam flaked corn in finishing diets on feedlot performance and site and extent of digestion in beef steers. *Journal of Animal Science* 55, 475-483.
- Lee, S.H., Joo, S.T., Ryu, Y.C., 2010. Skeletal muscle fiber type and myofibrillar proteins in relation to meat quality. *Meat Science* 86, 166-170.
- Lemos, D., 2011. Efecto del uso de paja durante la fase final del cebo de corderos tipo ternasco proveniente de centros de clasificación sobre el bienestar animal, la productividad y la calidad del producto, Tesis Doctoral. Universidad de Zaragoza.
- Leonardi, C., Shinnors, K.J., Armentano, L.E., 2005. Effect of different dietary geometric mean particle length and particle size distribution of oat silage on feeding behavior and productive performance of dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 88, 698-710.
- Listrat, A., Lebre, B., Louveau, I., Astruc, T., Bonnet, M., Lefaucheur, L., Bugeon, J., 2015. How muscle structure and composition determine meat quality. *Inra Productions Animales* 28, 125-136.
- Listrat, A., Lebre, B., Louveau, I., Astruc, T., Bonnet, M., Lefaucheur, L., Bugeon, J., 2016. How muscle structure and composition influence meat and flesh quality. *The Scientific World Journal Article ID* 3182746
- Lochner, J.V., Kauffman, R.G., Marsh, B.B., 1980. Early-postmortem cooling rate and beef tenderness. *Meat Science* 4, 227-241.
- Lock, A.L., Bauman, D.E., 2004. Modifying milk fat composition of dairy cows to enhance fatty acids beneficial to human health. *Lipids* 39, 1197-1206.
- Loor, J.J., Ferlay, A., Ollier, A., Ueda, K., Doreau, M., Chilliard, Y., 2005a. High-concentrate diets and polyunsaturated oils alter *trans* and conjugated isomers in bovine rumen, blood, and milk. *Journal of Dairy Science* 88, 3986-3999.
- Loor, J.J., Herbein, J.H., Jenkins, T.C., 2002. Nutrient digestion, biohydrogenation, and fatty acid profiles in blood plasma and milk fat from lactating Holstein cows fed canola oil or canolamide. *Animal Feed Science and Technology* 97, 65-82.
- Loor, J.J., Ueda, K., Ferlay, A., Chilliard, Y., Doreau, M., 2005b. Intestinal flow and digestibility of *trans* fatty acids and conjugated linoleic acids (CLA) in dairy cows fed a high-concentrate diet supplemented with fish oil, linseed oil, or sunflower oil. *Animal Feed Science and Technology* 119, 203-225.
- López-Campos, O., Bodas, R., Prieto, N., Giráldez, F.J., Pérez, V., Andrés, S., 2010. Naringin dietary supplementation at 0.15% rates does not provide protection against sub-clinical acidosis and does not affect the responses of fattening lambs to road transportation. *Animal* 4, 958-964.
- Lorenz, S., Buettner, A., Ender, K., Nürnberg, G., Papstein, H.-J., Schieberle, P., Nürnberg, K., 2002. Influence of keeping system on the fatty acid composition in the longissimus muscle of bulls and odorants formed after pressure-cooking. *European Food Research and Technology* 214, 112-118.

- Lough, D.S., Solomon, M.B., Rumsey, T.S., Kahl, S., Slyter, L.L., 1993. Effects of high-forage diets with added palm oil on performance, plasma-lipids, and carcass characteristics of ram and ewe lambs. *Journal of Animal Science* 71, 1171-1176.
- Lourenco, M., Ramos-Morales, E., Wallace, R.J., 2010. The role of microbes in rumen lipolysis and biohydrogenation and their manipulation. *Animal* 4, 1008-1023.
- López, G., Benito, J., Martín, M., Vasco, P., Ferrera, J.L., Varona, M., 1981. Influencia del régimen alimenticio y del genotipo en el crecimiento y en la composición de la canal de los terneros. *Anuales del Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. Serie Ganadera* 13-22.
- Machmuller, A., Ossowski, D.A., Kreuzer, M., 1998. Methane reduction and energy turnover in lambs receiving different dietary fat supplements. *Energy Metabolism of Farm Animals*, 127-130.
- Machmüller, A., Ossowski, D.A., Kreuzer, M., 2000. Comparative evaluation of the effects of coconut oil, oilseeds and crystalline fat on methane release, digestion and energy balance in lambs. *Animal Feed Science and Technology* 85, 41-60.
- MacRae, J.C., Armstrong, D.G., 1969. Studies on intestinal digestion in the sheep. *British Journal of Nutrition* 23, 377-387.
- Madron, M.S., Peterson, D.G., Dwyer, D.A., Corl, B.A., Baumgard, L.H., Beermann, D.H., Bauman, D.E., 2002. Effect of extruded full-fat soybeans on conjugated linoleic acid content of intramuscular, intermuscular, and subcutaneous fat in beef steers. *Journal of Animal Science* 80, 1135-1143.
- MAGRAMA, 2015. Informe del Consumo de Alimentación en España, Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. http://www.magrama.gob.es/es/alimentacion/temas/consumo-y-comercializacion-y-distribucion_alimentaria/informeconsumoalimentacion2014_tcm7-382148.pdf.
- Maltin, C., Balcerzak, D., Tilley, R., Delday, M., 2003. Determinants of meat quality: tenderness. *Proceedings of the Nutrition Society* 62, 337-347.
- Manso, T., Bodas, R., Castro, T., Jimeno, V., Mantecon, A.R., 2009. Animal performance and fatty acid composition of lambs fed with different vegetable oils. *Meat Science* 83, 511-516.
- Manso, T., Bodas, R., Vieira, C., Mantecon, A.R., Castro, T., 2011. Feeding vegetable oils to lactating ewes modifies the fatty acid profile of suckling lambs. *Animal* 5, 1659-1667.
- Manso, T., Castro, T., Mantecón, A.R., Jimeno, V., 2006. Effects of palm oil and calcium soaps of palm oil fatty acids in fattening diets on digestibility, performance and chemical body composition of lambs. *Animal Feed Science and Technology* 127, 175-186.
- Manso, T., Gallardo, B., Salva, A., Guerra-Rivas, C., Mantecon, A.R., Lavin, P., de la Fuente, M.A., 2016. Influence of dietary grape pomace combined with linseed oil on fatty acid profile and milk composition. *Journal of Dairy Science* 99, 1111-1120.
- Mao, S.Y., Zhang, R.Y., Wang, D.S., Zhu, W.Y., 2013. Impact of subacute ruminal acidosis (SARA) adaptation on rumen microbiota in dairy cattle using pyrosequencing. *Anaerobe* 24, 12-19.
- MAPAMA, 2015. Encuesta de sacrificio de ganado, Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente.
- Martín, C., Morgavi, D.P., Doreau, M., 2010. Methane mitigation in ruminants: from microbe to the farm scale. *Animal* 4, 351-365.
- Martín, C., Rouel, J., Jouany, J.P., Doreau, M., Chilliard, Y., 2008. Methane output and diet digestibility in response to feeding dairy cows crude linseed, extruded linseed, or linseed oil. *Journal of Animal Science* 86, 2642-2650.

- Martínez Marín, A.L., 2007. Influencia de la nutrición sobre el contenido y tipo de ácidos grasos en la carne de los rumiantes. *Archivos de Zootecnia* 56, 45-66.
- Martínez Marín, A.L., Pérez Hernández, M., Pérez, Alba, L., Gómez Castro, G., Carrión Pardo, D., 2010. Metabolismo de los lípidos en los rumiantes. *REDVET. Revista electrónica de veterinaria* 11, 1695-7504.
- Mateos, G.G., Rebollar, P.G., Medel, P., 1996. Utilización de grasas y productos lipídicos en alimentación animal: grasas puras y mezclas. XII Curso de especialización FEDNA. Madrid.
- McCann, J.C., Luan, S., Cardoso, F.C., Derakhshani, H., Khafipour, E., Loor, J.J., 2016. Induction of subacute ruminal acidosis affects the ruminal microbiome and epithelium. *Frontiers in Microbiology* 7,701.
- McNiven, M.A., Duynisveld, J., Charmley, E., Mitchell, A., 2004. Processing of soybean affects meat fatty acid composition and lipid peroxidation in beef cattle. *Animal Feed Science and Technology* 116, 175-184.
- Mierlita, D., 2012. Effect of feeding type (pasture vs. total mixed rations) of Turcana ewes on animal performance and milk fatty acid profile. *Journal of Food Agriculture and Environment* 10, 815-818.
- Miguel, A., Calvo, J.L., Ciria, J., Asenjo, B., 2009. Utilización de un sistema de alimentación mecanizado en ovino de carne. I.- Efecto sobre el consumo y los costes de alimentación. *AIDA. XIII Jornadas Sobre Producción Animal* 1, 367-369.
- Min, B., Ahn, D.U., 2005. Mechanism of lipid peroxidation in meat and meat products - A review. *Food Science and Biotechnology* 14, 152-163.
- Mir, P.S., McAllister, T.A., Zaman, S., Morgan Jones, S.D., He, M.L., Aalhus, J.L., Jeremiah, L.E., Goonewardene, L.A., Weselake, R.J., Mir, Z., 2003. Effect of dietary sunflower oil and vitamin E on beef cattle performance, carcass characteristics and meat quality. *Canadian Journal of Animal Science* 83, 53-66.
- Mitchell, G.E., Reed, A.W., Rogers, S.A., 1991. Influence of feeding regimen on the sensory qualities and fatty acid contents of beef steaks. *Journal of Food Science* 56, 1102-1103.
- Miyaji, M., Matsuyama, H., 2016. Lactation and digestion in dairy cows fed ensiled total mixed ration containing steam-flaked or ground rice grain. *Animal Science Journal* 87, 767-774.
- Mlyned, K., Gulissky, P., 2007. The effect of growth rate and age at slaughter on dressing percentage and colour, pH 48 and microstructure of longissimus dorsi muscle in Blacka and White (BW) bulls vs comercia crossbreed of BW with beef breeds Krzystof of FTO and FTG fibres. *Animal Science Papers and Reports* 25(2), 65-71.
- Moharrery, A., 2010. Effect of particle size of forage in the dairy ration on feed intake, production parameters and quantification of manure index. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 23, 483-490.
- Moharrery, A., Larsen, M., Weisbjerg, M.R., 2014. Starch digestion in the rumen, small intestine, and hind gut of dairy cows - A meta-analysis. *Animal Feed Science and Technology* 192, 1-14.
- Montgomery, S.P., Drouillard, J.S., Nagaraja, T.G., Titgemeyer, E.C., Sindt, J.J., 2008. Effects of supplemental fat source on nutrient digestion and ruminal fermentation in steers. *Journal of Animal Science* 86, 640-650.
- Moore, J.A., Swingle, R.S., Hale, W.H., 1986. Effects of whole cottonseed, cottonseed oil or animal fat on digestibility of wheat straw diets by steers. *Journal of Animal Science* 63, 1267-1273.

- Morgante, M., Stelletta, C., Berzaghi, P., Ganesella, M., Andrighetto, I., 2007. Subacute rumen acidosis in lactating cows: an investigation in intensive Italian dairy herds. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 91, 226-234.
- Morán, L., 2013. Efecto del ácido carnósico añadido a la dieta de corderos sobre el bienestar animal y la calidad de la carne. Tesis Doctoral. Universidad de León.
- Morán, L., Andrés, S., Bodas, R., Prieto, N., Giráldez, F.J., 2012. Meat texture and antioxidant status are improved when carnosic acid is included in the diet of fattening lambs. *Meat Science* 91, 430-434.
- Morán, L., Giráldez, F.J., Panseri, S., Aldai, N., Jordán, M.J., Chiesa, L.M., Andrés, S., 2013. Effect of dietary carnosic acid on the fatty acid profile and flavour stability of meat from fattening lambs. *Food Chemistry* 138, 2407-2414.
- Nagaraja, T.G., Titgemeyer, E.C., 2006. Ruminal acidosis in beef cattle: The current microbiological outlook. *Journal of Animal Science* 84, 153-153.
- Nelson, M.L., Marks, D.J., Busboom, J.R., Cronrath, J.D., Falen, L., 2004. Effects of supplemental fat on growth performance and quality of beef from steers fed barley-potato product finishing diets: I. Feedlot performance, carcass traits, appearance, water binding, retail storage, and palatability attributes. *Journal of Animal Science* 82, 3600-3610.
- Nieto, G., Díaz, P., Bañón, S., Garrido, M.D., 2010. Effect on lamb meat quality of including thyme (*Thymus zygis ssp gracilis*) leaves in ewes' diet. *Meat Science* 85, 82-88.
- Nikolov, Y., 2003. Biochemical alterations in rumen liquor, blood cerebrospinal fluid and urine in experimental acute ruminal lactic acidosis in sheep. *Indian Veterinary Journal* 80.
- Noble, R.C., Moore, J.H., Harfoot, C.G., 1974. Observations on the pattern on biohydrogenation of esterified and unesterified linoleic acid in the rumen. *British Journal of Nutrition* 31, 99-108.
- Nocek, J.E., 1997. Bovine acidosis: Implications on laminitis. *Journal of Dairy Science* 80, 1005-1028.
- Norouzzian, M.A., Valizadeh, R., 2014. Effect of forage inclusion and particle size in diets of neonatal lambs on performance and rumen development. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 98, 1095-1101.
- Nour, M.S.M., Abusamra, M.T., Hago, B.E.D., 1998. Experimentally induced lactic acidosis in Nubian goats: Clinical, biochemical and pathological investigations. *Small Ruminant Research* 31, 7-17.
- Nudda, A., Battacone, G., Bee, G., Boe, R., Castanares, N., Lovicu, M., Pulina, G., 2015. Effect of linseed supplementation of the gestation and lactation diets of dairy ewes on the growth performance and the intramuscular fatty acid composition of their lambs. *Animal* 9, 800-809.
- O'Brien, R.D., 2008. Fats and oils: formulating and processing for applications. CRC Press.
- Oetzel, G.R., 2003. Subacute ruminal acidosis in dairy cattle. *Advances in Dairy Technology* 15, 307-317.
- Okeudo, N.J., Moss, B.W., 2007. Intramuscular lipid and fatty acid profile of sheep comprising four sex-types and seven slaughter weights produced following commercial procedure. *Meat Science* 76, 195-200.
- Ørskov, E.R., Fraser, C., Gordon, J.G., 1974. Effect of Processing of Cereals on Rumen Fermentation, Digestibility, Rumination Time, and Firmness of Subcutaneous Fat in Lambs. *British Journal of Nutrition* 32, 59-69.

- Ørskov, E.R., Fraser, C., 1975. The effects of processing of barley-based supplements on rumen pH, rate of digestion and voluntary intake of dried grass in sheep. *British Journal of Nutrition* 34, 493-500.
- Owen, F.G., 1969. Complete feeds full-fed prepartum and postpartum. *Journal of Dairy Science* 52, 909.
- Owen, F.G., Appleman, R.D., 1971. Dehydrated alfalfa in complete pelleted or wafered rations for lactating cows. *Journal of Dairy Science* 54, 806.
- Owens, F.N., Secrist, D.S., Hill, W.J., Gill, D.R., 1998. Acidosis in cattle: a review. *Journal of Animal science* 76, 275-286.
- Palmquist, D.L., 1991. Influence of source and amount of dietary fat on digestibility in lactating cows. *Journal of Dairy Science* 74, 1354-1360.
- Palmquist, D.L., Conrad, H.R., 1978. High fat rations for dairy cows. Effects on feed intake, milk and fat production, and plasma metabolites. *Journal of Dairy Science* 61, 890-901.
- Palmquist, D.L., Lock, A.L., Shingfield, K.J., Bauman, D.E., 2005. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants and humans. *Advances in Food and Nutrition Research* 50, 179-217.
- Palmquist, D.L., Weisbjerg, M.R., Hvelplund, T., 1993. Ruminal, intestinal, and total digestibilities of nutrients in cows fed diets high in fat and undegradable protein. *Journal of Dairy Science* 76, 1353-1364.
- Palombo, R., Wijngaards, G., 1990. Characterization of changes in psychometric color attributes of comminuted porcine lean meat during processing. *Meat Science* 28, 61-76.
- Pantoja, J., Firkins, J.L., Eastridge, M.L., Hull, B.L., 1994. Effects of fat saturation and source of fiber on site of nutrient digestion and milk production by lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 77, 2341-2356.
- Pardio, V.T., Landin, L.A., Waliszewski, K.N., Pérez-Gil, F., Díaz, L., Hernández, B., 2005. The effect of soybean soapstock on the quality parameters and fatty acid composition of the hen egg yolk. *Poultry Science* 84, 148-157.
- Pariza, M.W., Park, Y., Cook, M.E., 2001. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Progress in Lipid Research* 40, 283-298.
- Park, Y., Pariza, M.W., 2007. Mechanisms of body fat modulation by conjugated linoleic acid (CLA). *Food Research International* 40, 311-323.
- Patra, A.K., Yu, Z., 2013. Effects of coconut and fish oils on ruminal methanogenesis, fermentation, and abundance and diversity of microbial populations in vitro. *Journal of Dairy Science* 96, 1782-1792.
- Patra, R.C., Lal, S.B., Swarup, D., 1996. Biochemical profile of rumen liquor, blood and urine in experimental acidosis in sheep. *Small Ruminant Research* 19, 177-180.
- Pérez-Torres, A., Sierra, I., de Vega, A., Keli, A., 2011. Effect of grinding size and sunflower oil addition on intake, digestibility, rumen function and microbial protein synthesis in sheep fed a dry total mixed ration. *Spanish Journal of Agricultural Research* 9, 1186-1196.
- Perry, T.W., Beeson, W.M., Kennington, M.H., Harper, C., 1959. Pelleted complete mixed rations for feeder lambs. *Journal of Animal Science* 18, 1264-1270.
- Petit, H.V., Rioux, R., D'Oliveira, P.S., Prado, I.N.D., 1997. Performance of growing lambs fed grass silage with raw or extruded soybean or canola seeds. *Canadian Journal of Animal Science* 77, 455-463.
- Petri, R.M., Schwaiger, T., Penner, G.B., Beauchemin, K.A., Forster, R.J., McKinnon, J.J., McAllister, T.A., 2013. Characterization of the core rumen microbiome in cattle during transition from forage to concentrate as well as during and after an acidotic challenge. *Plos One* 8(12), e83424.

- Plaizier, J.C., Keunen, J.E., Walton, J.P., Duffield, T.F., McBride, B.W., 2001. Effect of subacute ruminal acidosis on in situ digestion of mixed hay in lactating dairy cows. *Canadian Journal of Animal Science* 81, 421-423.
- Plascencia, A., Estrada, M., Zinn, R.A., 1999. Influence of free fatty acid content on the feeding value of yellow grease in finishing diets for feedlot cattle. *Journal of Animal Science* 77, 2603-2609.
- Ponnampalam, E.N., Sinclair, A.J., Egan, A.R., Blakeley, S.J., Li, D., Leury, B.J., 2001. Effect of dietary modification of muscle long-chain n-3 fatty acid on plasma insulin and lipid metabolites, carcass traits, and fat deposition in lambs. *Journal of Animal Science* 79, 895-903.
- Poulson, C.S., Dhiman, T.R., Ure, A.L., Cornforth, D., Olson, K.C., 2004. Conjugated linoleic acid content of beef from cattle fed diets containing high grain, CLA, or raised on forages. *Livestock Production Science* 91, 117-128.
- Prache, S., Martin, B., Noziere, P., Engel, E., Besle, J.M., Ferlay, A., Micol, D., Cornu, A., Cassar-Malek, I., Andueza, D., 2007. Diet authentication in ruminants from the composition of their products and tissues. *Productions Animales* 20, 295-307.
- Prieto, N., 2006. Aplicación de la tecnología NIRS para estimar parámetros indicativos de la calidad de la carne de vacuno, Universidad de León.
- Priolo, A., Micol, D., Agabriel, J., 2001. Effects of grass feeding systems on ruminant meat colour and flavour. A review. *Animal Research* 50, 185-200.
- Prive, F., Kaderbhai, N.N., Girdwood, S., Worgan, H.J., Pinloche, E., Scollan, N.D., Huws, S.A., Newbold, C.J., 2013. Identification and characterization of three novel lipases belonging to families ii and v from anaerovibrio lipolyticus 5st. *Plos One* 8(8), e69076.
- Purroy, A., Echaide, H., Muñoz, F., Arana, A., Mendizábal, J.A., 1993. The effect of protein level and source of legume seeds on the growth and fattening of lambs. *Livestock Production Science* 34, 93-100.
- Pérez Espés, B., 2011. Suplementación de raciones para cebo intensivo de terneros con aceites vegetales: rendimientos productivos, calidad de la canal, de la grasa y de la carne, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid. Tesis Doctoral.
- Pérez-Lanzac, J., Bendicho, J., Castro, P., 1987. Tecnología de los piensos para corderos. I. Crecimientos y composición corporal de la canal de corderos alimentados con piensos granulados de distinto contenido en fibra. Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca. Comunicación Agraria, Serie Producción Animal.
- Pérez-Torres, A., Sierra, I., de Vega, A., Keli, A., 2011. Effect of grinding size and sunflower oil addition on intake, digestibility, rumen function and microbial protein synthesis in sheep fed a dry total mixed ration. *Spanish Journal of Agricultural Research* 9, 1186-1196.
- Pérez-Álvarez, J.A., Fernández-López, J., Sayas-Barberá, M.E., Cartagena-Gracia, R., 1998. Caracterización de los parámetros de color de diferentes materias primas usadas en la industria cárnica. *Eurocarne* 63, 115-122.
- Qiu, X., Eastridge, M.L., Firkins, J.L., 2004. Effects of dry matter intake, addition of buffer, and source of fat on duodenal flow and concentration of conjugated linoleic acid and *trans* 11c18:1 in milk. *Journal of Dairy Science* 87, 4278-4286.
- Radunz, A.E., Wickersham, L.A., Loerch, S.C., Fluharty, F.L., Reynolds, C.K., Zerby, H.N., 2009. Effects of dietary polyunsaturated fatty acid supplementation on fatty acid composition in muscle and subcutaneous adipose tissue of lambs. *Journal of Animal Science* 87, 4082-4091.

- Raes, K., Balcaen, A., Dirinck, P., De Winne, A., Claeys, E., Demeyer, D., De Smet, S., 2003. Meat quality, fatty acid composition and flavour analysis in Belgian retail beef. *Meat Science* 65, 1237-1246.
- Ramana Reddy, Y., Krishna, N., Raghava Rao, E., Reddy, T.J., 2003. Influence of dietary protected lipids on intake and digestibility of straw based diets in Deccani sheep. *Animal Feed Science and Technology* 106, 29-38.
- Raven, A.M., Forbes, T.J., Irwin, J.H.D., 1969. The utilization by beef cattle of concentrate diets containing different levels of milled barley straw and of protein. *The Journal of Agricultural Science* 73, 355-363.
- Realini, C.E., Duckett, S.K., Brito, G.W., Dalla Rizza, M., De Mattos, D., 2004. Effect of pasture vs. concentrate feeding with or without antioxidants on carcass characteristics, fatty acid composition, and quality of Uruguayan beef. *Meat Science* 66, 567-577.
- Rehfeldt, C., 2005. Consequences of birth weight for postnatal growth performance. *Journal of Animal Science* 83, 91-91.
- Renner, M., 2000. Oxidative processes and myoglobin. Antioxidants in muscle foods. OCED, New York, NY, USA, 113-135.
- Rodríguez, A.B., Bodas, R., Fernández, B., López-Campos, O., Mantecón, A.R., Giráldez, F.J., 2007. Feed intake and performance of growing lambs raised on concentrate-based diets under cafeteria feeding systems. *Animal* 1, 459-466.
- Rodríguez, A.B., 2005. Alternativas a los sistemas actuales de alimentación en el cebo de cordero: efecto de la supresión de la paja de la ración y utilización del cereal en grano sobre la ingestión, el crecimiento y las características de la canal. Universidad de León, Tesis Doctoral.
- Rojas-Cano, M.L., Ruíz-Guerrero, V., Lara, L., Nieto, R., Aguilera, J.F., 2014. Digestibility and energy value of diets containing increasing proportions of olive soapstocks for Iberian crossbred pigs. *Animal Feed Science and Technology* 191, 83-90.
- Russell, J.B., 1998. The importance of pH in the regulation of ruminal acetate to propionate ratio and methane production in vitro. *Journal of Dairy Science* 81, 3222-3230.
- Russell, J.B., Hino, T., 1985. Regulation of lactate production in *Streptococcus bovis* a spiraling effect that contributes to rumen acidosis. *Journal of Dairy Science* 68, 1712-1721.
- Russo, C., Prezioso, G., Casarosa, L., Campodoni, G., Cianci, D., 1999. Effect of diet energy source on the chemical-physical characteristics of meat and depot fat of lambs carcasses. *Small Ruminant Research* 33, 77-85.
- Saccol, A.D.F., Pires, C., Machado, G.I.O., Mello, R.D.O., Potter, L., Seibert, L., Quadros, F.L.F., 2014. Chemical composition and fatty acids profile of lamb meat fed exclusively concentrated food or pasture. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal* 22, 367-370.
- Sahin, A., Keskin, M., Biçer, O., Gül, S., 2003. Diet selection by Awassi lambs fed individually in a cafeteria feeding system. *Livestock Production Science* 82, 163-170.
- Salem, H.B., Krzeminski, R., Ferlay, A., Doreau, M., 1993. Effect of lipid supply on in vivo digestion in cows: Comparison of hay and corn silage diets. *Canadian Journal of Animal Science* 73, 547-557.
- Santos-Silva, J., Bessa, R.J.B., Santos-Silva, F., 2002. Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs II. Fatty acid composition of meat. *Livestock Production Science* 77, 187-194.

- Santos-Silva, J., Mendes, I.A., Portugal, P.V., Bessa, R.J.B., 2004. Effect of particle size and soybean oil supplementation on growth performance, carcass and meat quality and fatty acid composition of intramuscular lipids of lambs. *Livestock Production Science* 90, 79-88.
- Santra, A., Konar, S., Chatterjee, A., Das, S.K., 2012. Effect of dietary sunflower oil on rumen protozoal population and fermentation characteristics in growing crossbred calves. *Animal Nutrition and Feed Technology* 12, 73-82.
- Santra, A., Pathak, N.N., 2009. Effect of restricted concentrate feeding on nutrient utilization and growth performance of crossbred calves maintained on wheat straw based diet. *Indian Journal of Animal Sciences* 79, 906-911.
- Sañudo, C., Alfonso, M., Sánchez, A., Delfa, R., Teixeira, A., 2000. Carcass and meat quality in light lambs from different fat classes in the EU carcass classification system. *Meat Science* 56, 89-94.
- Sañudo, C., Briz, R.C., Alfranca, I.S., 2009. *Ovinotecnia: producción y economía en la especie ovina: homenaje al profesor Isidro Sierra Alfranca*. Prensas Universitarias de Zaragoza.
- Sañudo, C., Sánchez, A., Alfonso, M., 1998. Small ruminant production systems and factors affecting lamb meat quality. *Meat Science* 49, S29-S64.
- Scollan, N.D., Choi, N.-J., Kurt, E., Fisher, A.V., Enser, M., Wood, J.D., 2001. Manipulating the fatty acid composition of muscle and adipose tissue in beef cattle. *British Journal of Nutrition* 85, 115-124.
- Scollan, N.D., Dannenberger, D., Nuernberg, K., Richardson, I., MacKintosh, S., Hocquette, J.-F., Moloney, A.P., 2014. Enhancing the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. *Meat Science* 97, 384-394.
- Scott, L.L., Provenza, F.D., 2000. Lambs fed protein or energy imbalanced diets forage in locations and on foods that rectify imbalances. *Applied Animal Behaviour Science* 68, 293-305.
- Shackelford, S.D., Savell, J.W., Crouse, J.D., Cross, H.R., Schanbacher, B.D., Johnson, D.D., Anderson, M.L., 1992. Palatability of beef from bulls administered exogenous hormones. *Meat Science* 32, 397-405.
- Shain, D.H., Sindt, M.H., Grant, R.J., Klopfenstein, T.J., Stock, R.A., 1993. Effect of a soybean hull: soy lecithin: soapstock mixture on ruminal digestion and performance of growing beef calves and lactating dairy cattle. *Journal of Animal Science* 71, 1266-1275.
- Shain, D.H., Stock, R.A., Klopfenstein, T.J., Herold, D.W., 1999. The effect of forage source and particle size on finishing yearling steer performance and ruminal metabolism. *Journal of Animal Science* 77, 1082-1092.
- Shaver, R.D., Nytes, A.J., Satter, L.D., Jorgensen, N.A., 1986. Influence of amount of feed-intake and forage physical form on digestion and passage of prebloom alfalfa hay in dairy-cows. *Journal of Dairy Science* 69, 1545-1559.
- Shin, S.Y., Bajpai, V.K., Kim, H.R., Kang, S.C., 2007. Antibacterial activity of eicosapentaenoic acid (EPA) against foodborne and food spoilage microorganisms. *LWT-Food Science and Technology* 40, 1515-1519.
- Shingfield, K.J., Ahvenjarvi, S., Toivonen, V., Vanhatalo, A., Huhtanen, P., Griinari, J.M., 2008. Effect of incremental levels of sunflower-seed oil in the diet on ruminal lipid metabolism in lactating cows. *British Journal of Nutrition* 99, 971-983.
- Shingfield, K.J., Bernard, L., Leroux, C., Chilliard, Y., 2010. Role of trans fatty acids in the nutritional regulation of mammary lipogenesis in ruminants. *Animal* 4, 1140-1166.

- Shingfield, K.J., Bonnet, M., Scollan, N.D., 2013. Recent developments in altering the fatty acid composition of ruminant-derived foods. *Animal* 7, 132-162.
- Shingfield, K. J., Wallace, R. J. 2014. Synthesis of conjugated linoleic acid in ruminants and humans. 1-65.
- Sierra Alfranca, I., 1996. Nueva alternativa en la alimentación ovina: II. Ración completa, granulada y "ad libitum". *Archivos de Zootecnia* 45, 51-61.
- Silva, J.A., Patarata, L., Martins, C., 1999. Influence of ultimate pH on bovine meat tenderness during ageing. *Meat Science* 52, 453-459.
- Simopoulos, A.P., 2008. The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Experimental Biology and Medicine* 233, 674-688.
- Solomon, M.B., Lynch, G.P., Lough, D.S., 1992. Influence of dietary palm oil supplementation on serum-lipid metabolites, carcass characteristics, and lipid-composition of carcass tissues of growing ram and ewe lambs. *Journal of Animal Science* 70, 2746-2751.
- Spanghero, M., Zanfi, C., Fabbro, E., Scicutella, N., Camellini, C., 2008. Effects of a blend of essential oils on some end products of *in vitro* rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology* 145, 364-374.
- Stewart, C.S., 1977. Factors affecting cellulolytic activity of rumen contents. *Applied and Environmental Microbiology* 33, 497-502.
- Theurer, C.B., 1986. Grain processing effects on starch utilization by ruminants. *Journal of Animal Science* 63, 1649-1662.
- Tichenor, D.A., 1970. Effects of rate of gain, slaughter weight and castration on selected chemical, histological and organoleptic characteristics of ovine muscle and adipose tissue. *Dissertation Abstracts International. Section B. The Sciences and Engineering* 30, 3442-3443.
- Tres, A., Muzofa, F.M., Vilarrasa, E., Guardiola, F., Codony, R., 2015. Re-esterified oils from palm acid oil do not alter pork fatty acid composition. *European Journal of Lipid Science and Technology* 117, 1406-1416
- Tripathi, M.K., Chaturvedi, O.H., Karim, S.A., Singh, V.K., Sisodiya, S.L., 2007. Effect of different levels of concentrate allowances on rumen fluid pH, nutrient digestion, nitrogen retention and growth performance of weaner lambs. *Small Ruminant Research* 72, 178-186.
- Trullas, C., Fontanillas, R., Tres, A., Barroeta, A.C., Sala, R., 2016. Acid and re-esterified rapeseed oils as alternative vegetable oils for rainbow trout diets: Effects on lipid digestibility and growth. *Aquaculture* 451, 186-194.
- Turpeinen, A.A., Ylonen, N., von Willebrand, E., Basu, S., Aro, A., 2008. Immunological and metabolic effects of cis-9, trans-11-conjugated linoleic acid in subjects with birch pollen allergy. *British Journal of Nutrition* 100, 112-119.
- Uden, P., 1988. The effect of grinding and pelleting hay on digestibility, fermentation rate, digesta passage and rumen and fecal particle-size in cows. *Animal Feed Science and Technology* 19, 145-157.
- Urrutia, O., Mendizábal, J.A., Insausti, K., Soret, B., Purroy, A., Arana, A., 2015. Effect of linseed dietary supplementation on adipose tissue development, fatty acid composition, and lipogenic gene expression in lambs. *Livestock Science* 178, 345-356.
- Vahmani, P., Rolland, D.C., McAllister, T.A., Block, H.C., Proctor, S.D., Guan, L.L., Prieto, N., Aalhus, J.L., Dugan, M.E.R., 2016. Feeding steers hay with extruded flaxseed together or sequentially has a profound effect on erythrocyte trans 11-18:1 (vaccenic acid). *Canadian Journal of Animal Science* 96, 299-301.

- Van Ackeren, C., Steingaß, H., Hartung, K., Funk, R., Drochner, W., 2009. Effect of roughage level in a total mixed ration on feed intake, ruminal fermentation patterns and chewing activity of early-weaned calves with ad libitum access to grass hay. *Animal Feed Science and Technology* 153, 48-59.
- Van Nevel, C.J., Demeyer, D.I., 1996. Influence of pH on lipolysis and biohydrogenation of soybean oil by rumen contents in vitro. *Reproduction Nutrition Development* 36, 53-63.
- Van Soest, P.J., 1994. Nutritional ecology of the ruminant. Cornell University Press.
- Vieira, C., Fernández-Diez, A., Mateo, J., Bodas, R., Soto, S., Manso, T., 2012. Effects of addition of different vegetable oils to lactating dairy ewes' diet on meat quality characteristics of suckling lambs reared on the ewes' milk. *Meat Science* 91, 277-283.
- Vilarrasa, E., Tres, A., Bayes-García, L., Parella, T., Esteve-García, E., Barroeta, A.C., 2014. Re-esterified palm oils, compared to native palm oil, do not alter fat absorption, postprandial lipemia or growth performance in broiler chicks. *Lipids* 49, 795-805.
- Wachira, A.M., Sinclair, L.A., Wilkinson, R.G., Enser, M., Wood, J.D., Fisher, A.V., 2002. Effects of dietary fat source and breed on the carcass composition, n-3 polyunsaturated fatty acid and conjugated linoleic acid content of sheep meat and adipose tissue. *British Journal of Nutrition* 88, 697-709.
- Wahle, K.W.J., Heys, S.D., Rotondo, D., 2004. Conjugated linoleic acids: are they beneficial or detrimental to health? *Progress in Lipid Research* 43, 553-587.
- Wainman, F.W., Blaxter, K.L., 1972. The effect of grinding and pelleting on the nutritive value of poor quality roughages for sheep. *Journal of Agricultural Sciences* 79, 435-455.
- Wallace, R.J., McKain, N., Shingfield, K.J., Devillard, E., 2007. Isomers of conjugated linoleic acids are synthesized via different mechanisms in ruminal digesta and bacteria. *Journal of Lipid Research* 48, 2247-2254.
- Wang, Y., Jacome-Sosa, M.M., Proctor, S.D., 2012. The role of ruminant trans fat as a potential nutraceutical in the prevention of cardiovascular disease. *Food Research International* 46, 460-468.
- Wedekind, K.J., Muntifering, R.B., Barker, K.B., 1986. Effects of diet concentrate level and sodium bicarbonate on site and extent of forage fiber digestion in the gastrointestinal tract of wethers. *Journal of Animal Science* 62, 1388-1395.
- Weir, W.C., Meyer, J.H., Garrett, W.N., Lofgreen, G.P., Ittner, N.R., 1959. Pelleted rations compared to similar rations fed chopped or ground for steers and lambs. *Journal of Animal Science* 18, 805-814.
- West, J.W., Haydon, K.D., Mullinix, B.G., Sandifer, T.G., 1992. Dietary cation-anion balance and cation source effects on production and acid-base status of heat-stressed cows. *Journal of Dairy Science* 75, 2776-2786.
- Wilkins, R.J., Tetlow, R.M., Forrest, T.J., Lonsdale, C.R., 1972. Voluntary intake and digestibility by cattle and sheep of dried grass wafers containing particles of different size. *Animal Production* 14(02), 177-188.
- Wood, J.D., Enser, M., Fisher, A.V., Nute, G.R., Richardson, R.I., Sheard, P.R., 1999. Manipulating meat quality and composition. *Proceedings of the Nutrition Society* 58, 363-370.
- Wood, J.D., Enser, M., Fisher, A.V., Nute, G.R., Sheard, P.R., Richardson, R.I., Hughes, S.I., Whittington, F.M., 2008. Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Science* 78, 343-358.

- 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, 21-32.
- Wu, G., Farouk, M.M., Clerens, S., Rosenvold, K., 2014. Effect of beef ultimate pH and large structural protein changes with aging on meat tenderness. *Meat Science* 98, 637-645.
- Yang, W.Z., Beauchemin, K.A., Rode, L.M., 2001. Effects of grain processing, forage to concentrate ratio, and forage particle size on rumen pH and digestion by dairy cows. *Journal of Dairy Science* 84, 2203-2216.
- Yani, S., Ishida, K., Goda, S., Azumai, S., Murakami, T., Kitagawa, M., Okano, K., Oishi, K., Hirooka, H., Kumagai, H., 2015. Effects of utilization of local food by-products as total mixed ration silage materials on fermentation quality and intake, digestibility, rumen condition and nitrogen availability in sheep. *Animal Science Journal* 86, 174-180.
- Yeates, N.T.M., Edey, T.N., Hill, M.K., 1975. The definition and measurement of meat quality. *Tenderness*. Animal Science, Pergamon Press, London.
- Zervás, G., Fegeros, K., Koytsotolis, K., Goulas, C., Mantzios, A., 1998. Soy hulls as a replacement for maize in lactating dairy ewe diets with or without dietary fat supplements. *Animal Feed Science and Technology* 76, 65-75.
- Zervás, G., Tsiplakou, E., 2011. The effect of feeding systems on the characteristics of products from small ruminants. *Small Ruminant Research* 101, 140-149.
- Zhao, T., Ma, Y., Qu, Y., Luo, H., Liu, K., Zuo, Z., Lu, X., 2016. Effect of dietary oil sources on fatty acid composition of ruminal digesta and populations of specific bacteria involved in hydrogenation of 18-carbon unsaturated fatty acid in finishing lambs. *Small Ruminant Research* 144, 126-134.
- Zinn, R.A., 1989. Influence of level and source of dietary fat on its comparative feeding value in finishing diets for feedlot steers: metabolism. *Journal of Animal Science* 67(4), 1038-1049.
- Zinn, R.A., 1992. Comparative feeding value of supplemental fat in steam-flaked corn-based and steam-flaked wheat-based finishing diets for feedlot steers. *Journal of Animal Science* 70, 2959-2969.

Capítulo I

Concentrate plus ground barley straw pellets can replace
conventional feeding systems for light fattening lambs

Publicado en: Small Ruminant Research

Concentrate plus ground barley straw pellets can replace conventional feeding systems for light fattening lambs

C. Blanco, R. Bodas*, N. Prieto, S. Andrés, S. López, F.J. Giráldez

Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-Universidad de León), E-24346 Grulleros, León, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 3 August 2013

Received in revised form 8 November 2013

Accepted 9 November 2013

Available online 18 November 2013

Keywords:

Barley straw

Carcass

Lamb

Performance

Total mixed ration

ABSTRACT

Forty male Merino lambs (6–8 weeks old and 14.1 ± 0.20 kg body weight, BW) were used to compare the traditional feeding system for this animal, based on concentrate and long form barley supplied separately, with total mixed ration (TMR) pellets including different proportions of ground barley straw, for their effects on feed intake, animal performance and carcass and meat characteristics. Lambs were divided into four experimental groups ($n = 10$), each randomly assigned to one dietary treatment: Control (conventional system: long form barley straw and concentrate feed in separated feeding troughs), F05 (TMR pellet including 50 g barley straw/kg), F15 (TMR pellet including 150 g barley straw/kg) and F25 (TMR pellet including 250 g barley straw/kg). Lambs were fed the corresponding diet *ad libitum*. On days 22–26, feces and urine were collected from four animals per group. When animals reached 27 kg BW, they were slaughtered. Barley straw, total dry matter (DM), crude protein (CP), neutral detergent (NDF) and acid detergent (ADF) fiber and metabolizable energy intake linearly increased ($P < 0.001$) with the level of barley straw in the TMR. Dry matter digestibility decreased as barley straw in the diet increased, but NDF and ADF digestibility and N-balance were not affected ($P > 0.10$). F25 lambs had the greatest and F05 the smallest ($P = 0.002$) values of average daily gain, but the feed to gain ratio was not significantly affected by the dietary treatments ($P = 0.172$). Abomasum-intestine content weight linearly increased with barley straw in the TMR ($P = 0.041$). Neither carcass (carcass weight, chilling losses, dressing percentage, conformation, measurements, fat thickness or jointing into commercial cuts) nor meat characteristics (pH, fat and meat color, cooking losses and texture) were affected by the level of barley straw in the TMR ($P > 0.10$). Therefore, it is possible to fatten light lambs on a TMR pellet including ground barley straw by increasing average daily gain and reducing the fattening period, without any negative impact on carcass and meat characteristics.

© 2013 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

In the Mediterranean countries, sheep meat production is derived from young animals (up to 30 kg live weight, less than 5 months old), lighter and paler than that from the

northern European regions (Sañudo et al., 1998, 2007). To promote high growth rates during this phase, the conventional feeding system is based in the supply of concentrated rations *ad libitum* supplemented with straw (usually from barley, coarsely chopped or in long form), which is an inexpensive source of fiber intended to mitigate the metabolic disorders, such as acidosis, associated to high consumption of concentrates (Bodas et al., 2010; Rodríguez et al., 2008; Sañudo et al., 1998). Even though barley straw is supplied *ad libitum*, its consumption is usually below 10% of total dry matter intake (Bodas et al., 2010; López-Campos et al., 2011), and it requires a high storage capacity and increases

* Corresponding author at: Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León, Finca Zamadueñas, Ctra. Burgos km 119, E-47071 Valladolid, Spain. Tel.: +34 983 317 386.

E-mail addresses: bodrodra@itacyl.es, bodasraul@gmail.com (R. Bodas).

labor costs, because this source of fiber must be supplied to the animals manually (Pérez-Torres et al., 2011).

The use of rations devoid of barley straw has been already proposed, but the system has been demonstrated to be neither economically nor ecologically competitive, whereas the problems associated to the high concentrate intake still persist (Cooper et al., 1996; Rodríguez et al., 2007). The design of a feeding system based on the use of a concentrate pellet which includes a proportion of ground straw (total mixed ration – TMR-pellet) can be regarded as an interesting alternative to maintain this ingredient in the ration while avoiding the storage and distribution problems associated with its manipulation, because it would allow automatic delivery of the feed while reducing labor and storage costs, and hence farm profit would be increased. Thus, the use of TMR automatically delivered to the troughs for small ruminants has become the usual practice in dairy sheep and goats due to its reduced labor and storage costs (Pérez-Torres et al., 2011; Tufarelli et al., 2011). However, these animals can consume thicker pellets than young lambs (thus allowing a larger forage grinding size) and forage contents is greater than the ratio required to maintain an optimal growth rate and lamb performance (Bodas et al., 2010; López-Campos et al., 2011; Sañudo et al., 1998).

The particle size or dietary physical effective fiber is an important influential factor for chewing activity, intestinal fiber and starch digestibility and ruminal pH (Zhao et al., 2011). Hence, the proportion of ground straw to be included in the pellet could be higher than the amount of long form straw that the animals consume in the conventional system, but must be kept within a limit, in order to maintain the superior performances in fattening lambs fed on diets based on concentrates (Bodas et al., 2007, 2010). Likewise, it is known that the level and way of supply of fiber in the diet have a clear effect on carcass and meat characteristics (Al-Saiady et al., 2010; Bas and Morand-Fehr, 2000; Bodas et al., 2007, Normand et al., 2001) that must not be overlooked. Therefore, it will be necessary to determine the optimum level of straw that has to be included in the pellet.

To the best of our knowledge, there are no published studies comparing the conventional feeding system for light fattening lambs with an alternative one based on concentrate pellets including a ground forage source that

can be fully automatically delivered to the animals. We hypothesize that the use of *ad libitum* concentrate plus ground barley straw pellets (TMR), which would ease feed management and distribution, is a suitable alternative to the conventional feeding system for light fattening lambs. Therefore, the objective of this study was to compare the latter (based on concentrate and long form barley supplied separately) with pelleted TMRs including different proportions of ground barley straw for their effects on feed intake, animal performance and carcass and meat characteristics.

2. Materials and methods

2.1. Animals and diets

Forty male Merino lambs (6–8 weeks old and mean BW 14.1 ± 0.20 kg at the beginning of the experiment) were used in this study. Lambs remained with their dams, with free access to commercial starter concentrate and alfalfa hay, and were treated to prevent white muscle disease (Vitasel, Lab. Ovejero, Spain), vaccinated against enterotoxemia (Miloxan, Merial Lab., Spain) and given an anthelmintic treatment (Ivomec, Merial Lab., Spain) before the commencement of the trial. After weaning, lambs were randomized on the basis of BW, each lamb being randomly allocated to one of four experimental treatments ($n = 10$), according to the feeding system: Control (conventional system: long form barley straw and concentrate pellet in separated feeding troughs), F05 (TMR pellet including 50 g barley straw/kg), F15 (TMR pellet including 150 g barley straw/kg) and F25 (TMR pellet including 250 g barley straw/kg). Barley straw to be included in the pellets was ground to pass a 2 mm screen, mixed with the rest of ingredients and steam pelleted (85°C , 4 bar) to 4 mm $\times$ 10 mm (diameter $\times$ length) pellets. Lambs were housed in individual pens (one lamb per pen, with individual feeding and watering troughs), where they remained during the entire experimental period.

After five days of adaptation to the diets, each lamb was individually fed the corresponding experimental diet *ad libitum*; fresh drinking water was provided. The ingredients and chemical composition of the feeds are shown in Table 1. The amount of feed offered was adjusted daily on the basis of the previous day's intake, allowing refusals of ca. 200 g/kg feed offered. Samples of the feeds offered and orts were collected daily and pooled in weekly composites for each animal analyzed for DM content.

All handling practices followed the recommendations of the Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council on the protection of animals used for scientific purposes, and all of the animals used were able to see and hear each other.

2.2. Feces and urine collection

On day 19 of the experimental period, four lambs per treatment were confined to individual metabolism cages fitted with specific devices to collect feces and urine separately. The number of animals used was the minimum we considered necessary according to both statistical and welfare criteria. After two days of adaptation to the cages, feces and urine were collected for 5 days. The feces of each animal were collected daily,

Table 1
Ingredients and chemical composition of the experimental feeds and the barley straw.

	Control	F05	F15	F25	Barley straw
Ingredients (g/kg)					
Barley	530	490	433	388	
Corn	230	210	150	80	
Soybean meal 44	210	220	237	252	
Barley straw	–	50	150	250	
Mineral vitamin mix	30	30	30	30	
Chemical composition (g/kg DM)					
NDF	166	196	259	323	626
ADF	58	59	94	138	413
CP	182	181	181	181	47
Ash	63	60	73	83	104
Metabolizable energy (kcal/kg DM) ^a	2744	2662	2495	2328	1200

^a Calculated from feed composition tables (FEDNA, 2010).

weighed, mixed thoroughly and sampled (10%). Aliquots from each lamb were pooled and stored at -30°C until analysis. Urine was collected into a solution of H_2SO_4 (100 ml/l) to maintain the pH below 3. Daily urine was weighed, its density was measured and a sample (20%) from each lamb was taken. Daily samples were pooled to form composite samples and stored at -30°C until analysis.

2.3. Slaughter procedure

Body weight was recorded twice a week, before the morning feeding, until the lambs reached the intended slaughter BW (27 kg BW). When an animal reached the intended BW, feed and water were withdrawn, and after 1 h the lamb was weighed again. The animal was immediately stunned and slaughtered by exsanguination from the jugular vein, eviscerated and skinned. The dressed carcass (Colomer-Rocher et al., 1988) was obtained from the whole body of each lamb and weighed. The carcass was chilled at 4°C for 24 h and then weighed again; the chilling losses were calculated as the difference between hot (HCW) and cold carcass weights (CCW), expressed as a proportion of the initial HCW. The dressing percentage was calculated as CCW and expressed as the proportion of BW recorded just before slaughtering. Some carcass dimensions (carcass internal length (L), pelvic limb length (F) and buttock perimeter (B)) were measured and indices of carcass compactness (CCW/L , kg/cm) and leg compactness (G/F , g/cm) were calculated (Boccard et al., 1964). Carcass conformation, fatness score, consistency of fat, pelvic fat depot and meat and fat color were also assessed as described by Colomer-Rocher et al. (1988). The left side of each carcass was jointed into commercial cuts according to Colomer-Rocher et al. (1988); each joint was weighed to assess its proportion in the carcass.

2.4. Rumen samples and digestive tract characteristics

Once the white offal was obtained, full and empty weight of the reticulum-rumen-omasum and abomasum-intestine portions was recorded. Rumen fluid samples from each animal were collected and strained through two layers of cheese cloth and the pH was determined.

2.5. Meat measurements

Meat quality was evaluated in the *M. longissimus thoracis et lumborum* (LTL) of the left half carcass. Thus, at 0 and 45 min post-mortem, pH was measured on the sixth rib using a pHmeter (Metrohm, Zofingen, Switzerland), equipped with a penetrating electrode and a temperature probe. At 24 h, the rib joint (from the sixth rib-onwards) was cut at the

level of the 13th rib, and pH and color were measured at the sixth rib site. The CIELAB system (Commission Internationale de l'Éclairage, 1986) was used to determine color parameters using a Minolta CM-2002 chromameter (Konica-Minolta Sensing, Inc., Germany). Chroma and Hue were calculated using CIE $L^*a^*b^*$ coordinates ($D65$, 10°). The LTL was dissected and weighed and a subsample of *M. longissimus lumborum* was stored at -30°C until cooking losses and instrumental texture measurements were performed. The cooking losses were calculated on thawed meat samples, by cooking in a 75°C water bath until the center of the sample reached 70°C . Cooked muscle cores with a cross section of 10 mm^2 and 20 mm in length were cut parallel to the muscle fibers and the shear force was measured using a Warner-Bratzler device mounted on a Texture Analyzer QTS 25 (CNS Farnell, Borehamwood, UK). *M. longissimus lumborum* was stored at -30°C until the chemical analyses were performed.

2.6. Analytical procedures

The procedures described by AOAC (2003) were used to determine DM, ash and CP content in the feed, feces and *M. longissimus thoracis* samples. ADF and NDF were determined in feed samples using the method of Van Soest et al. (1991).

2.7. Calculations and statistical analysis

Average daily weight gain was estimated as the regression coefficient (slope) of BW against time using the REG procedure of the SAS package (SAS Inst. Inc., Cary, NC). Feed to gain ratio was estimated by regression as the inverse of the slope of BW against cumulative feed intake. The data were subjected to analysis of variance with the diet as the fixed effect and the animal as the random effect, using the MIXED procedure of SAS. Animal was considered as the experimental unit, thus allowing 10 replicates for each treatment. Linear and quadratic contrasts for F05, F15 and F25 groups were used to test the effects of level of barley straw inclusion, but given that almost no quadratic contrast was significant, only linear contrasts are shown in tables.

3. Results

Total DM intake increased with the level of inclusion of barley straw in the TMR, with F05 and Control lambs having the lowest values of total dry matter (DM), crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF) and metabolizable energy intake (Table 2,

Table 2

Mean values of DM, CP, NDF and ADF intake and digestibility, metabolizable energy intake, average daily gain, fattening period and feed to gain ratio of lambs receiving concentrate and barley straw separately (Control) or a TMR with 50, 150 and 250 g barley straw per kg (F05, F15 and F25, respectively).

	Control	F05	F15	F25	s.e.m.	P-value	LIN
Intake (g/animal and day)							
Concentrate DM ^a	790	751	779	792	20.6	0.478	0.137
Barley straw DM ^b	27a	40b	138c	264d	4.1	<0.001	<0.001
Total DM	817a	791a	916b	1056c	74.0	<0.001	<0.001
CP	145a	144a	166b	191c	13.4	<0.001	<0.001
NDF	148a	156a	237b	341c	18.9	<0.001	<0.001
ADF	57a	47a	86b	146c	7.7	<0.001	<0.001
Metabolizable energy (kcal/animal and day)	2201a	2122a	2286a	2459b	188.4	0.002	<0.001
Digestibility coefficients (g/g)							
DM	0.79ab	0.82a	0.76bc	0.71c	0.011	0.006	0.281
CP	0.73	0.78	0.77	0.75	0.014	0.428	0.247
NDF	0.38	0.40	0.39	0.41	0.035	0.983	0.875
ADF	0.36	0.31	0.33	0.35	0.038	0.926	0.753
Nitrogen balance (g/animal and day)	14.5	14.2	17.1	20.9	1.29	0.127	0.395
Average daily gain (g/day)	299ab	280a	339ab	353b	14.7	0.003	0.002
Fattening period (days)	44.4ab	46.8a	39.9ab	37.6b	2.47	0.050	0.013
Feed:gain (g/g)	2.76	2.89	2.74	3.03	0.103	0.172	0.389
Price of the diet (as ingested, €/kg)	0.353	0.347	0.337	0.328	–	–	–
Estimated feed costs (€/lamb)	12.7	13.0	12.0	12.9	0.692	0.835	0.584

s.e.m. = standard error of the mean; P-value = considering all the groups; LIN = linear contrast for F05, F15 and F25 groups.

^a Concentrate: supplied in the feeding trough (Control lambs) or the portion of TMR that is not barley straw (F05, F15 and F25 animals).

^b Barley straw intake, measured as ingested from the feeding trough (Control lambs) or calculated from TMR composition (F05, F15 and F25 lambs). Within the same row, different letters (a–d) indicate significant differences for the comparison of all the groups ($P < 0.05$).

Table 3

Mean weight of empty digestive tract (reticulum-rumen, omasum, abomasum-intestine) and digestive tract contents of lambs receiving concentrate and barley straw separately (Control) or a TMR with 50, 150 and 250 g barley straw per kg (F05, F15 and F25, respectively).

	Control	F05	F15	F25	s.e.m.	P-value	LIN
Digestive tract contents weight (g)							
Rumen-reticulum-omasum	2634	2549	2613	2642	159.1	0.976	0.701
Abomasum-intestine	1593	1529	1769	1799	85.6	0.086	0.041
Total	2456	2582	2660	2628	60.3	0.104	0.613
Empty digestive tract weight (g)							
Rumen-reticulum-omasum	788	903	868	844	36.2	0.169	0.316
Abomasum-intestine	1668	1679	1792	1784	53.0	0.216	0.183
Total	4227	4078	4381	4441	185.8	0.518	0.187
Total/empty body weight (g/kg)	107.8	112.0	115.8	115.4	2.62	0.128	0.378

s.e.m. = standard error of the mean; P-value = considering all the groups; LIN = linear contrast for F05, F15 and F25 groups.

$P < 0.001$). Barley straw intake (measured in the feeding trough or calculated from TMR composition and intake) significantly increased with the level of inclusion ($P < 0.001$). Control lambs had the lowest values, whereas concentrate intake was the same for all groups ($P = 0.939$). Barley straw, total DM, CP, NDF, ADF and metabolizable energy intake increased linearly with the level of barley straw in the TMR ($P < 0.001$) (Table 2).

DM digestibility decreased as the level of inclusion of barley straw in the diet increased, with Control lambs showing intermediate values between F05 and F15 animals ($P = 0.006$). Values of NDF and ADF digestibility and N-balance were not affected by barley straw inclusion ($P > 0.10$). As for animal performance, F25 had the greatest and F05 the lowest values of average daily gain ($P = 0.003$), which led to F25 animals to have the shortest and F05 animals to have the longest fattening period ($P = 0.050$). Feed

to gain ratio was not significantly affected by dietary treatments ($P = 0.172$).

The empty weight of the rumen-reticulum-omasum and abomasum-intestine portions was not affected by barley straw inclusion ($P > 0.10$, Table 3), nor was the weight of rumen content. However, abomasum-intestine content weight linearly increased with barley straw in the TMR ($P = 0.041$).

Cold carcass weight, chilling losses and dressing percentage were not significantly affected by dietary treatments ($P > 0.10$). None of the carcass characteristics studied (carcass conformation, measurements, fat thickness or jointing into commercial cuts; Table 4) was affected by the level of addition of barley straw to the TMR ($P > 0.10$).

Table 5 shows that data regarding meat characteristics (pH, fat and meat color, cooking losses and texture) were not significantly affected by dietary treatments ($P > 0.10$).

Table 4

Mean values of carcass characteristics of lambs receiving concentrate and barley straw separately (Control) or a TMR with 50, 150 and 250 g barley straw per kg (F05, F15 and F25, respectively).

	Control	F05	F15	F25	s.e.m.	P-value	LIN
Cold carcass weight (CCW, kg)	12.0	12.3	12.0	12.1	0.21	0.853	0.555
Chilling losses (%)	2.47	2.64	2.50	2.66	0.134	0.698	0.915
Dressing percentage	44.5	45.1	44.0	44.3	0.62	0.615	0.380
Kidney knob and cannell fat (g)	156	178	139	182	17.3	0.279	0.878
Carcass conformation (1, poor to 5, excellent)	3.1	2.9	2.7	2.8	0.23	0.630	0.677
Fatness score (1, very lean to 4, very fat)	2.4	2.1	2.5	2.1	0.64	0.340	1.000
Meat color (1, white to 5, intense red)	2.6	2.4	2.8	2.6	0.23	0.794	0.580
Pelvic fat (1, lean to 3, very fat)	1.7	1.7	1.5	1.4	0.68	0.737	0.409
Fat color (1, white to 5, yellow)	2.4	2.8	2.5	2.8	0.18	0.444	1.000
Consistency of fat (1, firm to 3, soft)	1.3	1.0	1.2	1.5	0.46	0.179	0.043
Pelvic limb length (F, cm)	28.1	28.0	27.2	28.1	0.55	0.587	0.889
Carcass internal length (L, cm)	56.1	55.8	55.8	55.2	0.45	0.566	0.453
Buttock perimeter (cm)	54.2	55.0	58.2	54.4	2.13	0.523	0.875
Subcutaneous fat thickness (mm)	1.32	1.42	1.52	1.23	0.175	0.677	0.444
Commercial cuts (%)							
Shoulder	20.1	20.2	19.8	20.4	0.32	0.656	0.723
Loin-rib	15.3	17.0	15.6	15.7	0.66	0.317	0.160
Best-end	5.1	5.1	5.2	4.7	0.36	0.768	0.300
Tail	1.4	1.3	1.1	1.4	0.10	0.360	0.440
Scrag-end	9.7	9.3	9.6	9.1	0.22	0.151	0.607
Breast-flank	11.4	10.6	12.0	11.4	0.39	0.116	0.148
Leg	37.0	36.6	36.7	37.4	0.52	0.700	0.239
Carcass compactness index (CCW/L, kg/cm)	0.215	0.220	0.216	0.219	0.0037	0.768	0.898
Leg compactness index (leg weight/F, g/cm)	77.7	79.3	80.0	79.5	2.03	0.859	0.964
Fat color							
L*	66.3	66.3	67.3	65.8	1.08	0.787	0.718
a*	3.2	3.3	2.8	3.4	0.36	0.629	0.825
b*	14.9	14.2	16.0	16.5	0.88	0.260	0.084

s.e.m. = standard error of the mean; P-value = considering all the groups; LIN = linear contrast for F05, F15 and F25 groups.

Table 5

Mean values of meat characteristics of lambs receiving concentrate and barley straw separately (Control) or a TMR with 50, 150 and 250 g barley straw per kg (F05, F15 and F25, respectively).

	Control	F05	F15	F25	s.e.m.	P-value	LIN
pH							
0 h	6.44	6.41	6.53	6.54	0.037	0.093	0.071
45 min	6.12	6.21	6.27	6.29	0.065	0.292	0.414
24 h	5.75	5.75	5.72	5.72	0.058	0.969	0.746
Meat color (1, white to 5, intense red)	2.6	2.4	2.8	2.6	0.23	0.794	0.580
<i>Rectus abdominis</i> color							
L*	49.9	48.8	50.5	48.4	1.14	0.574	0.811
a*	8.9	8.0	8.3	8.6	0.47	0.560	0.352
b*	12.0	9.9	13.5	12.8	1.51	0.375	0.176
<i>Longissimus dorsi</i> characteristics							
Color							
L*	37.8	37.4	37.7	36.4	0.63	0.420	0.312
a*	8.6	8.2	8.2	8.4	0.52	0.947	0.795
b*	19.1	16.1	20.0	20.7	1.58	0.229	0.046
Cooking losses (%)	24.6	25.5	25.1	23.1	0.90	0.365	0.117
Texture							
Shear force (kg)	72.9	75.3	74.5	74.7	4.54	0.987	0.937
Area (kg/s)	640	592	597	637	54.8	0.899	0.579
Chemical composition (g/kg meat)							
DM	228.2	229.1	229.2	226.7	2.13	0.824	0.450
Ash	16.6	17.0	15.7	16.0	1.33	0.898	0.594
CP	193.5	195.1	195.9	194.7	2.25	0.891	0.882
Ether extract	18.2	16.9	17.6	16.0	1.50	0.750	0.671

s.e.m. = standard error of the mean; P-value = considering all the groups; LIN = linear contrast for F05, F15 and F25 groups.

4. Discussion

The use of TMR compared to supplying concentrate and barley straw separately presents the advantage of reducing feed manipulation, feeding time and labor costs. In addition, the price of the diet (as ingested) decreased as the level of straw increases; however, the gap observed between the F05 and F15 groups in the estimated feed costs did not attain the level of statistical significance required to be considered a difference (Table 2).

Although TMR have been (and still are) extensively used for dairy sheep, their use in fattening lambs is still incipient, based on forages of higher quality than barley straw and with proportions of forage higher than those used in the present study (Tufarelli et al., 2011).

Finishing ruminants such as fattening lambs are fed high concentrate diets to promote high daily gains (Mialon et al., 2008). This kind of diet can depress ruminal pH (Mould and Orskov, 1983), and a minimum level of fiber in the diet is needed to avoid digestive disorders, such as acidosis (Giger-Reverdin and Sauvant, 1991; Sauvant et al., 1999). The objective of including forage in the TMR is to supply a diet with a high proportion of cereal grains to maximize energy intake while maintaining ruminal activity.

In the present study, as barley straw increased in the TMR pellets, there was an increase in total DM intake. Even though there are no studies in light lambs, these results are in line with the findings of Papi et al. (2011), who carried out an experiment with lambs heavier (from 38 to 60 kg LBW) than those used in the present experiment (from 14 to 27 kg LBW) and reported an increase in DM intake as the forage proportion increased in the diet. This fact can be attributed to the regulatory effect of dietary energy and the reduction

in DM digestibility as the level of forage increases. Indeed, previous studies (using animals from 30 to 36 kg LBW) have also reported increasing effects of high forage diets on DM intake (McLeod and Baldwin, 2000). In the present study, total DM intake increased while the level of intake of the concentrated part of the TMR pellets (calculated by subtracting the corresponding barley straw intake from the total TMR intake) was constant, which can be interpreted as an attempt to maximize ME intake. This fact would support the idea that animals eat food mainly to satisfy their desire for energy (Van Soest et al., 1984). It is noteworthy that those animals in the Control group, which received barley straw *ad libitum*, showed a barley intake proportion of 3.3% of total DM intake, which is quite close to that of group F05. Additionally, animals from these two groups had similar DM and ME intakes.

In contrast to our results, other authors have reported decreases in average daily gain of kids and lambs as forage increased in the diet (Carrasco et al., 2009a; Johnson et al., 2010; Papi et al., 2011; Tufarelli et al., 2011), but the lowest level of forage used in these diets was higher than the highest one used in the present study (25%). In our study, all the animals maximized ME intakes, which allowed them to express their potential and maximize growth rates. Likewise, the higher DM intakes shown by lambs in the F15 and F25 groups gave raise to higher average daily gains and a shorter fattening period than Control or F05 lambs.

Despite the lack of statistically significant differences, the feed to gain ratio was a 10% worse for F25 lambs, with F15 and Control lambs showing the best values, which agrees with previous studies pointing out a decrease in animal performance as forage in the diet increased (Carrasco et al., 2009a; Tufarelli et al., 2011).

The level of forage in the diet is widely known to affect digestibility, and as the level of concentrate in the diet increases, so does DM and OM digestibility (Archimede et al., 2008; Cantalapiedra-Hijar et al., 2009). However, the effect of the forage to concentrate ratio on digestibility of other components is still controversial, with some researchers suggesting that CP digestibility might be not affected (Molina-Alcaide et al., 2000) or even increased (Ramanzin et al., 1997), while fiber digestibility is usually reduced (Castrillo et al., 1995). The results of the present study, however, show no differences in fiber or CP digestibility due to the level of forage in the diet, while DM digestibility significantly decreased with increased barley straw proportion in the TMR pellet. This decrease in DM digestibility has been previously observed in other experiments where a source of fiber was added to a high-concentrate diet, because of the low digestibility of the fibrous part of the diet, which would accordingly reduce DM digestibility (Castrillo et al., 1995; Cecava et al., 1991; Haddad, 2005).

It is important to say that, in the present study, despite the increase in straw intake, differences in ruminal pH values (5.57 ± 0.076) were not observed, nor were clinical symptoms of acidosis, which suggests that lambs likely did not experience discomfort due to decreased ruminal pH (Commun et al., 2009). It must be taken into account, however, that these values were taken just after slaughter and, therefore, are not indicative of variations along day.

A high level of barley straw intake, and hence of fiber, could also reduce the efficiency of ME for tissue gain, because of an elevation in heat production (Reynolds et al., 1991) or in the weight of the portal drained viscera (McLeod and Baldwin, 2000). Some authors have suggested that gastro-intestinal tract weight increases with the use of high forage diets, which would eventually be reflected in a reduced dressing percentage (Carrasco et al., 2009a; Papi et al., 2011). However, in our study, despite the numerical differences observed in digestive tract weight, there were no significant effects of diet on this parameter (even when it was expressed as a proportion of live or empty body weight), with the exception of the abomasum-intestine, which increased with the level of barley straw in the diet. Although the relatively short fattening period could have diminished the differences in gastrointestinal tract weight, variations in the forage content of the diet have an effect on this parameter due to differences in ME intake (McLeod and Baldwin, 2000). Groups in the present study differed in terms of forage intake, but it must be pointed out that the highest level used in this study is lower than that in studies reporting differences in digestive tract weight (McLeod and Baldwin, 2000; Carrasco et al., 2009a; Papi et al., 2011).

The values of carcass traits observed in the present study are within the range of those reported in the literature for lambs of similar characteristics (Carrasco et al., 2009a; Bodas et al., 2010; López-Campos et al., 2011). The feeding system and the level of forage is known to affect carcass characteristics (Zervas and Tsiplakou, 2011), but the main differences are observed between extreme concentrate to forage ratios (fed indoors on concentrate vs. fed outdoors on pasture) (Carrasco et al., 2009a; Joy et al., 2008). The level of forage and the characteristics of the diets used in the

current study did not cause significant differences in carcass weight or conformation. Previous studies have shown that the use of high forage diets for finishing lambs usually produces a carcass with a slightly inferior conformation and fatness score and a low amount of fat depots, which is directly related to energy intake (Carrasco et al., 2009a; Joy et al., 2008). In the present study, however, all the lambs were fed *ad libitum* and had high ME intakes. Moreover, the diets offered to the animals were isonitrogenous, which caused an increase in CP intake as discussed previously. Thus, CP and ME intake was high enough so that all the lambs had the desired carcass conformation and fatness score.

Likewise, the lack of differences in the proportion of the commercial joints is in concordance with the results observed for the other carcass characteristics and agrees with previous studies (Carrasco et al., 2009a). When lambs with similar characteristics to those in the present study were slaughtered at a fixed live weight, commercial joint proportions were more affected by slight variations in the slaughter weight than for the feeding system applied to the lambs (Carrasco et al., 2009a). Only when feeding systems are completely different (fed indoors on concentrate vs. fed outdoors on pasture) and when animals are slaughtered at a fixed age, differences in carcass characteristics (undesirable carcass conformation, reduced fatness, changes in the proportion of commercial joints) are likely to appear (Jabbar and Anjum, 2008; Joy et al., 2008; Papi et al., 2011).

The values of meat traits studied in the present work are within those reported by Diaz et al. (2002) or López-Campos et al. (2011) for lambs raised under similar conditions. Feeding systems and the level of forage in the diet may affect these parameters, in particular when high proportions of forage (even good quality forage) are used and energy intake and growth rate are affected (Carrasco et al., 2009b; Joy et al., 2008; Zervas and Tsiplakou, 2011). In the present study, ground straw inclusion did not reduce energy intake or average daily gain, which could help to explain the lack of differences. Additionally, the effects of feeding systems on some meat traits, such as cooking losses, are usually due to differences in fat cover, whereas the differences in texture parameters are more difficult to explain, as the results from different studies are sometimes contradictory (Carrasco et al., 2009b).

5. Conclusions

The results of the present study suggest that it is possible to successfully fatten light lambs on a feeding system based on TMR pellet that can be automatically delivered, while increasing ADG and reducing the fattening period without a negative impact on carcass and meat characteristics. Animals receiving 50 g barley straw/kg TMR pellet showed the longest fattening period and the lowest ADG values. Our data show that there is no effect on animal and economic performance of inclusion of straw in a TMR up to 250 g/kg DM.

Acknowledgements

Financial support received from the Spanish Ministry of Science and Innovation, Project AGL2010-19094. Carolina

Blanco was supported by a predoctoral contract (Junta de Castilla y León – European Social Fund); Raúl Bodas and Nuria Prieto had a JAE-Doc contract under the program 'Junta para la Ampliación de Estudios' (CSIC-European Social Fund).

References

- Al-Saiady, M.Y., Abouheif, M.A., Aziz Makkawi, A., Ibrahim, H.A., Al-Owaimer, A.N., 2010. Impact of particle length of Alfalfa Hay in the diet of growing lambs on performance, digestion and carcass characteristics. *Asian Aust. J. Anim. Sci.* 23, 475–482.
- AOAC, 2003. *Official Methods of Analysis*, 17th ed. Association of Analytical Chemists, Gaithersburg, MD.
- Archimede, H., Pellonde, P., Despois, P., Etienne, T., Alexandre, G., 2008. Growth performances and carcass traits of Ovin Martinik lambs fed various ratios of tropical forage to concentrate under intensive conditions. *Small Rumin. Res.* 75, 162–170.
- Bas, P., Morand-Fehr, P., 2000. Effect of nutritional factors on fatty acid composition of lamb fat deposits. *Livest. Prod. Sci.* 64, 61–79.
- Boccard, R., Dumont, B.L., Peyron, C., 1964. Étude de la production de la viande chez les ovins VII—Relations entre les dimensions de la carcasse d'agneau. *Ann. Zootech.* 13, 367–378.
- Bodas, R., López, S., Rodríguez, A.B., Andrés, S., Mantecón, A.R., Giráldez, F.J., 2010. Feed intake, digestibility, and carcass characteristics of lambs fed a diet supplemented with soluble fibre. *Anim. Prod. Sci.* 50, 45–51.
- Bodas, R., Rodríguez, A.B., López, S., Fernández, B., Mantecón, A.R., Giráldez, F.J., 2007. Effects of the inclusion of sodium bicarbonate and sugar beet pulp in the concentrate for fattening lambs on acid–base status and meat characteristics. *Meat Sci.* 77, 696–702.
- Cantalapiedra-Hijar, G., Yáñez-Ruiz, D.R., Martín-García, A.I., Molina-Alcaide, E., 2009. Effects of forage: concentrate ratio and forage type on apparent digestibility, ruminal fermentation, and microbial growth in goats. *J. Anim. Sci.* E 87, 622–631.
- Carrasco, S., Panea, B., Ripoll, G., Sanz, A., Joy, M., 2009a. Influence of feeding systems on cortisol levels, fat colour and instrumental meat quality in light lambs. *Meat Sci.* 83, 50–56.
- Carrasco, S., Ripoll, G., Sanz, A., Álvarez-Rodríguez, J., Panea, B., Revilla, R., Joy, M., 2009b. Effect of feeding system on growth and carcass characteristics of Churra Tensina light lambs. *Livest. Sci.* 121, 56–63.
- Castrillo, C., Fondevila, M., Guada, J.A., De Vega, A., 1995. Effect of ammonia treatment and carbohydrate supplementation on the intake and digestibility of barley straw diets by sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.* 51, 73–90.
- Cecava, M.J., Merchen, N.R., Berger, L.L., Mackie, R.I., Fahey Jr., G.C., 1991. Effects of dietary energy level and protein source on nutrient digestion and ruminal nitrogen metabolism in steers. *J. Anim. Sci.* 69, 2230–2243.
- Colomer-Rocher, F., Morand-Fehr, P., Kirton, A.H., Delfa, R., Sierra-Alfranca, I., 1988. Método normalizado para el estudio de los caracteres cuantitativos y cualitativos de las canales ovinas producidas en el área Mediterránea, según los sistemas de producción. *Cuadernos del INIA* 17, 19–41.
- Commission Internationale de l'Éclairage, 1986. *Colorimetry*, 2nd ed. CIE Publications, Vienna.
- Commun, L., Mialon, M.M., Martin, C., Baumont, R., Veissier, I., 2009. Risk of subacute ruminal acidosis in sheep with separate access to forage and concentrate. *J. Anim. Sci.* 87, 3372–3379.
- Cooper, S.D.B., Kyriazakis, I., Oldham, J.D., 1996. The effects of physical form of feed, carbohydrate source, and inclusion of sodium bicarbonate on the diet selection of sheep. *J. Anim. Sci.* 74, 1240–1251.
- Díaz, M.T., Velasco, S., Cañeque, V., Lauzurica, S., Ruiz de Huidobro, F., Pérez, C., González, J., Manzanares, C., 2002. Use of concentrate or pasture for fattening lambs and its effect on carcass and meat quality. *Small Rumin. Res.* 43, 257–268.
- FEDNA, De Blas, C., Mateos, G.G., García-Rebollar, P., 2010. *Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos*, 3rd ed. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, Madrid.
- Giger-Reverdin, S., Sauvant, D., 1991. Evaluation and utilization of concentrates in goats. In: Morand-Fehr, P. (Ed.), *Goat Nutrition*. EAAP Publications, Wageningen, pp. 172–183.
- Haddad, S.G., 2005. Effect of dietary forage: concentrate ratio on growth performance and carcass characteristics of growing Baladi kids. *Small Rumin. Res.* 57, 43–49.
- Jabbar, M.A., Anjum, M.I., 2008. Effect of diets with different forage to concentrate ratio for fattening of Lohi lambs. *Pak. Vet. J.* 28, 150–152.
- Johnson, C.R., Doyle, S.P., Long, R.S., 2010. Effect of feeding system on meat goat growth performance and carcass traits. *J. Sheep Goat Res.* 25, 78–82.
- Joy, M., Ripoll, G., Delfa, R., 2008. Effects of feeding system on carcass and non-carcass composition of Churra Tensina light lambs. *Small Rumin. Res.* 78, 123–133.
- López-Campos, Ó., Bodas, R., Prieto, N., Frutos, P., Andrés, S., Giráldez, F.J., 2011. Vinasse added to the concentrate for fattening lambs: intake, animal performance, and carcass and meat characteristics. *J. Anim. Sci.* 89, 1153–1162.
- McLeod, K.R., Baldwin, R.L., 2000. Effects of diet forage: concentrate ratio and metabolizable energy intake on visceral organ growth and in vitro oxidative capacity of gut tissues in sheep. *J. Anim. Sci.* 78, 760–770.
- Mialon, M.M., Martin, C., García, F., Menassol, J.B., Dubroeuq, H., Veissier, I., Micol, D., 2008. Effects of the forage-to-concentrate ratio of the diet on feeding behaviour in young Blond d'Aquitaine bulls. *Animal* 2, 1682–1691.
- Molina-Alcaide, E., García, A.I.M., Aguilera, J., 2000. A comparative study of nutrient digestibility, kinetics of degradation and passage and rumen fermentation pattern in goats and sheep offered good quality diets. *Livest. Prod. Sci.* 64, 215–223.
- Mould, F.L., Orskov, E.R., 1983. Manipulation of rumen fluid pH and its influence on cellulolysis in sacco, dry matter degradation and the rumen microflora of sheep offered either hay or concentrate. *Anim. Feed Sci. Technol.* 10, 1–14.
- Normand, J., Thériez, M., Bas, P., Berthelot, V., Aurousseau, B., Sauvant, D., 2001. Effect of the type of concentrate, cereals vs. sugar beet pulp, on rumen fermentation, plasma concentration of methylmalonate and quality of subcutaneous adipose tissue of intensively reared lambs. *Anim. Res.* 50, 275–288.
- Papi, N., Mostafa-Tehrani, A., Amanlou, H., Memarian, M., 2011. Effects of dietary forage-to-concentrate ratios on performance and carcass characteristics of growing fat-tailed lambs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 163, 93–98.
- Pérez-Torres, A., Sierra, I., De Vega, A., Keli, A., 2011. Effect of grinding size and sunflower oil addition on intake, digestibility, rumen function and microbial protein synthesis in sheep fed a dry total mixed ration. *Span. J. Agric. Res.* 9, 1186–1196.
- Ramanzin, M., Bailoni, L., Schiavon, S., 1997. Effect of forage to concentrate ratio on comparative digestion in sheep, goats and fallow deer. *Anim. Sci.* 64, 163–170.
- Reynolds, C.K., Tyrrell, H.F., Reynolds, P.J., 1991. Effects of diet forage-to-concentrate ratio and intake on energy metabolism in growing beef heifers: whole body energy and nitrogen balance and visceral heat production. *J. Nutr.* 121, 994–1003.
- Rodríguez, A.B., Bodas, R., Fernández, B., López-Campos, O., Mantecón, A.R., Giráldez, F.J., 2007. Feed intake and performance of growing lambs raised on concentrate-based diets under cafeteria feeding systems. *Animal* 1, 459–466.
- Rodríguez, A.B., Bodas, R., Prieto, N., Landa, R., Mantecón, A.R., Giráldez, F.J., 2009. Effect of sex and feeding system on feed intake, growth, and meat and carcass characteristics of fattening Assaf lambs. *Livestock Sci.* 116, 118–125.
- Sañudo, C., Alfonso, M., San Julián, R., Thorkelsson, G., Valdimarsdottir, T., Zygoyiannis, D., Stamataris, C., Piasentier, E., Mills, C., Berge, P., Dransfield, E., Nute, G.R., Enser, M., Fisher, A.V., 2007. Regional variation in the hedonic evaluation of lamb meat from diverse production systems by consumers in six European countries. *Meat Sci.* 75, 610–621.
- Sañudo, C., Sánchez, A., Alfonso, M., 1998. Small ruminant production systems and factors affecting lamb meat quality. *Meat Sci.* 49, S29–S64.
- Sauvant, D., Meschy, F., Mertens, D., 1999. Components of ruminal acidosis and acidogenic effects of diets. *INRA Prod. Anim.* 12, 49–60.
- Tufarelli, V., Khan, R.U., Laudadio, V., 2011. Feeding of wheat middlings in lamb total mixed rations: effects on growth performance and carcass traits. *Anim. Feed Sci. Technol.* 170, 130–135.
- Van Soest, P.J., Ferreira, A.M., Hartley, R.D., 1984. Chemical properties of fibre in relation to nutritive quality of ammonia-treated forages. *Anim. Feed Sci. Technol.* 10, 155–164.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74, 3583–3597.
- Zervas, G., Tsiplakou, E., 2011. The effect of feeding systems on the characteristics of products from small ruminants. *Small Rumin. Res.* 101, 140–149.
- Zhao, X.H., Zhang, T., Xu, M., Yao, J.H., 2011. Effects of physically effective fiber on chewing activity, ruminal fermentation, and digestibility in goats. *J. Anim. Sci.* 89, 501–509.

Capítulo II

Total mixed ration pellets for light fattening lambs:
effects on animal health

Publicado en: Animal

Total mixed ration pellets for light fattening lambs: effects on animal health

C. Blanco¹, F. J. Giráldez¹, N. Prieto^{1a}, J. Benavides¹, S. Wattegedera², L. Morán^{1b}, S. Andrés^{1†} and R. Bodas^{1†}

¹Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-Universidad de León), E-24346 Grulleros, León, Spain; ²Moredun Research Institute, Bush Loan, Penicuik, Midlothian, Scotland EH26 0PZ, UK

(Received 3 February 2014; Accepted 24 July 2014; First published online 8 September 2014)

Fifty male Merino lambs (6 to 8 weeks, 14.1 kg; n = 10 per group) were used to study the effect of feeding system: barley straw in long form and concentrate pellets in separate troughs (Control), *ad libitum* alfalfa supplemented with concentrate in separate troughs (Alfalfa) or including various levels of ground barley straw in concentrate pellets (B05, B15 and B25 for 50, 150 and 250 g barley straw/kg), on rumen characteristics, acid-base status, blood cell counts and lymphocyte stimulation. Alfalfa lambs had the heaviest digestive tract contents, highest rumen pH values, lowest volatile fatty acid concentration, highest papillae counts and best mucosa colour and the greatest blood pCO₂ values, lowest sodium and chloride and highest potassium concentrations ($P < 0.05$). Including ground barley straw in the concentrate pellet or providing straw in long form separately from the concentrate reduces rumen pH and darkens ruminal mucosa as compared with alfalfa-fed lambs, thus affecting acid-base status.

Keywords: rumen, haematology, concentrate, acidosis, sheep

Implications

Using concentrate-based pellets, which include up to 25% of ground barley straw, instead of giving concentrate and straw separately, is a suitable way of feeding lambs, thus allowing automatic feed delivery and reducing labour and storage costs. These systems are still liable to cause ruminal acidosis if compared with alfalfa-based diets, although none of them seem to cause serious problems to animal health on top of all of this in young fattening lambs.

Introduction

Traditional fattening systems for lambs in Mediterranean countries are based on an *ad libitum* supply of concentrates generally supplemented with cereal straw in separate feeding troughs (Joy *et al.*, 2008; Rodríguez *et al.*, 2008). However, concentrate pellets are being used more often nowadays in order to make feedlot feeding management

easier. The traditional system, which allows the animals to maximise their growth potential, is not devoid of problems, subacute acidosis being the most common. Concentrate diets lead to subacute ruminal acidosis by increasing volatile fatty acid (VFA) production in the rumen and the proportion of propionate and lactate, thus decreasing rumen pH (Enemark *et al.*, 2002; Bodas *et al.*, 2007; Enemark, 2008). These circumstances may entail a drop in blood pH and deplete blood base excess (Brossard *et al.*, 2003). In this sense, if animal health is threatened by a disease (as in the case of rumen acidosis), the risk of associated disorders increases (e.g. parakeratosis-rumenitis, liver abscesses, laminitis) (Penner *et al.*, 2011) and blood cell counts, especially leucocyte counts, and their response to stimuli (lipopolysaccharide (LPS), endotoxins) can be modified, thereby compromising the animal's immune response (Penner *et al.*, 2011; Ceroni *et al.*, 2012).

Forage intake could be increased by including barley straw in the concentrate pellet (thus forming a total mixed ration, TMR), which could help animals to raise rumen pH to some extent without compromising animal performance. However, the effect of forage on rumen pH depends, to a great extent, on forage particle size, this being particularly small in concentrate pellet-based diets, where the barley straw is almost ground. As a result, using pelleted diets may have no positive

^a Present address: Department of Agricultural, Food and Nutritional Science, University of Alberta, 4-10 Agriculture/Forestry Centre, Edmonton, Alberta, T6G 2P5, Canada. Lacombe Research Centre, Agriculture and Agri-Food Canada, 6000 C&E Trail, Lacombe, Alberta, T4L 1W1, Canada.

^b Present address: Ashtown Food Research Centre, Teagasc, Dublin 15, Ireland

[†] Present address: Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León. Ctra. Burgos, km 119. E-47071 Valladolid, Spain. E-mail: bodrodra@itacyl.es

effects on rumen physiology, the consequences for animal health being even more detrimental than those from the traditional feeding system due to a decrease in physically effective fibre contents (Zhao *et al.*, 2011). So far, the best strategy to promote optimal rumen fermentation is the use of forage-based rations, although it is known that the feed-to-gain ratio and average daily gain may be worsened as compared with concentrate-based rations (Carrasco *et al.*, 2009b; Tufarelli *et al.*, 2011). In a previous work, Blanco *et al.* (2014) showed that it is possible to fatten light lambs on a TMR pellet including ground barley straw and enhance animal performance without modifying meat characteristics compared with the traditional feeding system for these animals in Mediterranean countries, based on concentrate and long-form barley supplied separately. However, despite the improvements achieved when some of the above-mentioned strategies are applied to concentrate-fed lambs, there is a scarcity of data showing their impact on rumen physiology and health when compared with animals receiving forage-based diets (Álvarez-Rodríguez *et al.*, 2010 and 2012).

Therefore, the objective of this study was to evaluate the effect of feeding system: barley straw in long form and concentrate pellets in separate troughs (Control), *ad libitum* alfalfa supplemented with concentrate in separate troughs (Alfalfa) or including various levels of ground barley straw in concentrate pellets (B05, B15 and B25 for 50, 150 and 250 g barley straw/kg), on rumen characteristics and fermentation, acid-base status, blood cell counts and cytokine production in fattening lambs; feed intake, growth rate and weight of digestive tract and contents are also considered.

Material and methods

Animals and diets

Fifty male Merino lambs (6–8-week old and mean BW 14.1 ± 0.17 kg at the beginning of the experiment) were used in this study and managed as described elsewhere (Blanco

et al., 2014). Each lamb was housed in an sawdust bedded individual pen during the whole experimental period and, after randomisation on the basis of BW, assigned to one of five experimental diets ($n = 10$): Control (conventional system: barley straw in long form (>25 mm) and concentrate pellet in separate feeding troughs), B05 (concentrate-based TMR pellet including 50-g ground barley straw/kg), B15 (concentrate-based TMR pellet including 150-g ground barley straw/kg), B25 (concentrate-based TMR pellet including 250-g ground barley straw/kg) and Alfalfa (restricted concentrate pellets plus *ad libitum* alfalfa hay). Alfalfa lambs received 17 g/kg LBW of concentrate pellet and alfalfa hay *ad libitum* to keep a minimum supply of long-form forage of 50% (this group was included to obtain data from animals fed on a forage-based diet). The rest of the lambs were fed the corresponding experimental diets *ad libitum* (TMR pellets), fresh drinking water being always available. The ingredients and chemical composition of the feeds are shown in Table 1. The amount of feed offered was adjusted daily on the basis of the previous day's intake, allowing refusals of ca. 200 g/kg feed offered. Samples of the feeds offered andorts were collected daily and pooled in weekly composites for each animal analysed for dry matter (DM) content.

All handling practices followed the recommendations of Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council on the Protection of Animals Used for Scientific Purposes, and all of the animals used were able to see and hear the other lambs.

Blood sampling

Blood samples from all the animals were obtained from the jugular vein early in the morning, before feeding time (0800 h) on day 15 of the experimental period (~18 kg live weight (LW)), and again at the same time on the day each animal was slaughtered (27 kg LW). Blood was collected into 5 ml vacutainers containing lithium heparin tubes (for blood gas analyses, peripheral blood mononuclear cell (PBMC) separation and cytokine assay) and EDTA (for blood cell count analysis).

Table 1 Experimental feeds: ingredients and chemical composition

	Concentrate feed	B05	B15	B25	Alfalfa	Barley straw
Ingredients (g/kg)						
Barley	530	490	433	388		
Corn	230	210	150	80		
Soya bean meal 44% crude protein	210	220	237	252		
Barley straw	—	50	150	250		
Mineral vitamin mix	30	30	30	30		
Chemical composition from analyses (g/kg DM)						
DM (g/kg)	900	900	903	909	917	913
NDF	166	196	259	323	542	626
ADF	58	59	94	138	391	413
CP	182	181	181	181	137	47
Ash	63	60	73	83	73	104
Metabolisable energy (MJ/kg DM) ¹	11.5	11.2	10.5	9.8	8.0	5.0

DM = dry matter; CP = crude protein.

¹Calculated from feed composition tables (De Blas *et al.*, 2010).

PBMC separation and cytokine assay

Blood was mixed with 30 ml of phosphate-buffered saline (PBS) and then PBMC were obtained by centrifuging the cells over Lymphoprep (Axis-Shield Diagnostics Ltd, Dundee, Scotland, UK). The PBMC recovered were washed three times in Hank's balanced salt solution (Sigma-Aldrich, Irvine, Scotland, UK) and resuspended in complete medium constituted of RPMI 1640 (Lonza Group Ltd, Basel, Switzerland) with 10% FCS (Lonza Group Ltd) and 1% antibiotic–antimycotic solution (Santa Cruz Biotechnology, Heidelberg, Germany). PBMC were counted with an automated cell counter (BioRad Laboratories, Richmond, CA, USA) and 1×10^6 cells/ml were added to each well of a 24-well plate. Cells were stimulated in duplicate with Concanavalin A (ConA) at 10 µg/ml, or with 25 µl of complete medium as control (PBS). Cultures were incubated at 37°C in 5% CO₂ for 72 h. In addition, supernatants were collected, centrifuged and stored at –20°C until cytokine quantification.

Interferon-gamma (IFN-γ) and interleukin 4 (IL-4) productions were measured in culture supernatants by sandwich ELISAs. For IFN-γ, a commercially available kit was used (AbD Serotec) and for IL-4 an in-house ELISA using commercially available monoclonal antibodies (mAbs) raised against bovine IL-4 (mAb CC313 and CC314 mAb clones, AbD Serotec, Kidlington, UK). The IL-4 mAbs have been shown to be species cross-reactive for sheep and the ELISA protocol followed has been described in full by Hope *et al.* (2005). The results for each animal were expressed as the optical density ratio between stimulation with ConA or PBS and with complete medium only.

Blood gases, acid-base and haematological variables

Blood samples for acid-base variables were assayed an hour after being sampled in a Stat Profile pHox Plus blood analyser (Nova Biomedical, Waltham, MA, USA) for pH, bicarbonate (HCO₃[–]), CO₂ pressure (pCO₂), anion Gap, total CO₂ (tCO₂), and Na, K and Cl concentrations.

Blood samples for red blood cell (RBC) and white blood cell (WBC) counts (leucocytes, lymphocytes, monocytes and granulocytes), packed cell volume and haemoglobin were assayed in an electronic cell counter (Cell Analyzer CA530, Medonic, Bromma, Sweden).

Rumen samples and digestive tract characteristics

BW was recorded twice a week, before the morning feeding, until the lambs reached the intended slaughter BW (27 kg BW). Once each animal was slaughtered (27 kg BW) and the white offal was obtained, full and empty weight of the reticulum–rumen–omasum and abomasum–intestine portions was recorded (Blanco *et al.*, 2014). Afterwards, rumen fluid samples from each animal were collected, strained through two layers of cheesecloth, and pH was determined immediately. Then, two square samples of 3 × 3 cm from two locations on the ruminal wall (posterior part of dorsal sac and anterior part of ventral sac) were placed into histological cassettes, washed under tap water and then fixed by immersion in 10% buffered formalin for 1 week. Gross digital pictures of the ruminal mucosa were taken to measure the colour of the ruminal

epithelium as an indicator of the degree of keratinisation (Benavides *et al.*, 2013). Pictures of all the samples were taken with the same camera (Nikon D100; Nikon, Tokyo, Japan), where focus, lens aperture and exposure time were set to manual, adjusted on the first sample and then kept unchanged until all the pictures were taken. During the whole process, the camera was attached to a stand with tungsten incandescent bulbs for illumination; the position of the camera and the bulbs remained unchanged for all the pictures.

Once downloaded into the computer, a 1 × 1-cm representative area of the region of interest located over a representative area of each sample of ruminal epithelium was selected and the ruminal papillae within this area were counted. The picture was then converted to grey scale and the mean grey value, ranging from 0 to 256, where 0 is black and 256 is white, of the selected region of interest was measured. A mean value was obtained for the two areas studied from each rumen. All these operations were performed with ImageJ 1.43 software (Rasband, W.S., ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA).

Feed analysis

Feed samples were assayed to determine DM, ash, crude protein (Association of Official Analytical Chemists, 2003), NDF and ADF (Van Soest *et al.*, 1991).

Calculations and statistical analysis

Average daily weight gain was estimated as the regression coefficient (slope) of BW against time using the REG procedure in the SAS package (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Feed to gain ratio was estimated by regression as the inverse of the slope of BW against cumulative feed intake. All the data obtained were subjected to one-way ANOVA with the diet as the fixed effect and the animal as the random effect, using the MIXED procedure of SAS. The level of significance was determined at $P < 0.05$ and means were separated using the least significant difference procedure; a trend towards significance was declared when $P < 0.10$.

Results

Mean values of feed intake, growth rate, feed conversion and weight of digestive tract and contents are shown in Table 2. Alfalfa-fed lambs had the highest forage and lowest concentrate and total feed intake ($P < 0.001$). Forage intake increased with the level of barley straw included in the TMR pellet ($P < 0.001$), whereas concentrate intake (proportion of TMR that is not forage) remained constant for Control, B05, B15 and B25 lambs. NDF and ADF intake increased with the level of forage ingested, B25 and alfalfa lambs showing the highest values and Control and B05 lambs having the lowest fibre intakes ($P < 0.001$). Alfalfa lambs had the lowest growth rate, whereas B15 and B25 lambs showed higher daily gains than Control and B05 animals ($P < 0.001$). Alfalfa-fed lambs showed higher feed to gain ratio than the rest of lambs ($P < 0.001$). Animals in the Alfalfa group had

Table 2 Effect of feeding concentrate and barley straw separately (Control), a TMR with 50, 150 and 250 g barley straw per kg (B05, B15 and B25, respectively) or ad libitum alfalfa supplemented with concentrate (Alfalfa) on feed intake, growth rate and weight of digestive tract and contents

	Control	B05	B15	B25	Alfalfa	r.s.d.	P-value
Intake (g/animal and day)							
Concentrate DM ¹	790 ^b	751 ^b	779 ^b	792 ^b	422 ^a	332	<0.001
Forage DM ²	27 ^a	40 ^b	137 ^c	264 ^d	465 ^e	31	<0.001
Total DM	817 ^a	791 ^a	916 ^b	1056 ^c	887 ^a	73	<0.001
NDF	148 ^a	156 ^a	237 ^b	341 ^c	322 ^c	23	<0.001
ADF	57 ^a	47 ^a	86 ^b	146 ^c	206 ^d	13	<0.001
Average daily gain (g/day)	299 ^b	279 ^b	339 ^c	353 ^c	194 ^a	43	<0.001
Feed:gain (g/g)	2.76 ^a	2.89 ^a	2.74 ^a	3.03 ^a	4.84 ^b	0.43	<0.001
Weight of digestive contents (g)							
Rumen–reticulum–omasum	2634 ^a	2549 ^a	2613 ^a	2642 ^a	3646 ^b	562	<0.001
Abomasum–intestine	1593 ^b	1529 ^a	1769 ^{bc}	1799 ^c	1876 ^c	260	0.023
Weight of empty digestive tract (g)							
Rumen–reticulum–omasum	788 ^{ab}	903 ^c	868 ^{bc}	844 ^{abc}	756 ^a	104	0.019
Abomasum–intestine	1668	1679	1792	1784	1646	178	0.219

TMR = total mixed ration; DM = dry matter; r.s.d. = residual standard deviation.

¹Concentrate: supplied in the feeding trough (Control and Alfalfa lambs) or the portion of TMR that is not barley straw (B05, B15 and B25 lambs).

²Forage intake measured as straw (Control lambs) or alfalfa (Alfalfa lambs) ingested from the feeding trough, or calculated from TMR composition (B05, B15 and B25 lambs).

a,b,c,d,e Means in the same row with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

Table 3 Effect of feeding concentrate and barley straw separately (Control), a TMR with 50, 150 and 250 g barley straw per kg (B05, B15 and B25, respectively) or ad libitum alfalfa supplemented with concentrate (Alfalfa) on ruminal characteristics

	Groups						
	Control	B05	B15	B25	Alfalfa	r.s.d.	P-value
pH	5.77 ^b	5.24 ^c	5.56 ^{bc}	5.69 ^b	6.94 ^a	0.39	<0.001
Ammonia (mg/l)	5.77	4.64	5.73	5.39	6.32	2.66	0.750
VFA concentration (mmol/l)							
Acetate	46.6 ^a	49.2 ^a	46.5 ^a	53.4 ^a	31.9 ^b	13.6	0.027
Propionate	28.3 ^a	30.0 ^a	26.0 ^a	36.0 ^a	10.4 ^b	13.2	0.004
Butyrate	6.0	11.2	7.1	11.8	4.8	6.6	0.127
VFA proportion (mol/100 mol)							
Acetate	51.7	51.8	51.3	49.5	60.8	8.7	0.076
Propionate	29.8 ^a	30.4 ^a	27.6 ^{ab}	32.5 ^a	20.3 ^b	8.0	0.030
Butyrate	6.4	11.2	7.8	11.5	9.6	6.2	0.373
Acetate/Propionate	1.99 ^b	1.82 ^b	1.90 ^b	1.65 ^b	3.32 ^a	0.81	0.001
Rumen mucosa colour							
R	105 ^b	104 ^b	107 ^b	111 ^b	149 ^a	12	<0.001
G	80 ^b	81 ^b	82 ^b	85 ^b	117 ^a	11	<0.001
B	61 ^b	63 ^b	62 ^b	62 ^b	76 ^a	7	<0.001
Grey	85 ^b	86 ^b	87 ^b	89 ^b	121 ^a	11	<0.001
Papillae/cm ²	49.6 ^{bc}	47.8 ^{bc}	42.4 ^c	51.9 ^b	74.2 ^a	13.7	<0.001

TMR = total mixed ration; VFA = volatile fatty acids; r.s.d. = residual standard deviation.

a,b,c Means in the same row with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

the greatest rumen contents weight ($P < 0.001$) and the lowest empty rumen weight ($P < 0.05$). The highest weight of abomasums + intestine contents was shown by alfalfa and B25-fed lambs, whereas B05 lambs had the lowest values ($P < 0.05$). No differences were observed in empty abomasum + intestine weight ($P > 0.10$).

Table 3 shows the effects of diet on ruminal characteristics. Alfalfa lambs had the highest rumen pH values,

followed by Control, B25 and B15 lambs; B05 animals showed the lowest rumen pH values ($P < 0.05$). There were no differences in ammonia concentration. Total VFA concentration was lower in the Alfalfa group compared with the rest of the lambs, as were individual fatty acid concentrations (except butyrate; $P < 0.05$). However, rumen samples from Alfalfa lambs tended to have the highest proportion of acetate ($P < 0.10$) and the lowest proportion of propionate

Table 4 Effect of feeding concentrate and barley straw separately (Control), a TMR with 50, 150 and 250 g barley straw per kg (B05, B15 and B25, respectively) or ad libitum alfalfa supplemented with concentrate (Alfalfa) on blood gases and ions on day 15 and at the end of fattening period (final, ~27 kg LBW)

	Groups					r.s.d.	P-value
	Control	B05	B15	B25	Alfalfa		
pH							
Day 15	7.38 ^b	7.37 ^b	7.43 ^a	7.41 ^a	7.42 ^a	0.04	0.003
Slaughter day	7.43	7.41	7.44	7.44	7.42	0.03	0.184
HCO ₃ ⁻ (mmol/l)							
Day 15	28.1	28.1	29.5	28.2	28.2	2.2	0.576
Slaughter day	26.1	26.5	27.7	26.5	28.2	1.8	0.085
pCO ₂ (mmHg)							
Day 15	51.3	52.5	48.5	47.3	48.5	5.2	0.178
Slaughter day	42.8 ^b	45.2 ^{ab}	44.1 ^b	42.5 ^b	47.2 ^a	3.1	0.020
Anion gap (mmol/l)							
Day 15	12.9 ^a	12.3 ^a	11.0 ^b	12.1 ^{ab}	11.4 ^b	1.4	0.044
Slaughter day	13.4	13.4	12.9	13.0	11.4	1.5	0.051
tCO ₂ (mmol/l)							
Day 15	29.6	29.8	31.0	29.6	29.7	2.3	0.637
Slaughter day	27.7	27.9	29.1	27.8	29.6	1.8	0.104
Na (mmol/l)							
Day 15	148 ^a	147 ^a	147 ^a	147 ^a	144 ^b	2	0.006
Slaughter day	146 ^a	146 ^a	146 ^a	146 ^a	144 ^b	1	<0.001
K (mmol/l)							
Day 15	5.31	5.08	4.89	4.82	5.02	0.42	0.121
Slaughter day	4.34 ^b	4.53 ^b	4.42 ^b	4.47 ^b	5.04 ^a	0.38	0.003
Cl (mmol/l)							
Day 15	112 ^a	112 ^a	111 ^{ab}	111 ^a	109 ^b	2	0.031
Slaughter day	110 ^{bc}	112 ^a	110 ^{bc}	112 ^{ab}	109 ^c	2	0.033

TMR = total mixed ration; LBW = live BW; r.s.d. = residual standard deviation.

^{a,b,c}Means in the same row with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

($P < 0.05$), thus raising the acetate to propionate ratio compared with the other groups ($P < 0.01$).

The highest counts of papillae were observed for Alfalfa lambs, followed by B25, Control and B05 lambs, with B15 animals showing the lowest counts ($P < 0.001$). Regarding rumen mucosa colour, animals receiving alfalfa were clearly different from the others, showing the greatest grey, red, green and blue values ($P < 0.001$).

Mean values of parameters related to blood gases are shown in Table 4. B15, B25 and Alfalfa lambs had the highest pH values on day 15, although these differences had disappeared by the day of slaughter. Animals in the Alfalfa group tended to have higher HCO₃⁻ values on day of slaughter ($P < 0.10$) and had significantly ($P < 0.05$) higher pCO₂ values on day of slaughter than lambs in the other groups, whereas anion gap values showed the opposite trend (the lowest values for Alfalfa lambs). Na and Cl concentrations were always lower for Alfalfa than for the rest of the groups ($P < 0.001$), whereas K concentration was the highest for Alfalfa lambs ($P < 0.001$).

The type of diet consumed by the animals did not affect WBC counts ($P > 0.10$), as can be seen in Table 5. However, RBC counts and packed cell volume were lower for alfalfa-fed lambs on day 15 of the experiment.

No effects were observed on IFN- γ or IL-4 production depending on the type of diet offered to the animals ($P > 0.10$; Table 6).

Discussion

Feed intake and animal performance

Feed intake increased with the proportion of barley straw in the TMR, with animals fed on TMR diets showing values for average daily gain and feed-to-gain ratio similar to or better than animals fed the control (traditional, concentrate and forage supplied separately) diet. However, alfalfa-fed lambs (which can be considered as a positive control for animal health and welfare) had lower growth rates and higher feed-to-gain ratios than animals in the other groups. These differences are on account of the higher fibre and lower protein and energy intakes in alfalfa-fed lambs as compared with concentrate-fed animals, in agreement with Carrasco *et al.* (2009a and 2009b), Papi *et al.* (2011) and Tufarelli *et al.* (2011).

Digestive tract characteristics

The high weight of rumen contents observed in animals receiving the alfalfa diet is mainly due to the composition of the DM intake, which was rich in fibre. This determines

Table 5 Effect of feeding concentrate and barley straw separately (Control), a TMR with 50, 150 and 250 g barley straw per kg (B05, B15 and B25, respectively) or ad libitum alfalfa supplemented with concentrate (Alfalfa) on blood cells counts on day 15 and at the end of fattening period (final, ~27 kg LBW)

	Groups					r.s.d.	P-value
	Control	B05	B15	B25	Alfalfa		
Red blood cells ($10^6/\mu\text{l}$)							
Day 15	10.17 ^{ab}	10.29 ^a	9.76 ^{bc}	10.72 ^a	9.19 ^c	0.92	0.035
Slaughter day	9.62	9.20	9.41	9.90	9.94	1.92	0.929
Packed cell volume (%)							
Day 15	36.2 ^{ab}	37.0 ^{ab}	36.0 ^b	39.3 ^a	33.6 ^c	3.2	0.028
Slaughter day	33.7	32.8	33.9	35.3	34.7	6.5	0.959
White blood cells ($10^3/\mu\text{l}$)							
Day 15	10.3	9.9	10.5	10.6	11.4	2.9	0.867
Slaughter day	10.3	11.4	12.0	13.0	9.8	2.8	0.197
Lymphocytes (%)							
Day 15	36.4	36.5	40.3	41.5	33.7	10.0	0.427
Slaughter day	48.7	53.5	50.7	56.4	47.7	9.1	0.376
Granulocytes (%)							
Day 15	54.4	52.7	49.7	48.3	55.7	8.9	0.356
Slaughter day	43.1	39.2	40.8	35.9	44.7	7.5	0.220
Monocytes (%)							
Day 15	9.4	10.7	10.0	10.1	10.7	2.0	0.662
Slaughter day	7.8	7.4	8.9	7.5	7.6	2.4	0.672

TMR = total mixed ration; LBW = live BW; r.s.d. = residual standard deviation.

^{a,b,c} Means in the same row with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).**Table 6** Effect of feeding concentrate and barley straw separately (Control), a TMR with 50, 150 and 250 g barley straw per kg (B05, B15 and B25, respectively) or ad libitum alfalfa supplemented with concentrate (Alfalfa) on ratios of IFN- γ and IL-4 production (pg/ml) by peripheral blood mononuclear cells stimulated either with PBS (IFN- γ_{pbs} and IL-4_{pbs}) or concanavalin A (IFN- γ_{con} and IL-4_{con})

	Groups					r.s.d.	P-value
	Control	B05	B15	B25	Alfalfa		
IFN- γ_{pbs}	0.00	0.00	0.00	0.02	0.05	0.08	0.623
IFN- γ_{conA}	242	110	0.00	21	327	386	0.370
IL-4 _{pbs}	1.52	0.93	1.71	2.18	0.00	3.57	0.780
IL-4 _{conA}	221	343	186	369	267	335	0.823

TMR = total mixed ration; interferon-gamma = IFN- γ ; IL-4 = interleukin-4; PBS = phosphate-buffered saline; r.s.d. = residual standard deviation.

a slow fermentation rate and, therefore, low passage rate (Ndlovu and Buchanan-Smith, 1985; Poore *et al.*, 1990; Carro *et al.*, 2000). As a consequence, feed requires more time to be digested, staying longer in the digestive tract (especially in the rumen) and filling it. In fact, the fermentation pattern is different depending upon the diet, as is rumen pH, which is increased in response to forage intake (Carro *et al.*, 2000), especially if it is alfalfa (Ha *et al.*, 1983), as observed in our study. In the case of alfalfa-fed lambs, its intrinsic buffering capacity (Giger-Reverdin *et al.*, 2002), together with its coarse structural fibre that stimulates ruminative chewing and salivation, increases rumen buffering capacity (Mirzaei-Aghsaghali *et al.*, 2008). Within the

other groups, Control and B25 had the highest pH values and B05 the lowest. Control group lambs had free access to barley straw and, although they had low forage intake (around 5%), it was in the long form, whose fibre effect is high (Allen, 1997). Moreover, barley straw intake in Control lambs could be associated not with concentrate intake, but with the moments at which pH was lowest (between 3 and 6 h after intake; Brossard *et al.*, 2003). Therefore, these animals could regulate rumen pH by ingesting forage in a long form (Allen, 1997). Regarding B25 lambs, although they had a relatively high fibre intake, similar to Alfalfa lambs, the small particle size, together with their high concentrate (rapidly fermentable) intake, reduced saliva production and buffering capacity, thus promoting lower pH than the alfalfa diet. The animals with the highest concentrate and lowest long forage intake, B05 lambs, had the lowest rumen pH.

According to the pH profile found in the rumen, fermentation pattern and VFA concentration were different for animals receiving concentrate than for alfalfa-fed lambs. Forage-based diets are associated with slow fermentation rates, low VFA production, high proportions of acetate and valerate and high acetate to propionate ratios in the rumen (Carro *et al.*, 2000), as observed in this experiment. At the opposite end of the scale, animals receiving concentrate-based diets with up to 25% ground barley straw have a high concentration of VFA, which is related to faster fermentation rate, high acid (mainly propionic) production and total acid load and, therefore low rumen pH (Bodas *et al.*, 2007). Likewise, the type and amount of feed fermented in the rumen and the fermentation rate profile are some of the

factors that influence the development of the rumen wall in the early stages. Thus, increased VFA concentration would determine further development of rumen mucosa, which could have led to a heavier empty rumen for concentrate-fed animals as compared with those receiving alfalfa (Baldwin, 1999; Baldwin *et al.*, 2007).

On the other hand, the heavy rumens observed in concentrate-fed animals (regardless of the amount of straw included in the TMR) could also be caused by the stimulant effect that feeding concentrate has on ruminal development (Odongo *et al.*, 2006). However, it must be borne in mind that the rumen wall undergoes structural changes in response to the inflammation process (rumenitis and parakeratosis) associated with high acid load and low pH (Krehbiel *et al.*, 1995; Steele *et al.*, 2009 and 2011).

The changes occurring in rumen fermentation and dynamics eventually reflect in the state of the mucosa. Thus, in response to acidosis, the rate of metabolism and proliferation of stratified squamous epithelium increase dramatically, resulting in premature transition of cells into the keratinous layer, a condition known as parakeratosis (Kleen *et al.*, 2003; Steele *et al.*, 2011; Plaizier *et al.*, 2012). All animals that received any type of concentrate had a darker colour than those fed on alfalfa. In the table, high values are positive indicators of lightness, whereas lower values indicate darker colours. Parakeratosis processes are associated with a darkening and hardening of the rumen mucosa, because of the low pH and the high concentrations of AGV. In contrast, alfalfa induces lighter brown epithelium colour than concentrate feed, which turned darker and grey (Álvarez-Rodríguez *et al.*, 2012).

Regarding papillae counts, this parameter was significantly higher in the animals receiving alfalfa, with no differences between the other groups. Although earlier work has shown that concentrate diets with high grain content markedly increase the number and size of ruminal papillae in lambs (Odongo *et al.*, 2006), the underlying mechanisms of the dietary energy-dependent physiologic, biochemical and histological alterations in the rumen epithelium are not known. Conversely, recent work carried out with lambs fed hay or concentrate diets suggests that forage supply did not affect papillae height or width but reduced the surface area of the papillae (Álvarez-Rodríguez *et al.*, 2012). In any case, the parakeratosis process together with the increased rumen osmolality can result in rapid influx of water from the blood circulation into rumen epithelial cells and into the rumen, causing swelling and rupturing of rumen papilla (Owens *et al.*, 1998; Plaizier *et al.*, 2012), thus reducing their numbers.

Consequently, although including up to 25% barley straw in the TMR for fattening lambs improves feed intake and animal performance (Blanco *et al.*, 2014), it does not seem to promote a rumen as healthy as including 50% alfalfa hay in the diet.

Acid-base blood parameters

Alfalfa is rich in potassium, and its administration in large amounts has been associated with increases in K and

reduced levels of Na and Cl blood concentrations (Kume *et al.*, 2004). In our experiment, animals receiving the alfalfa diet experienced an increase in K and a decrease in Na and Cl, changes that became more noticeable by the end of the fattening period, when the lambs had the highest alfalfa intakes. Although the modifications in the concentrations of these ions accounted for the decrease in anion gap observed for alfalfa-fed lambs, it must be highlighted that substantial increases in this parameter usually indicate the presence of a metabolic acidosis (Emmett and Narins, 1977; Odongo *et al.*, 2006).

Changes in rumen pH may cause changes in blood base excess and blood pH. Albeit all values observed in this experiment were within the normal range, Alfalfa lambs had significantly higher blood pH values than the rest of the animals by mid-fattening period, but these differences were not maintained until the end of the period. This perhaps could be related to increased keratinisation of ruminal mucosa or its development in the final stages of the fattening period, which may reduce acid absorption from the rumen (Krehbiel *et al.*, 1995; Kleen *et al.*, 2003). Therefore, the development of parakeratosis as a result of a chemical injury, such as that caused by acidosis, may protect the animals against a continuous drop in blood pH. This does not mean that nutrient (VFA) absorption from the rumen is impaired, but only reduced as compared with the initial stages, when the mucosa is probably not as yet thickened (as in animals receiving alfalfa). As a matter of fact, the lower HCO_3^- and pCO_2 values observed in concentrate-fed compared with alfalfa-fed lambs indicate that excess base (reserve) in the blood that helps to maintain blood pH is also delivered to the rumen, thus leading to an exhaustion of the reserves (Brossard *et al.*, 2003; Ceroni *et al.*, 2012). Moreover, the long-term effect of an acidogenic diet on the alkaline reserves of the blood requires a longer recovery period than that required for rumen parameters (Brossard *et al.*, 2003). It is important to say that no clinical signs of acidosis were observed, which suggests the lambs likely did not experience discomfort attributable to the diets (Commun *et al.*, 2009). It is noteworthy, however, that the B15 group showed the best HCO_3^- values after the alfalfa animals by the end of the fattening period, thus indicating a better state of alkaline reserves.

Blood cell counts

Recent works have suggested that some blood parameters such as WBC counts could serve as early indicators of subacute ruminal acidosis in dairy cows without the need to sample rumen fluid (Ceroni *et al.*, 2012). It has been reported that RBC could increase in animals under acidosis challenge as a compensational response against the slow reduction in haematocrit (Ceroni *et al.*, 2012). However, in opposition to these findings, the increase in RBC in concentrate-fed animals on day 15 of the experiment was accompanied by an increase in packed cell volume, probably as a consequence of the increase in osmolality.

Several studies have shown that inducing acidosis by conducting a nutritional challenge based on feeding

excessively high grain diets increases LPS endotoxin in the rumen of cattle, and this LPS, after digestive tract epithelial barrier failure, may be translocated into the blood stream or the lymphatic system, where it can interact with mononuclear cells, endothelial and smooth muscle cells, polymorphonuclear granulocytes and thrombocytes and stimulate the production of pro-inflammatory mediators such as cytokines (Plaizier *et al.*, 2012). In addition, low extracellular pH and certain organic acids have been shown to activate cellular and humoral components of the immune system and exert pro-inflammatory effects (Kellum *et al.*, 2004; Danscher *et al.*, 2011), and as such these factors could have contributed to the inflammatory response. In a study carried out involving healthy humans, higher serum anion gap and lower bicarbonate levels were associated with increased WBC and concentration of the major acute phase protein C-reactive protein (Farwell and Taylor, 2010). Different organic acids have been suggested to exert different effects on cytokine expression (Kellum *et al.*, 2004; Danscher *et al.*, 2011). Nevertheless, in the current study, neither WBC nor cytokines were either raised in response to concentrate feeding or decreased in response to forage feeding. Although LPS was not measured here, the concentrations of LPS in rumens from animals under acidosis challenge, as well as pH, vary considerably among studies (see extensive review by Plaizier *et al.*, 2012).

It can be concluded that traditional feeding system (based on supplying the concentrate and barley straw separately) or including up to 25% ground barley straw in the concentrate-based TMR for fattening lambs imply a notable rumen pH depression and evident rumen wall damage when compared with alfalfa-fed animals. These changes, which affect to some extent the blood's acid-base status, seem to be insufficiently severe to threaten animal health and compromise their immune response.

Acknowledgements

Financial support received from the Spanish Ministry of Science and Innovation, Project AGL2010-19094. Carolina Blanco is supported by a contract for young researchers (Council of Castile and León and European Social Fund). Raúl Bodas and Nuria Prieto had a JAE-Doc contract under the programme 'Junta para la Ampliación de Estudios' (CSIC-European Social Fund). Sean Wattegdera is funded by The Scottish Government Rural & Environment Science & Analytical Services (RESAS) division and through 'The route to identification of immunological correlates of protection in ruminants', Industrial Partnership Award funded by BBSRC (grant numbers BB/I019863/1; BB/I020519/1) with the support of AbD Serotec, a Bio-Rad Company.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflicts of interest.

References

Allen MS 1997. Relationship between fermentation acid production in the rumen and the requirement for physically effective fiber. *Journal of Dairy Science* 80, 1447–1462.

Álvarez-Rodríguez J, Sanz A, Ripoll-Bosch R and Joy M 2010. Do alfalfa grazing and lactation length affect the digestive tract fill of light lambs? *Small Ruminant Research* 94, 109–116.

Álvarez-Rodríguez J, Monleón E, Sanz A, Badiola JJ and Joy M 2012. Rumen fermentation and histology in light lambs as affected by forage supply and lactation length. *Research Veterinary Science* 92, 247–253.

Association of Official Analytical Chemists 2003. Official methods of analysis, 17th edition. AOAC, Gaithersburg, MD, USA.

Baldwin RL 1999. Sheep gastrointestinal development in response to different dietary treatments. *Small Ruminant Research* 35, 39–47.

Baldwin RL, El-Kadi SW, McLeod KR, Connor EE and Bequette BJ 2007. Intestinal and ruminal epithelial and hepatic metabolism regulatory gene expression as affected by forage to concentrate ratio in bulls. In *Energy and protein metabolism and nutrition*, EAAP Publication no 124 (ed. I Ortigues-Marty, N Miraux and W Brand-Williams), pp. 293–294. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands.

Benavides J, Martínez-Valladares M, Tejido ML, Giráldez FJ, Bodas R, Prieto N, Pérez V and Andrés S 2013. Quercitin and flaxseed included in the diet of fattening lambs: effects on immune response, stress during road transport and ruminal acidosis. *Livestock Science* 158 (1–3), 84–90.

Blanco C, Bodas R, Prieto N, Andrés S, López S and Giráldez FJ 2014. Concentrate plus ground barley straw pellets can replace conventional feeding systems for light fattening lambs. *Small Ruminant Research* 116, 137–143.

Bodas R, Giráldez FJ, López S, Rodríguez AB and Mantecón AR 2007. Inclusion of sugar beet pulp in cereal-based diets for fattening lambs. *Small Ruminant Research* 71, 250–254.

Brossard L, Martin C and Michalet-Doreau B 2003. Ruminal fermentative parameters and blood acid-base balance changes during the onset and recovery of induced latent acidosis in sheep. *Animal Research* 52, 513–530.

Carrasco S, Panea B, Ripoll G, Sanz A and Joy M 2009a. Influence of feeding systems on cortisol levels, fat colour and instrumental meat quality in light lambs. *Meat Science* 83, 50–56.

Carrasco S, Ripoll G, Sanz A, Álvarez-Rodríguez J, Panea B, Revilla R and Joy M 2009b. Effect of feeding system on growth and carcass characteristics of Churra Tensina light lambs. *Livestock Science* 121, 56–63.

Carro MD, Valdés C, Ranilla MJ and González JS 2000. Effect of forage to concentrate ratio in the diet on ruminal fermentation and digesta flow kinetics in sheep offered food at a fixed and restricted level of intake. *Animal Science* 70, 127–134.

Ceroni V, Turmalaj L, Lika E and Duro S 2012. Haematological indicators affected by the subacute ruminal acidosis in dairy cows. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 11, 927–930.

Commun L, Mialon MM, Martin C, Baumont R and Veissier I 2009. Risk of subacute ruminal acidosis in sheep with separate access to forage and concentrate. *Journal of Animal Science* 87, 3372–3379.

Danscher AM, Thoenen MB, Heegaard PMH, Ekström CT and Jacobsen S 2011. Acute phase protein response during acute ruminal acidosis in cattle. *Livestock Science* 135, 62–69.

De Blas C, Mateos GG and García-Rebollar P 2010. *Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos*, 3rd edition. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, Madrid, Spain.

Emmett M and Narins RG 1977. Clinical use of the anion gap. *Medicine* 56, 38–54.

Enemark J 2008. The monitoring, prevention and treatment of sub-acute ruminal acidosis (SARA): a review. *The Veterinary Journal* 176, 32–43.

Enemark JMD, Jorgensen RJ and Enemark PS 2002. Rumen acidosis with special emphasis on diagnostic aspects of subclinical rumen acidosis: a review. *Veterinarija ir Zootechnika* 20, 16–29.

Farwell WR and Taylor EN 2010. Serum anion gap, bicarbonate and biomarkers of inflammation in healthy individuals in a national survey. *Canadian Medical Association Journal* 182, 137–141.

Giger-Reverdin S, Duvaux-Ponter C, Sauvart D, Martin O, Nunes do Prado I and Müller R 2002. Intrinsic buffering capacity of feedstuffs. *Animal Feed Science and Technology* 96, 83–102.

Ha JK, Emerick RJ and Embry LB 1983. In vitro effect of pH variations on rumen fermentation, and in vivo effects of buffers in lambs before and after adaptation to high concentrate diets. *Journal of Animal Science* 56, 698–706.

- Hope JC, Kwong LS, Thom M, Sopp P, Mwangi W, Brown WC, Palmer GH, Wattegedera S, Entrican G and Howard CJ 2005. Development of detection methods for ruminant interleukin (IL)-4. *Journal of Immunology Methods* 301, 114–123.
- Joy M, Ripoll G and Delfa R 2008. Effects of feeding system on carcass and non-carcass composition of Churra Tensina light lambs. *Small Ruminant Research* 78, 123–133.
- Kellum JA, Song M and Li J 2004. Science review: extracellular acidosis and the immune response: clinical and physiologic implications. *Critical Care* 8, 331–336.
- Kleen JL, Hooijer GA, Rehage J and Noordhuizen JPTM 2003. Subacute ruminal acidosis (SARA): a review. *Journal of Veterinary Medicine Series A* 50, 406–414.
- Krehbiel CR, Britton RA, Harmon DL, Wester TJ and Stock RA 1995. The effects of ruminal acidosis on volatile fatty acid absorption and plasma activities of pancreatic enzymes in lambs. *Journal of Animal Science* 73, 3111–3121.
- Kume S, Toharmat T, Ridla M, Nonaka K, Oshita T, Nakamura M, Yamada Y and Ternouth J 2004. Effects of high potassium intake from alfalfa silage on mineral status in sheep and periparturient cows. *Research Bulletin of the National Agricultural Research Center for Hokkaido Region* 181, 1–14.
- Mirzaei-Aghsaghali A, Maheri-Sis N, Mirza-Aghazadeh A, Safaei AR and Aghajanzadeh-Golshani A 2008. Nutritional value of alfalfa varieties for ruminants with emphasis on different measuring methods: a review. *Research Journal of Biological Sciences* 3, 1227–1241.
- Ndlovu LR and Buchanan-Smith JG 1985. Utilization of poor quality roughages by sheep: effects of alfalfa supplementation on ruminal parameters, fiber digestion and rate of passage from the rumen. *Canadian Journal of Animal Science* 65, 693–703.
- Odongo NE, AlZahal O, Lindinger MI, Duffield TF, Valdes EV, Terrell SP and McBride BW 2006. Effects of mild heat stress and grain challenge on acid-base balance and rumen tissue histology in lambs. *Journal of Animal Science* 84, 447–455.
- Owens FN, Secrist DS, Hill WJ and Gill DR 1998. Acidosis in cattle: a review. *Journal of Animal Science* 76, 275–286.
- Papi N, Mostafa-Tehrani A, Amanlou H and Memarian M 2011. Effects of dietary forage-to-concentrate ratios on performance and carcass characteristics of growing fat-tailed lambs. *Animal Feed Science and Technology* 163, 93–98.
- Penner GA, Steele MA, Aschenbach JR and McBride BW 2011. Ruminant Nutrition Symposium: molecular adaptation of ruminal epithelia to highly fermentable diets. *Journal of Animal Science* 89, 1108–1119.
- Plaizier JC, Khafipour E, Li S, Gozho GN and Krause DO 2012. Subacute ruminal acidosis (SARA), endotoxins and health consequences. *Animal Feed Science and Technology* 172, 9–21.
- Poore MH, Moore JA and Swingle RS 1990. Differential passage rates and digestion of neutral detergent fiber from grain and forages in 30, 60 and 90% concentrate diets fed to steers. *Journal of Animal Science* 68, 2965–2973.
- Rodríguez AB, Bodas R, Prieto N, Landa R, Mantecón AR and Giráldez FJ 2008. Effect of sex and feeding system on feed intake, growth, and meat and carcass characteristics of fattening Assaf lambs. *Livestock Science* 116, 118–125.
- Steele MA, AlZahal O, Hook SE, Croom J and McBride BW 2009. Ruminal acidosis and the rapid onset of ruminal parakeratosis in a mature dairy cow: a case report. *Acta Veterinaria Scandinavica* 51, 39–44.
- Steele MA, Croom J, Kahler M, AlZahal O, Hook SE, Plaizier K and McBride BW 2011. Bovine rumen epithelium undergoes rapid structural adaptations during grain-induced subacute ruminal acidosis. *American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 300, R1515–R1523.
- Tufarelli V, Khan RU and Laudadio V 2011. Feeding of wheat middlings in lamb total mixed rations: effects on growth performance and carcass traits. *Animal Feed Science and Technology* 170, 130–135.
- Van Soest PJ, Robertson JB and Lewis BA 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74, 3583–3597.
- Zhao XH, Zhan T, Xu M and Yao JH 2011. Effects of physically effective fiber on chewing activity, ruminal fermentation, and digestibility in goats. *Journal of Animal Science* 89, 501–509.

Capítulo III

Vegetable soapstocks to reduce methane production and
modify ruminal fermentation

Publicado en: Animal Feed Science and Technology

Vegetable oil soapstocks reduce methane production and modify ruminal fermentation[☆]

C. Blanco, R. Bodas^{*}, N. Prieto, L. Morán, S. Andrés, S. López, F.J. Giráldez

Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-Universidad de León), 24346 Grulleros (León), Spain

ARTICLE INFO

Keywords:

Vegetable oil
Forage
Palm
Olive
Soybean
Sunflower

ABSTRACT

Four soapstocks from the refinery vegetable oil industry (SSpalm, SSoliv, SSsoyb and SSsunf (RIOSa, Baeza-Linares, Spain), from processing of palm, olive, sunflower, and soybean oils, respectively) and a mixture of lauric and miristic acids (4:1, LMA) added to diets with different forage proportions (50, 150 and 250 g barley straw/kg diet; F5, F15 and F25 diets, respectively) were examined to assess their potential to modify ruminal fermentation *in vitro*, in particular CH₄ production. Serum bottles containing 400 mg of substrate (F5, F15, F25 diets) including 30 or 60 g/kg of the materials and 50 ml of buffered rumen fluid were incubated at 39 °C for 24 h. After incubation, gas and CH₄ production, pH and volatile fatty acid (VFA) concentrations in the incubation medium were measured. All materials linearly decreased gas production ($P<0.05$), and SSoliv, SSsoyb and SSsunf reduced CH₄ production ($P<0.05$) and methane produced per mol of total VFA formed ($P<0.05$), and LMA also reduced CH₄ proportion in the gas ($P<0.05$), whereas SSpalm tended to decrease it. LMA linearly ($P<0.05$) decreased acetate production and the acetate to propionate ratio, and raised the propionate molar proportion and pH ($P<0.05$). SSoliv and SSsoyb caused a linear ($P<0.05$) decline in acetate, and rise in propionate, molar proportions, thus decreasing the acetate to propionate ratio ($P<0.05$), whereas SSsunf tended to have the same effects ($P<0.10$). As the forage proportion increased, CH₄ and acetate proportion, acetate to propionate ratio and final pH increased, while gas, VFA (individual and total) and CH₄ production, and propionate and butyrate molar proportions, decreased. Soapstocks, especially SSsoyb and SSsunf, are promising dietary alternatives to depress ruminal methanogenesis.

© 2012 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Ruminants lose 2–12% of their gross energy intake as CH₄, depending on the quality and quantity of the diet consumed (Johnson and Johnson, 1995). Methane produced by ruminants not only affects the efficiency of energy utilization but also contributes to environmental degradation. It has been estimated that ruminant livestock are responsible for about 15–20% of the total anthropogenic emissions of CH₄ (Moss et al., 2000). A possible mitigation strategy of the CH₄ produced within

Abbreviations: DM, dry matter; FA, fatty acids; MUFA, monounsaturated FA; aNDF, neutral detergent fiber assayed with a heat stable amylase and expressed inclusive of residual ash; PUFA, polyunsaturated fatty acids; SFA, saturated FA; SSoliv, soapstock from olive oil refinery; SSpalm, soapstock from palm oil refinery; SSsoyb, soapstock from soybean oil refinery; SSsunf, soapstock from sunflower oil refinery.

[☆] This paper is part of the special issue entitled: Plant Bioactive Compounds in Ruminant Agriculture – Impacts and Opportunities, Guest Edited by A.Z.M. Salem and S. López, and Editor for Animal Feed Science and Technology, P.H. Robinson.

^{*} Corresponding author. Present address: Instituto Tecnológico Agrario, Junta de Castilla y León, Finca Zamadueñas, Ctra. Burgos, km. 119, 47071 Valladolid, Spain.

E-mail address: bodrodra@itacyl.es (R. Bodas).

the rumen is use of dietary fats. It has been recognized for many years that long chain fatty acids (FA) can depress CH₄ production in the rumen (Czerkawski et al., 1966), whereas other recent studies have found that medium chain FA, such as lauric acid, can also reduce rumen CH₄ production (Soliva et al., 2003). In a later study, a mixture of 4:1 lauric:miristic acids, which had a synergistic effect in suppressing methanogenesis, was proposed for practical use in ruminant nutrition, since lauric acid is less palatable than miristic acid (Dohme et al., 2001; Soliva et al., 2004a). However, effects of FA on CH₄ production can be counteracted by other components of the diet, such as calcium, or affected by the forage to concentrate ratio (Machmüller et al., 2003).

Use of different types of vegetable oilseeds and oils (Fievez et al., 2003; Machmüller et al., 1998, 2000; Martin et al., 2008) or of FA mixtures (Soliva et al., 2004b) to reduce ruminal methanogenesis has been widely studied. However, to our knowledge, less expensive alternatives, such as byproducts from the vegetable oil industry, have not been examined. A byproduct is a product that has value as an animal feed and is obtained during processing of a commodity in which a human food or fuel is derived (Fadel, 1999). Soapstocks constitute a substantial portion of the oil which is obtained from alkali refining of vegetable oil (Bender, 2009). Consequently, these products usually consist of soaps, neutral oils, gums and other materials such as meal fines which can be found in the crude oil. The chemical composition of soapstocks depends on the type of oil and refining conditions (Woerfel, 1983). Information on use of soapstocks in ruminant feeding is scarce, even though it has been regarded as a promising and economical source of partially protected lipid for use in the diets for dairy and beef cattle (Shain et al., 1993; Abel Caines et al., 1998). Additionally, Perry and Weatherly (1976) proposed inclusion of soapstocks in the diet as an approach to reduce rumen CH₄ production, but no further studies were completed in this area.

The aim of this study was to examine effects of diets with different forage to concentrate ratios, and the potential of different soapstocks added at two doses to these diets, to modify ruminal fermentation *in vitro*, in particular CH₄ production.

2. Material and methods

2.1. *In vitro* fermentation

Four soapstocks from processing of palm, olive, soybean and sunflower oils (SSpalm, SSoliv, SSsoyb and SSsunf, respectively) and a 4:1 mixture of lauric and miristic acids were used. Soapstocks were obtained from a refinery industry (RIOS, Baeza-Linares, Spain). The mixture of 4:1 lauric:miristic acid (Sigma–Aldrich, St. Louis, MO, USA) was used as a positive control due to their known antimethanogenic properties (Soliva et al., 2004a). The four soapstocks and the mixture of lauric and miristic acids (LMA) were individually added at doses of 30 and 60 g/kg DM to diets with different forage proportions (50, 150 and 250 g barley straw/kg diet – as fed basis – to create the F5, F15 and F25 diets) to examine their effects on ruminal fermentation. The 30 and 60 g/kg doses are the range at which these type of ingredients are usually used in animal feeding (Mao et al., 2010; Martin et al., 2008; McGinn et al., 2004). The ingredients and chemical composition of the diets, as well as the chemical composition of the soapstocks (main FA) are in Table 1.

In vitro gas production measurements were conducted using a pressure transducer as described by Theodorou et al. (1994). Samples of 400 mg of substrate (F5, F15 or F25 diets including 30 or 60 g/kg DM of the materials, and controls without

Table 1
Ingredients and chemical composition of diets and soapstocks.

		Diets			
		F5	F15	F25	
<i>Ingredients (g/kg)</i>					
	Barley grain	490	433	388	
	Maize grain	210	150	80	
	Soybean meal (440 g CP/kg)	220	237	252	
	Barley straw	50	150	250	
	Vitamin mineral supplement	30	30	30	
<i>Chemical composition (g/kg DM)</i>					
	DM (g/kg)	893	896	900	
	aNDF	196	259	323	
	Crude protein	181	181	181	
	Ash	60	73	83	
		Soapstocks			
		SSpalm	SSoliv	SSsoyb	SSsunf
<i>Fatty acids (g/kg)</i>					
	C16:0	240	120	110	90
	C18:0	225	45	60	45
	C18:1	330	655	350	360
	C18:2	175	150	450	475
	MUFA	365	665	350	365
	PUFA	190	160	470	490
	SFA	445	175	180	145

additives) were weighed into 120 ml serum bottles to which 50 ml of diluted rumen fluid were dispensed. Rumen fluid was previously diluted 1:4 (v/v) with a culture medium containing macro- and micro-mineral solutions, a bicarbonate buffer solution and resazurin, prepared as described by [García-González et al. \(2008\)](#) but without CaCl_2 to prevent interactions between a FA effect and Ca, as suggested by [Soliva et al. \(2004a\)](#). The medium was maintained at 39 °C and saturated with CO_2 , with O_2 reduced by addition of a solution containing cysteine hydrochloride and Na_2S . Blanks were used to compensate for gas production in the absence of substrate. Once filled, bottles were closed with rubber stoppers and aluminium seals, shaken and placed in the incubator at 39 °C.

The experiment was designed as a factorial plus structure (3 diets $\times$ 5 additive treatments (SSpalm, SSoliv, SSsoyb, SSsunf and LMA) $\times$ 2 doses (30 and 60 g/kg) plus a control treatment), according to [Lentner and Bishop \(1993\)](#) and [Marini \(2003\)](#). Incubations were in three batches in three consecutive weeks with different sources of rumen inocula. Multiple feeds (*i.e.*, diets with increasing proportion of straw) and increasing levels of each additive (LMA or soapstock) were used to obtain a sufficient number of statistical units ([Udén et al., 2012](#)). Within each batch, 68 vials were incubated, corresponding to one inoculum $\times$ 3 diets $\times$ [5 additive treatments (SSpalm, SSoliv, SSsoyb, SSsunf and LMA) $\times$ 2 different doses (30 and 60 g/kg) + 1 control without additive] $\times$ 2 replicates + 2 blanks.

2.2. Measurements and chemical analysis

At 24 h of incubation, gas pressure and volume were recorded using a pressure transducer (Delta Ohm DTP704-2BGI, Herter Instruments SL, Barcelona, Spain) and a graduated syringe, and a gas sample (10 ml) was taken from each bottle and analyzed for CH_4 concentration. Fermentation was immediately stopped by swirling the bottles in ice. Once bottles were open, pH was measured using a pH meter, and samples of their contents were used for volatile fatty acid (VFA) determination. The CH_4 was determined by gas chromatography ([García-González et al., 2008](#)), and VFA were determined by gas chromatography using crotonic acid as the internal standard ([Ottenstein and Bartley, 1971](#)).

2.3. Calculations and statistical analysis

The volume of CH_4 (M , ml) produced at the end of incubation was calculated from the volume of gas and the gas composition data ([López et al., 2007](#)) as:

$$M = (G + Vh)C,$$

Table 2

Effects of forage level and dose of soapstock on gas and CH_4 production *in vitro* after 24 h of incubation.

	Gas	Methane	
	ml/g DM incubated	ml/100 ml gas	mmol/g DM
<i>Diet effect</i>			
F5	181	10.1	0.80
F15	160	11.0	0.76
F25	139	11.2	0.70
RSD	2.5	1.02	0.069
P linear	<0.001	0.016	0.002
<i>Dose effects by material</i>			
Control	172	12.5	0.96
LMA3	157	11.0	0.76
LMA6	143	9.4	0.56
RSD	1.7	0.58	0.037
P linear	<0.001	0.003	<0.001
SSpalm3	169	11.9	0.88
SSpalm6	161	10.0	0.69
RSD	3.4	1.51	0.095
P linear	0.014	0.115	0.024
SSoliv3	164	10.1	0.73
SSoliv6	155	11.4	0.77
RSD	3.3	1.11	0.065
P linear	0.003	0.295	0.021
SSsoyb3	163	11.0	0.79
SSsoyb6	155	10.5	0.70
RSD	1.8	0.92	0.085
P linear	<0.001	0.061	0.019
SSsunf3	164	10.3	0.75
SSsunf6	159	10.4	0.69
RSD	2.7	0.91	0.067
P linear	0.004	0.053	0.007

where G is the volume (ml) of gas produced at the end of incubation (24 h), V_h is the volume (ml) of the headspace in the serum bottle and C is the proportion of CH_4 in the analyzed sample.

The total number of observations was $3 \text{ (diets)} \times [(5 \text{ (treatments)} \times 2 \text{ (doses)}) + 1 \text{ (control)}] \times 2 \text{ (vials)} \times 3 \text{ (runs)} = 198$ but, after averaging vial and run replicates (Udén et al., 2012), the remaining 33 observations were subjected to analysis of variance. According to the experimental design, data were subjected to analysis of variance, including the main effects of diet, additive, dose and their interactions (Marini, 2003). As there were no effects of interactions ($P > 0.05$) for any of the variables, in order to get much information as possible a second analysis was completed. To study effects of diet, a model was used with proportion of forage in the diet (50, 150, 250 g/kg) as the treatment factor with 11 replicates/diet resulting from 5 additive treatments of SSPalm, SSoliv, SSoyb, SSunf and LMA $\times 2$ doses (30 and 60 g/kg) plus a control treatment as proposed by Marini (2003). To study the effects of dose of the materials, a separate analysis was conducted for each soapstock and for LMA. In this case, the statistical model included dose of additive (i.e., 0, 30, 60 g/kg) as the treatment factor with 3 replicates/dose (corresponding to the mean values for each diet; Udén et al., 2012). Polynomial contrasts were used to identify the form of the response (Robinson et al., 2006) to the increasing proportion of straw in the diet or to the increasing level of addition to the diet of either LMA or each soapstock. All analyses were used the GLM procedure of SAS (2008).

3. Results

Effects of forage level and dose on gas and CH_4 production are in Table 2. All additives linearly decreased gas production ($P < 0.05$). The LMA, SSoliv, SSoyb and SSunf reduced CH_4 production/gram DM incubated ($P < 0.05$), whereas SSPalm had a tendency to a decrease. Similarly, LMA reduced CH_4 proportion in gas ($P < 0.05$). As the forage proportion increased, methane proportion in the gas ($P < 0.05$) increased, while gas production and CH_4 production/gram DM incubated decreased ($P < 0.05$).

Effects of the dose of each material on VFA production and CH_4 produced/mol of total VFA formed are in Table 3. As LMA increased, there was a decrease in acetate production ($P < 0.05$). Of the soapstocks studied, only SSoyb had an effect on VFA production in that a linear increase ($P < 0.05$) on propionate production occurred. All materials had a decreasing linear effect ($P < 0.05$) on CH_4 produced/mol total VFA formed, although this effect was subtle for SSPalm. Total and individual (except for branched FA) VFA production decreased as barley straw increased in the diet ($P < 0.05$).

Effects of soapstocks and barley straw level on VFA proportions are in Table 4. A positive linear effect of LMA on propionate molar proportion ($P < 0.05$) and pH occurred ($P < 0.01$). As LMA increased, there was a decrease in acetate molar proportion ($P < 0.01$) and the acetate to propionate ratio ($P < 0.05$). As the doses of SSoliv, SSoyb and SSunf increased, there was a linear

Table 3

Effects of forage level and dose of soapstock on VFA production *in vitro* after 24 h of incubation.

	VFA production (mmol/g DM)					mol CH_4 /mol total VFA
	Acetate	Propionate	Butyrate	Branched	Total	
<i>Diet effect</i>						
F5	2.54	1.40	0.76	0.10	4.83	0.166
F15	2.54	1.21	0.66	0.14	4.62	0.163
F25	2.19	1.03	0.55	0.10	3.93	0.178
RSD	0.129	0.082	0.037	0.015	0.241	0.0183
P linear	<0.001	<0.001	<0.001	0.502	<0.001	0.147
<i>Dose effects by material</i>						
Control	2.44	1.12	0.63	0.11	4.35	0.223
LMA3	2.31	1.16	0.70	0.10	4.32	0.176
LMA6	2.09	1.27	0.60	0.10	4.11	0.138
RSD	0.110	0.130	0.032	0.013	0.229	0.0143
P linear	0.017	0.243	0.256	0.661	0.261	0.002
SSpalm3	2.68	1.26	0.71	0.12	4.85	0.181
SSpalm6	2.50	1.21	0.66	0.12	4.56	0.152
RSD	0.116	0.066	0.056	0.007	0.237	0.0291
P linear	0.558	0.178	0.578	0.091	0.339	0.041
SSoliv3	2.51	1.21	0.63	0.12	4.54	0.160
SSoliv6	2.39	1.23	0.65	0.11	4.32	0.178
RSD	0.096	0.048	0.024	0.018	0.144	0.0147
P linear	0.572	0.057	0.324	0.565	0.796	0.020
SSoyb3	2.42	1.21	0.67	0.13	4.48	0.177
SSoyb6	2.45	1.27	0.64	0.12	4.50	0.157
RSD	0.101	0.058	0.007	0.019	0.218	0.0202
P linear	0.921	0.037	0.166	0.514	0.455	0.016
SSunf3	2.51	1.22	0.66	0.11	4.57	0.165
SSunf6	2.39	1.22	0.65	0.11	4.44	0.157
RSD	0.150	0.068	0.019	0.008	0.236	0.0192
P linear	0.686	0.160	0.283	0.556	0.670	0.013

Table 4Effects of forage level and dose of soapstock on VFA proportions and pH *in vitro* after 24 h of incubation.

	VFA proportion (mmol/100 mmol)			Acetate/propionate	pH
	Acetate	Propionate	Butyrate		
<i>Diet effect</i>					
F5	52.3	28.9	15.5	1.84	6.69
F15	55.0	26.5	14.4	2.10	6.74
F25	55.5	26.5	13.9	2.13	6.78
RSD	1.10	1.09	0.76	0.096	0.008
P linear	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
<i>Dose effects by material</i>					
Control	56.3	25.9	14.4	2.18	6.73
LMA3	53.7	27.0	16.3	2.04	6.75
LMA6	50.8	31.1	14.5	1.73	6.76
RSD	1.20	1.87	1.31	0.132	0.003
P linear	0.005	0.027	0.875	0.014	<0.001
SSpalm3	55.2	26.0	14.6	2.14	6.72
SSpalm6	55.0	26.6	14.3	2.08	6.74
RSD	0.81	0.51	0.60	0.064	0.009
P linear	0.129	0.167	0.883	0.130	0.568
SSoliv3	55.3	26.7	13.8	2.09	6.73
SSoliv6	53.7	27.5	14.6	1.97	6.74
RSD	0.68	0.44	0.71	0.051	0.004
P linear	0.010	0.010	0.713	0.007	0.149
SSsoyb3	53.8	27.3	15.0	2.00	6.72
SSsoyb6	54.0	28.0	13.9	1.94	6.74
RSD	0.66	0.41	0.67	0.030	0.003
P linear	0.014	0.003	0.478	0.001	0.186
SSsunf3	55.0	26.7	14.4	2.08	6.74
SSsunf6	53.9	27.4	14.5	1.98	6.73
RSD	0.79	0.65	0.45	0.079	0.010
P linear	0.021	0.042	0.673	0.034	0.883

increase in propionate molar proportion and a decrease in acetate molar proportion and acetate to propionate ratio ($P < 0.05$), whereas SSpalm had no effect. As barley straw level increased in the diet, there was a linear decrease in propionate and butyrate molar proportions and a linear increase in acetate molar proportion, acetate to propionate ratio and pH ($P < 0.001$).

4. Discussion

The chemical composition of these soapstocks varies depending on their origin. Thus, SSsoyb and SSsunf had very similar FA profiles, differing slightly in PUFA (higher for SSsunf than SSsoyb) and in the SFA (slightly higher for SSsoyb). However, SSpalm and SSoliv were different with SSpalm richer in SFA (C16:0, C18:0) than the other soapstocks, whereas SSoliv had the highest C18:1 content. Both SSpalm and SSoliv had lower C18:2 and PUFA than SSsoyb and SSsunf.

It was clear that as the proportion of barley straw in the diet increased the fermentation rate slowed (or diminished), similar to Blümmel et al. (1997). Consequently, as the fermentation end-point was the same for all the diets, VFA, CH₄ and gas production decreased due to the lower fermentable organic matter in the batch cultures (Doane et al., 1997). Methane produced/mol of total VFA formed was not affected by diet, showing that diet effects on CH₄ production are unspecific and, therefore, the reduction in CH₄ production when the forage proportion in the diet was increased could be due to a decrease in the amount of substrate fermented (Navarro-Villa et al., 2011). However, there was a linear increase in CH₄ proportion in the gas produced in response to increased levels of forage in the diet. This result is expected and linked to the increase in acetate molar proportion and acetate to propionate ratio and a decrease in propionate molar proportion. An increase in forage in the diet will increase methanogenesis, mainly due to modification of ruminal fermentation towards acetogenesis, whereas concentrate rich diets result in preferential production of propionate (Johnson and Johnson, 1995; Chesson and Forsberg, 1997; Martin et al., 2010).

As expected according to the results of Soliva et al. (2004a,b), LMA had a noticeable effect on gas and CH₄ production and thus was used as a positive control. Gas and CH₄ production/gram DM incubated were affected to a smaller extent in SSpalm (4% reduction in gas production and 18% reduction of CH₄ production), whereas SSoliv, SSsoyb and SSsunf caused a higher decrease in gas production (7, 7 and 6% lower than control, respectively) and in CH₄ production (22, 22 and 25% lower than the control, respectively). These differences could be related to the different degree of unsaturation of the FA in each of the soapstocks. In this sense, it has been proposed that the rank of inhibitory activity on ruminal fermentation of several FA would be: C18:1 > C14 > C12 > C16 > C18 (Dong et al., 1997; Maczulak et al., 1981), which would be consistent with our results. The decrease in CH₄ production attributed to SSoliv can be considered variable and inconsistent (given the erratic

dose–response pattern with this soapstock) while, for the rest of the soapstocks, the dose–response was usually linear. SSsoyb and SSsunf soapstocks showed a tendency to linearly decrease CH₄ proportion in the gas (14 and 17% reduction, respectively), which is of a similar extent to the effect caused by addition of LMA (18%).

Effects in gas and CH₄ production for SSsoyb and SSsunf are consistent with those reported regarding use of sunflower and soybean oils. Thus, Pilajun et al. (2010), using different coconut and sunflower oil ratios offered at a dose of 50 g/kg of concentrate DM to fattening steers, observed that CH₄ concentration linearly decreased as sunflower oil proportion increased. Similarly, McGinn et al. (2004) reported that adding 50 g of sunflower oil per kg of DM to the diet for fattening steers substantially decreased CH₄ emissions. Machmüller et al. (1998) observed, in an *in vitro* study, a negative effect of sunflower, linseed and coconut oils on protozoa population (reductions of 47, 43 and 77% in entodiniomorphs counts, respectively), but they pointed out that the largest reductions in CH₄ proportion were with coconut oil. These differences in the activity of the oils must be related to the conditions of the experiment (*in vivo* or *in vitro*) and characteristics of the diet, since this seems to be a key factor in determining the effects (Machmüller et al., 2003). However the potential of soybean oil to decrease CH₄ production from the rumen has been already demonstrated when it was added to diets for fattening lambs (Mao et al., 2010) and dairy goats (Li et al., 2009).

The main reasons for the decrease in CH₄ produced from rumen fermentation when lipid sources were added to the diets were outlined by Machmüller et al. (2000) as: the reduced supply of fermentable OM, reduced fiber fermentation due to a depressed digestibility, and direct inhibitory effects against CH₄ producing rumen microbes. Soapstocks seemed to decrease ruminal fermentability, as evidenced by the lower gas production, although VFA production was not affected by any soapstock or by LMA. Methane production per mol of total VFA was linearly decreased with higher doses of LMA, SSpalm, SSsoyb and SSsunf, indicating that, with these compounds, the reduction in gas and CH₄ production cannot be explained solely by a reduction in fermentation of OM, and suggesting that a specific inhibitory effect on methanogenesis may have occurred.

Although it has been suggested that lipid supplements may reduce methanogenesis through an inhibiting effect on protozoa (Johnson and Johnson, 1995), reducing CH₄ production due to vegetable oil feeding has also occurred in defaunated animals. These effects may be due to direct inhibition of some species of methanogens (Dohme et al., 1999, 2001; Soliva et al., 2004a,b; Machmüller et al., 2000, 2003). Furthermore, the oils in the soapstocks would also provide an alternative H sink in the rumen (Johnson and Johnson, 1995), although H can also accumulate in the gas as H₂ (Soliva et al., 2004b). However, the increasing amount of H₂ produced must be used elsewhere, because pH did not decline in any case, and even linearly increased with LMA. Therefore, changes in VFA proportions could be expected. Thus LMA, and all the soapstocks except SSpalm, linearly increased propionate molar proportion while linearly decreasing acetate molar proportion and the acetate to propionate ratio. Most materials did not affect this VFA concentrations, but LMA linearly decreased acetate production which could be partially a consequence of its inhibiting effect on gas production since this is the most abundant VFA. However SSsoyb caused a linear increase in propionate production and a very slight and unexpected linear increase in butyrate production. The increase in propionate proportion, and the resulting drop in acetate proportion and acetate to propionate ratio, were expected because propionate formation is known for its inverse relationship to CH₄ formation (Whitelaw et al., 1984). It is known that propionate production requires interactions between microbial species which produce succinate, an H₂ demanding process, and other microbial species that decarboxylate succinate to propionate (Wolin et al., 1997).

5. Conclusions

Results suggest that soapstocks, especially those from the sunflower and soybean oil refinery industries, are promising dietary alternatives to depress ruminal methanogenesis. These findings suggest further studies in which soapstocks are used as ruminant feeds, and its impact on animal performance and animal products, as these materials would provide ruminants with unsaturated FA whose metabolites in animal products could be positive to its human consumers.

Acknowledgements

The authors acknowledge the financial support from the Spanish Ministry of Science and Innovation, Project AGL2010-19094. Raúl Bodas and Nuria Prieto have a JAE-Doc contract and Lara Morán was supported by a JAE-Predoc grant under the programme 'Junta para la Ampliación de Estudios' (CSIC-European Social Fund).

References

- Abel Caines, S.F., Grant, R.J., Morrison, M., 1998. Effect of soybean hulls, soy lecithin and soapstock mixtures on ruminal fermentation and milk composition in dairy cows. *J. Anim. Sci.* 81, 462–470.
- Bender, D.A., 2009. Dictionary of Food and Nutrition. Oxford University Press Inc., New York, USA.
- Blümmel, M., Steingass, H., Becker, K., 1997. The relationship between *in vitro* gas production, *in vitro* microbial biomass yield and 15N incorporation and its implications for the prediction of voluntary feed intake of roughages. *Br. J. Nutr.* 77, 911–921.
- Chesson, A., Forsberg, C.W., 1997. Polysaccharide degradation by rumen microorganisms. In: Hobson, P.N., Stewart, C.S. (Eds.), *The Rumen Microbial Ecosystem*. 2nd ed. Chapman & Hall Ltd., London, UK.
- Czerkawski, J.W., Blaxter, K.L., Wainman, F.W., 1966. The metabolism of oleic, linoleic and linolenic acids by sheep with reference to their effects on methane production. *Br. J. Nutr.* 20, 349–362.

- Doane, P.H., Schofield, P., Pell, A.N., 1997. Neutral detergent fiber disappearance and gas and volatile fatty acid production during the *in vitro* fermentation of six forages. *J. Anim. Sci.* 75, 3342–3352.
- Dohme, F., Machmüller, A., Estermann, B.L., Pfister, P., Wasserfallen, A., Kreuzer, M., 1999. The role of the rumen ciliate protozoa for methane suppression caused by coconut oil. *Lett. Appl. Microbiol.* 29, 187–192.
- Dohme, F., Machmüller, A., Wasserfallen, A., Kreuzer, M., 2001. Ruminant methanogenesis as influenced by individual fatty acids supplemented to complete ruminal diets. *Lett. Appl. Microbiol.* 32, 47–51.
- Dong, Y., Bae, H.D., McAllister, T.A., Mathison, G.W., Cheng, K.-J., 1997. Lipid-induced depression of methane production and digestibility in the artificial rumen system (RUSITEC). *Can. J. Anim. Sci.* 77, 269–278.
- Fadel, J.G., 1999. Quantitative analyses of selected plant by-product feedstuffs, a global perspective. *Anim. Feed Sci. Technol.* 79, 255–268.
- Fievez, V., Dohme, F., Danneels, M., Raes, K., Demeyer, D., 2003. Fish oils as potent rumen methane inhibitors and associated effects on rumen fermentation *in vitro* and *in vivo*. *Anim. Feed Sci. Technol.* 104, 41–58.
- García-González, R., López, S., Fernández, M., Bodas, R., González, J.S., 2008. Screening the activity of plants and species for decreasing ruminal methane production *in vitro*. *Anim. Feed Sci. Technol.* 147, 36–52.
- Johnson, K.A., Johnson, D.E., 1995. Methane emissions from cattle. *J. Anim. Sci.* 73, 2483–2492.
- Lentner, M., Bishop, T., 1993. *Experimental Design and Analysis*, 2nd ed. Valley Book Co., Blacksburg, VA, USA.
- Li, X.Z., Yan, C.G., Long, R.J., Jin, G.L., Shine Khuu, J., Ji, J., Choi, S.H., Lee, H.G., Song, M.K., 2009. Conjugated linoleic acid in rumen fluid and milk fat, and methane emission of lactating goats fed a soybean oil-based diet supplemented with sodium bicarbonate and monensin. *Asian Aust. J. Anim. Sci.* 22, 1521–1530.
- López, S., Dhanoa, M.S., Dijkstra, J., Bannink, A., Kebreab, E., France, J., 2007. Some methodological and analytical considerations regarding application of the gas production technique. *Anim. Feed Sci. Technol.* 135, 139–156.
- Machmüller, A., Ossowski, D.A., Wanner, M., Kreuzer, M., 1998. Potential of various fatty feeds to reduce methane release from rumen fermentation *in vitro* (Rusitec). *Anim. Feed Sci. Technol.* 71, 117–130.
- Machmüller, A., Ossowski, D.A., Kreuzer, M., 2000. Comparative evaluation of the effects of coconut oil, oilseeds and crystalline fat on methane release, digestion and energy balance in lambs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 85, 41–60.
- Machmüller, A., Soliva, C.R., Kreuzer, M., 2003. Methane-suppressing effect of myristic acid in sheep as affected by dietary calcium and forage proportion. *Br. J. Nutr.* 90, 529–540.
- Maczulak, A.E., Dehority, B.A., Palmquist, D.L., 1981. Effects of long chain fatty acids on growth of rumen bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 42, 856–862.
- Mao, H.-L., Wang, J.-K., Zhou, Y.-Y., Liu, J.-X., 2010. Effects of addition of tea saponins and soybean oil on methane production, fermentation and microbial population in the rumen of growing lambs. *Livest. Sci.* 129, 56–62.
- Marini, R.P., 2003. Approaches to analyzing experiments with factorial arrangement of treatments plus other treatments. *Hortscience* 38, 117–120.
- Martin, C., Rouel, J., Jouany, P., Doreau, M., Chilliard, Y., 2008. Methane output and diet digestibility in response to feeding dairy cows crude linseed, extruded linseed, or linseed oil. *J. Anim. Sci.* 86, 2642–2650.
- Martin, C., Morgavi, D.P., Doreau, M., 2010. Methane mitigation in ruminants: from microbe to the farm scale. *Animal* 4, 351–365.
- McGinn, S.M., Beauchemin, K.A., Coates, T., Colombatto, D., 2004. Methane emissions from beef cattle: effects of monensin, sunflower oil, enzymes, yeast, and fumaric acid. *J. Anim. Sci.* 82, 3346–3356.
- Moss, A.R., Jouany, J.P., Newbold, J., 2000. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. *Ann. Zootech.* 49, 231–253.
- Navarro-Villa, A., O'Brien, M., López, S., Boland, T., O'Kiely, P., 2011. Modifications of a gas production technique for assessing *in vitro* rumen methane production from feedstuffs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 166–167, 163–174.
- Ottenstein, D.M., Bartley, D.A., 1971. Improved gas chromatography separation of free fatty acid C2–C5 in dilute solution. *Anal. Chem.* 43, 952–955.
- Perry, T.W., Weatherly, W.H., 1976. Supplemental corn steep liquor, soap stock and soybean oil for finishing beef steers. *J. Anim. Sci.* 42, 1002–1007.
- Pilajun, K., Wanapat, M., Wachirapakorn, C., Navanukroaw, C., 2010. Effect of coconut oil and sunflower oil ratio on ruminal fermentation, rumen microorganisms, N-balance and digestibility in cattle. *J. Anim. Vet. Adv.* 9, 1868–1874.
- Robinson, P.H., Wiseman, J., Udén, P., Mateos, G.G., 2006. Some experimental design and statistical criteria for analysis of studies in manuscripts submitted for consideration for publication. *Anim. Feed Sci. Technol.* 129, 1–11.
- SAS Institute Inc., 2008. *SAS/STAT® 9.2 User's guide*. SAS Inst Inc, Cary, NC, USA.
- Shain, D.H., Sindt, M.H., Grant, R.J., Klopfenstein, T.J., Stock, R.A., 1993. Effect of a soybean hull:soy lecithin soapstock mixture on ruminal digestion performance of growing beef calves lactating dairy cattle. *J. Anim. Sci.* 1993, 1266–1275.
- Soliva, C.R., Hindrichsen, C.R., Meile, I.K., Kreuzer, M., Machmüller, M.A., 2003. Effects of mixtures of lauric and myristic acid on rumen methanogens and methanogenesis *in vitro*. *Lett. Appl. Microbiol.* 37, 35–39.
- Soliva, C.R., Meile, L., Hindrichsen, I., Kreuzer, M., Machmüller, A., 2004a. Myristic acid supports the immediate inhibitory effect of lauric acid on ruminal methanogens and methane release. *Anaerobe* 10, 269–276.
- Soliva, C.R., Meile, L., Cieslak, A., Kreuzer, M., Machmüller, A., 2004b. Rumen simulation technique study on the interactions of dietary lauric and myristic acid supplementation in suppressing ruminal methanogenesis. *Br. J. Nutr.* 92, 689–700.
- Theodorou, M.K., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., McAllan, A.B., France, J., 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* 48, 185–197.
- Udén, P., Robinson, P.H., Mateos, G.G., Blank, R., 2012. Use of replicates in statistical analyses. *Anim. Feed Sci. Technol.* 171, 1–5.
- Whitelaw, F.G., Eadie, J.M., Bruce, I.A., Shand, W.J., 1984. Methane formation in faunated and ciliate-free cattle and its relationship with rumen volatile fatty acid proportions. *Br. J. Nutr.* 52, 261–275.
- Woerfel, J.B., 1983. Alternatives for processing of soapstock. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 60, 310–313.
- Wolin, M.J., Miller, T.L., Stewart, C.S., 1997. Microbe–microbe interactions. In: Hobson, P.N., Stewart, C.S. (Eds.), *The Rumen Microbial Ecosystem*. Chapman and Hall, London, UK, pp. 467–491.

Capítulo IV

Effects of dietary inclusion of sunflower soap stocks on nutrient digestibility, growth performance, and ruminal and blood metabolites of light fattening lambs

Publicado en: Journal of Animal Science

Effects of dietary inclusion of sunflower soap stocks on nutrient digestibility, growth performance, and ruminal and blood metabolites of light fattening lambs¹

C. Blanco,^{*2} F. J. Giráldez,^{*} N. Prieto,^{*3} L. Morán,^{*}
S. Andrés,^{*} J. Benavides,^{*} M. L. Tejido,^{*} and R. Bodas[†]

^{*}Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-Universidad de León), E-24346 Grulleros (León), Spain; and [†]Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León, Finca Zamadueñas, Ctra. Burgos, km 119, E-47071 Valladolid, Spain

ABSTRACT: Forty-four merino lambs (6 to 8 wk old; BW 15.6 ± 0.21 kg) were used to study the effect of adding different proportions of sunflower soap stock (SS) to pelleted total mixed ration (TMR) for fattening lambs on feed intake, animal growth and dressing percentage, ruminal fluid characteristics, and blood acid-base parameters. Lambs were assigned to 1 of 4 experimental groups (11 lambs per group), each randomly assigned to 1 dietary treatment: 00SS (0 g SS/kg TMR pellet), 15SS (15 g SS/kg TMR pellet), 30SS (30 g SS/kg TMR pellet), and 60SS (60 g SS/kg TMR pellet). Lambs were individually fed the corresponding diet ad libitum. On d 19 to 23, total feces were collected and sampled from 4 lambs per group. When lambs reached 27 kg BW, they were slaughtered. Dry matter intake, ADG, and length of fattening period were not affected by the dietary treatment ($P > 0.10$). Animals in the 30SS group tended to show the best G:F values ($P < 0.10$). Dressing percentage tended to linearly decrease as SS increased ($P < 0.10$).

Animals in the 60SS groups showed the lowest DM and fiber digestibility values ($P < 0.05$). Total VFA contents in ruminal fluid were not affected ($P > 0.10$), but the propionate proportion linearly increased ($P < 0.05$), and the acetate to propionate ratio tended to decrease with SS supplementation. Increasing dietary content of SS linearly decreased the cold carcass weight ($P < 0.05$) but did not affect other measured carcass characteristics. Ruminal fluid pH tended to decrease ($P < 0.10$) and mucosa color decreased as SS increased in the TMR ($P < 0.05$). Blood pH and Na concentration increased ($P < 0.05$), whereas the anion gap, CO₂ pressure, and K concentration linearly decreased ($P < 0.05$) as SS increased. Including more than 30 g SS/kg TMR in the diet for fattening lambs reduces DM and fiber digestibility without affecting feed intake and ADG. The acidotic rumen conditions that induced a darkening of rumen mucosa were counteracted by blood acid-base parameters. The optimum level of inclusion seems to be 30 g SS/kg TMR.

Key words: carcass traits, digestibility, growth performance, lambs, soap stock

© 2014 American Society of Animal Science. All rights reserved.

J. Anim. Sci. 2014.92:4086–4094
doi:10.2527/jas2014-7693

INTRODUCTION

Fattening lambs are fed on cereals and agroindustrial by-product-based concentrate rations, to which fats are added as an energy supplement (Sañudo et al., 1998; Castro et al., 2005). Including fats and oils in these rations avoids the use of highly fermentable carbohydrates and reduces the risk of rumen acidosis (Bauman et al., 2003; Bodas et al., 2007; Enemark, 2008) and enables meat or milk fatty acid (FA) composition to be modified (Castro et al., 2005). Likewise, fats and oils exert an inhibitory effect on ruminal methane production, which helps enhance energy efficiency and reduce livestock environmental impact (Machmüller, 2006).

¹Financial support received from the Spanish Ministry of Science and Innovation, Project AGL2010-19094. Nuria Prieto, Julio Benavides, and María Luisa Tejido had a JAE-Doc contract, and Lara Morán was supported by a JAE-Predoc grant under the program “Junta para la Ampliación de Estudios” (CSIC-European Social Fund); Raúl Bodas has a subprogram “Doc-INIA” contract, and Carolina Blanco is supported by a contract for young researchers (Council of Castile and León and European Social Fund). The authors declare no conflict of interest.

²Corresponding author: carolina.bf@eae.csic.es

³Present address: Department of Agricultural, Food and Nutritional Science, University of Alberta, 4-10 Agriculture/Forestry Centre, Edmonton, AB T6G 2P5, Canada.

Received February 4, 2014.

Accepted July 10, 2014.

However, the use of some vegetable oils that can be destined for human consumption may imply competition between humans and animals for the same resources. Soap stocks are a by-product from the vegetable oil refining industry (Woerfel, 1983; Bender, 2009) and have been proposed as an economical lipid supplement for ruminants (Shain et al., 1993; Abel Caines et al., 1998). Using by-products is a strategy that allows us to reduce feeding costs and to cope with the need for recycling waste material (Vasta et al., 2008).

Sunflower oil soap stocks (SS) have shown a promising depressing effect on ruminal methanogenesis (Blanco et al., 2012). Nevertheless, soap stocks are calcium soaps of FA and present high levels of NEFA (Bock et al., 1991), which could influence diet palatability. Additionally, soap stocks have lower pH values (around 4.5), showing an acidogenic effect and being toxic for ruminal microbiota (Doreau and Chilliard, 1997).

The balance between beneficial and adverse effects of SS will depend on the level of dietary inclusion. Little information is available on the effects of soap stock supplementation on lamb growth responses. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of different levels of SS included in the pelleted total mixed ration (TMR) for light fattening lambs on feed intake and digestibility, animal performance, carcass characteristics, and ruminal and blood acid-base parameters.

MATERIAL AND METHODS

Animals and Diets

Forty-four male merino lambs (6 to 8 wk old; BW 15.6 ± 0.21 kg at the beginning of the experiment) were used in this study. The lambs remained with their dams, with free access to commercial starter concentrate and alfalfa hay, and were weaned before the beginning of the trial. Before the commencement of the experimental period, lambs were treated to prevent white muscle disease (Vitasel, Laboratorios Ovejero, León, Spain), vaccinated against enterotoxaemia (Miloxan, Merial, Bilbao, Spain), and given an anthelmintic treatment (Ivomet, Merial Laboratory). Afterward, lambs were assigned to 4 groups on the basis of BW and were housed in individual pens (0.7, 0.9, and 1.0 m in width, length, and height, respectively, with individual feeding and watering troughs) for the entire experimental period. The 4 groups of lambs ($n = 11$) were then randomly assigned (in a complete randomized design) to the following 4 diets (treatments) with different SS concentrations: **00SS** (0 g SS/kg TMR pellet), **15SS** (15 g SS/kg TMR pellet), **30SS** (30 g SS/kg TMR pellet), and **60SS** (60 g SS/kg TMR pellet). The SS was obtained from a refinery industry (RIOSa, Baeza-Linares, Spain) and came

Table 1. Ingredients and chemical composition of experimental diets¹

Item	00SS	15SS	30SS	60SS
Ingredients, g/kg (as-fed basis)				
Barley	433	417	404	375
Corn	150	145	140	130
Soybean meal 44	237	243	246	255
Barley straw	150	150	150	150
Sunflower soap stock	—	15	30	60
Mineral-vitamin premix ²	30	30	30	30
Chemical composition, g/kg DM				
DM, g/kg	900	896	897	897
NDF	227	219	218	212
ADF	121	117	117	110
CP	174	178	178	182
Fat	30.1	40.7	56.0	69.9
Ash	68	69	67	72
ME, ³ kcal/kg	2464	2509	2553	2643
pH	6.72	6.47	6.19	6.26

¹00SS = total mixed ration (TMR) pellet without sunflower soap stock (SS), 15SS = TMR pellet containing 15 g SS/kg, 30SS = TMR pellet containing 30 g SS/kg, 60SS = TMR pellet containing 60 g SS/kg.

²Manufactured by DMS Nutritional Products S.A. (Madrid). The premix contained (per kg) 2.25 g vitamin A, 0.02 g vitamin D₃, 10 g vitamin E, 0.25 g vitamin K₃, 0.50 g vitamin B₁, 0.50 g vitamin B₂, 2.50 g vitamin B₅, 0.50 g vitamin B₆, 5 g vitamin B₁₂, 5 g vitamin B₃, 50 g choline chloride, 17.50 g Fe, 15 g Zn, 2.5 g Cu, 20 g Mn, 0.05 g Co, 0.25 g I, 0.10 g Se, 259 g Ca, and 50.5 g Mg.

³Calculated from Fundación Española Desarrollo Nutrición Animal (2003).

from the processing of sunflower oil. Barley straw to be included in the pellets was ground to pass a 2-mm screen; all the ingredients (including SS and barley straw) were mixed together and steam pelleted (85°C, 4 bar) to 4 × 10 mm (diameter × length) pellets. The ingredients and chemical composition of the diets are shown in Table 1.

To avoid initial digestive disorders, lambs were allowed to adapt to their TMR by feeding the corresponding experimental diet at a restricted level (i.e., allowing intakes of 200 to 400 g/d for the first 5 d, preexperimental period). Afterward, each lamb was fed the corresponding TMR ad libitum, with free access to water. All lambs received the TMR once a day at 0900 h, with the amount of feed offered being adjusted daily on the basis of the previous day's intake, allowing refusals of approximately 20% of feed offered. Orts were collected daily and pooled in weekly composites for each animal and analyzed for DM content. Samples of the feeds offered were collected weekly and analyzed for DM, CP, ether extract (EE), NDF, and ADF content (see below). All handling practices followed the recommendations of Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of the protection of animals used for scientific purposes (European Commission, 2010), and all of the lambs used were able to see and hear the other lambs.

Feces Collection

On d 17 of the experimental period, 4 lambs per treatment were moved to metabolism cages fitted with specific devices to collect feces and urine separately. The number of lambs used was the minimum we considered necessary according to both statistical and welfare criteria. After 2 d of adaptation to cages, feces were collected during the following 5 d. The feces of each animal were collected daily, weighed, mixed thoroughly, and sampled (10%). Aliquots from each lamb were pooled and stored at -30°C until analysis.

Slaughter Procedure and Carcass Characteristics

Body weight was recorded twice a week before morning feeding until lambs reached the target slaughter BW (27 kg). For this, lambs were allowed to walk into a scale for sheep (Magriña, Barcelona, Spain) that was placed adjacent to pens and crates. When an animal reached the target BW, feed and water were withdrawn, and the lamb was weighed again after 1 h. The lamb was immediately stunned and slaughtered by exsanguination from the jugular vein, eviscerated, and skinned. The dressed carcass was obtained from the whole body of each lamb according to Colomer-Rocher et al. (1988) and was weighed. The carcass was chilled at 4°C for 24 h and then weighed again; the chilling losses were calculated as the difference between HCW and cold carcass weights (CCW), expressed as the proportion of HCW. The dressing percent was calculated as CCW expressed as the proportion of BW recorded just before slaughtering. Pelvic fat (kidney knob and channel fat) was manually removed from the cold carcass and weighed. The left side of each carcass was jointed into commercial cuts and grouped according to Colomer-Rocher et al. (1988); each joint was weighed to assess its proportion in the carcass. Legs, ribs, and fore ribs comprised the higher-priced joints, shoulders constituted the medium-price joints, and the lower-priced joints included breasts, necks, and tail; each joint was weighed to assess its proportion in the carcass. The pH of LM was measured at the sixth rib at 0 h, 45 min, and 24 h postmortem using a pH meter (Metrohm704 pHMeter, Metrohm, Zofinger, Switzerland) that was equipped with a penetrating electrode and a temperature probe. The CIELAB system (Commission Internationale de l'Eclairage, 1986) was used to determine color parameters using a portable Minolta CM-2002 chroma meter (Konica-Minolta Sensing Inc., Langenhagen, Germany). Chroma and hue were calculated using CIE L* a* b* coordinates (D65, 10°).

Rumen Samples and Digestive Tract Characteristics

Immediately after lambs were eviscerated, ruminal fluid samples from each lamb were collected and

strained through 2 layers of cheese cloth, and the pH was measured (Metrohm704 pHMeter, Metrohm, Zofinger, Switzerland). A 2-mL sample was acidified with 2 mL of 0.5 N hydrochloric acid (HCl), and 0.8 mL of the sample was added to 0.5 mL of a deproteinizing solution (5 g metaphosphoric acid and 1 g crotonic acid in 250 mL of 0.5 N HCl; García-Martínez et al., 2005). Both samples were centrifuged at $14,500 \times g$ for 15 min at 4°C , and supernatants were used for ammonia (Weatherburn, 1967) and VFA (Ottenstein and Bartley, 1971) analysis. Empty ruminal weight was recorded. Then, according to the procedure described by Hill et al. (2005) for calves and adapted by Benavides et al. (2013) for lambs, 2 square samples of 3×3 cm from the posterior dorsal (PDR) and anterior ventral (AVR) areas of ruminal wall were placed in histological cassettes, washed under tap water, and fixed by immersion in buffered formaldehyde (4%) for at least 24 h. After fixation, gross digital photographs (Nikon D100, Tokyo, Japan) were taken to measure the color of the ruminal epithelium as an indicator of the degree of keratinization. The camera was attached to a stand with tungsten incandescent bulbs for illumination. The pictures were downloaded to a computer; four 1×1 cm representative areas of the region of interest (PDR and AVR, 9 cm^2 each) were selected, and the ruminal papillae were counted and averaged. The pictures were then converted from color to gray scale, and the mean gray value (ranging from 0 to 256, where 0 is black and 256 is white) of the selected region of interest was measured by means of ImageJ 1.43 software (Rasband, W.S., ImageJ, U.S. National Institutes of Health, Bethesda, MD; Benavides et al., 2013).

Blood Sampling

Blood samples from all lambs were collected from the jugular vein just before slaughter into 5-mL Vacutainers containing lithium heparin (Becton, Dickinson and Company, NJ, USA). Approximately 1 h after collection, blood samples were assayed in a Stat Profile pHox Plus blood analyzer (Nova Biomedical, Waltham, MA) for pH, bicarbonate (HCO_3^-), CO_2 pressure (pCO_2), anion gap, total CO_2 (tCO_2), Na, K, and Cl concentrations.

Analytical Procedures

Standardized procedures were used to determine DM (International Organisation for Standardisation [ISO], 1999), ash (ISO, 2002), and CP (ISO, 2005) content in feeds and feces. Neutral and acid detergent fibers were determined as described by the Ankom technique (Ankom Technology, 2006a,b). Neutral detergent fiber was assayed with sodium sulfite and amylase and expressed inclusive of residual ash. The content of

Table 2. Mean values of growth performance and carcass characteristics of lambs receiving different proportions of sunflower soap stocks in the total mixed ration (TMR) pellet

Item	Treatments ¹				SEM	<i>P</i> -value	Contrasts	
	00SS	15SS	30SS	60SS			Linear	Quadratic
Growth performance								
DMI, g	939	937	918	947	87.3	0.885	0.968	0.580
ADG, g	309	301	337	311	49.80	0.386	0.543	0.585
Length of fattening period, d	34.7	36.8	33.5	34.0	7.306	0.756	0.593	0.722
G:F, g ADG/g DMI	0.330	0.322	0.366	0.329	0.0418	0.076	0.479	0.263
Dressing percent	46.5	46.6	45.6	45.4	1.68	0.285	0.080	0.832
Carcass characteristics								
Pelvic (kidney knob and channel) fat, g	177	221	239	218	61.69	0.133	0.111	0.101
Cold carcass weight, kg	12.5	12.67	12.3	12.0	0.56	0.200	0.044	0.351
Chilling losses, %	2.72	2.60	2.49	2.51	0.470	0.680	0.274	0.643
Proportion of cuts, %								
Higher priced joints	60.8	60.9	59.8	60.8	2.47	0.518	0.760	0.448
Medium priced joint	20.0	19.5	20.4	19.8	0.978	0.168	0.712	0.930
Lower priced joints	19.0	19.6	19.8	19.3	2.16	0.766	0.651	0.346
pH (time postmortem)								
0 min	6.41	6.41	6.34	6.38	0.225	0.881	0.683	0.689
45 min	5.95	6.19	6.05	6.07	0.294	0.227	0.541	0.228
24 h	5.65	5.64	5.67	5.65	0.085	0.715	0.642	0.840
Subcutaneous fat color								
Lightness	66.0	66.6	68.5	66.9	3.51	0.407	0.344	0.324
Croma	111.0	11.2	10.2	11.2	1.78	0.530	0.878	0.547
Hue	67.7	68.3	69.5	69.9	6.58	0.855	0.392	0.975

¹00SS = TMR pellet without sunflower soap stock (SS), 15SS = TMR pellet containing 15 g SS/kg, 30SS = TMR pellet containing 30 g SS/kg, 60SS = TMR pellet containing 60 g SS/kg.

EE was determined by the Ankom filter bag technique (American Oil Chemists' Society Official Procedure Am 5-04; American Oil Chemists' Society, 2008).

Calculations and Statistical Analysis

Average daily gain was estimated as the regression coefficient (slope) of BW against time using the REG procedure of the SAS package (SAS Inst. Inc., Cary, NC). The data were subjected to 1-way ANOVA with the inclusion of SS in the diet as the fixed effect and the lamb as the random effect using the MIXED procedure of SAS. Linear and quadratic contrasts were performed using the CONTRAST procedure of SAS (Kaps and Lamberson, 2004) to test the effects of level of SS inclusion. Lamb (pen) was considered the experimental unit, and slaughter day was not considered in the statistical model because the animals were slaughtered at a target weight (27 kg). The level of significance was determined at $P < 0.05$, and means were separated using the LSD procedure; a trend toward significance was declared when $P < 0.10$.

RESULTS

Table 2 shows the parameters related to lamb growth performance and carcass characteristics. There were no differences between groups in DM intake, ADG, and length of fattening period ($P > 0.10$). Lambs from the 30SS group showed a trend toward the greatest G:F values ($P < 0.10$). Cold carcass weight linearly decreased as the level of SS in the diet increased ($P < 0.05$). There were no differences between experimental groups in chilling losses, carcass pH, subcutaneous fat color, and proportion of commercial cuts, either individually considered (data not shown) or grouped ($P > 0.10$).

Table 3 shows digestibility coefficients and ruminal fluid characteristics. Dry matter, NDF, and ADF digestibilities linearly decreased as the level of SS inclusion in the diet increased ($P < 0.05$), whereas CP, EE, and energy digestibilities were not affected by the treatments ($P > 0.10$). Total VFA contents in ruminal fluid were similar irrespective of SS supplementation, but propionate proportion linearly increased and valerate and caproate proportions linearly decreased as SS proportion increased ($P < 0.05$). The acetate to propionate ratio tended to linearly decrease as SS supplementation

Table 3. Total tract digestibilities of DM, CP, NDF, ADF, ether extract, and concentrations of VFA and ammonia in rumen fluid of lambs fed different proportions of sunflower soap stocks in the total mixed ration (TMR) pellet

	Treatments ¹						Contrasts	
Item	00SS	15SS	30SS	60SS	SEM	P-value	Linear	Quadratic
Digestibility coefficients, g/g								
DM	0.795 ^a	0.765 ^{a,b}	0.782 ^a	0.733 ^b	0.022	0.020	0.009	0.421
CP	0.835	0.805	0.822	0.813	0.028	0.510	0.497	0.493
NDF	0.557 ^a	0.42 ^{a,b}	0.485 ^a	0.273 ^b	0.097	0.020	0.009	0.710
ADF	0.450 ^a	0.360 ^a	0.410 ^a	0.176 ^b	0.094	0.038	0.012	0.226
Ether extract	0.807	0.677	0.767	0.710	0.092	0.260	0.381	0.467
Energy	0.807	0.812	0.835	0.730	0.578	0.134	0.136	0.078
Ruminal fluid total VFA, mmol/L	115	132	121	125	37.2	0.815	0.762	0.604
Proportions of total VFA, %								
Acetate	51.5	53.2	52.8	49.6	3.98	0.187	0.277	0.055
Propionate	31.5 ^b	34.7 ^{a,b}	32.6 ^b	38.3 ^a	5.53	0.042	0.022	0.471
Butyrate	8.6	7.2	7.5	6.6	3.67	0.636	0.258	0.837
Isobutyrate	1.2	0.7	1.1	1.1	0.74	0.399	0.986	0.287
Isovalerate	1.6	1.3	2.2	1.5	1.19	0.426	0.657	0.613
Valerate	5.0 ^a	2.6 ^b	3.5 ^{a,b}	2.8 ^b	1.92	0.022	0.035	0.154
Caproate	0.6 ^a	0.3 ^{a,b}	0.4 ^{a,b}	0.2 ^b	0.41	0.098	0.031	0.774
Acetate/propionate	1.67	1.63	1.67	1.33	0.397	0.177	0.085	0.223
Ammonia, mg/100 mL	19.2	19.3	20.8	19.0	3.56	0.671	0.862	0.397

^{a, b}Means within a row with no common superscript differ significantly ($P < 0.05$).

¹00SS = TMR pellet without sunflower soap stock (SS), 15SS = TMR pellet containing 15 g SS/kg, 30SS = TMR pellet containing 30 g SS/kg, 60SS = TMR pellet containing 60 g SS/kg.

increased ($P < 0.10$), whereas ammonia concentration was not affected by SS supplementation ($P > 0.10$).

Empty ruminal weight tended to show a cubic response ($P < 0.10$) to SS supplementation, and ruminal fluid pH tended to linearly decrease ($P < 0.10$) as SS in the diet increased (Table 4). Regarding mucosa color, this parameter linearly decreased (became darker; $P < 0.05$) in both areas (PDR and AVR) with SS inclusion in the TMR pellet, whereas papillae counts were not affected ($P > 0.10$). Blood pH and Na concentration showed linear and quadratic responses ($P < 0.05$) to SS supplementation. Anion gap, pCO_2 , and K concentration linearly ($P < 0.05$) decreased as SS in the TMR pellet increased ($P < 0.05$) to SS supplementation. A significant quadratic effect ($P < 0.05$) was observed in Cl concentration, whereas total CO_2 and bicarbonate concentrations remain unchanged despite SS inclusion in the diet.

DISCUSSION

Feed Intake and Lamb Performance

Adding soap stocks to the diets for ruminants increases the energy density of the diet, reduces dust, and improves pelleting by reducing feed particle separation. They also minimize the buildup of feed particles on equipment used for feed mixing at the mill (Dumont and Narine, 2007). However, digestibility and

palatability can be negatively affected, depending on the source and level of oil supplement used (Palmquist, 1994; Doreau and Chilliard, 1997). Hence, soap stock must be added in small amounts (Bock et al., 1991). In the present experiment, we did not observe changes in DMI or ADG. Our results agree with those reported by Manso et al. (2006), who fed similar lambs a diet containing 4% of supplemented sunflower (6% total fat in the diet). The effects of oil supplementation on feed intake and performance seem to depend on the basal diet, the type of animal, and the type of oil used. For instance, decreases in DMI have been observed when different oils (Machmüller et al., 1998) or soap stocks (Pantoja et al., 1994) were added to the diet. Conversely, DMI increases when soybean soap stocks were added in the diet have been reported (Bock et al., 1991). The similar DMI observed among treatments in this study indicate that the SS supplemented at rates up to 6% of the diet used in the study had no effect on DMI of lamb. The latter study also indicated an increased ADG and G:F ratio when soybean soap stocks were used in the diet for finishing steers. The G:F observed in our experiment could indicate that the optimum level of SS supplementation for feed efficiency could be around 30 g SS/kg diet, which is in accordance with the findings of Bock et al. (1991), who used a single dose of 35 g soap stock/kg concentrate diet to improve the G:F ratio.

Table 4. Empty rumen weight, rumen pH, rumen mucosa color and number of papillae, and blood parameters (pH, HCO₃, CO₂ pressure [pCO₂], anion gap, total tCO₂ [tCO₂], Na, K, and Cl) of lambs receiving different proportions of sunflower soap stocks in the total mixed ration (TMR) pellet

Item	Treatments ¹				SEM	P-value	Contrasts	
	00SS	15SS	30SS	60SS			Linear	Quadratic
Empty rumen weight, g	631	692	578	550	129.9	0.261	0.766	0.891
Rumen pH	6.44	6.23	6.07	6.00	0.583	0.399	0.099	0.932
Rumen mucosa (anterior ventral area)								
Gray (0, black; 256, white)	144 ^a	125 ^b	127 ^b	123 ^b	13.73	0.002	0.002	0.087
Papillae/cm ²	37	35	40	32	9.90	0.347	0.452	0.299
Rumen mucosa (posterior dorsal area)								
Gray (0, black; 256, white)	140 ^a	124 ^b	126 ^b	117 ^b	13.83	0.003	0.001	0.351
Papillae/cm ²	48	41	44	42	10.70	0.507	0.379	0.480
Blood parameters								
pH	7.40 ^b	7.35 ^c	7.44 ^a	7.45 ^a	0.041	<0.001	0.002	0.054
HCO ₃ , mmol/L	28.0	27.1	27.9	29.4	2.05	0.117	0.793	0.494
pCO ₂ , mm Hg	48.8 ^b	52.4 ^a	44.2 ^c	45.0 ^{b,c}	4.31	<0.001	0.002	0.226
Anion gap, mmol/L	12.6 ^a	13.6 ^a	10.8 ^b	11.2 ^b	2.05	0.016	<0.001	0.139
tCO ₂ , mmol/L	29.5	28.8	29.3	30.8	2.11	0.195	0.956	0.543
Na, mmol/L	146 ^b	148 ^a	146 ^b	147 ^{a,b}	1.9	0.033	0.002	0.006
K, mmol/L	5.26 ^{a,b}	5.42 ^a	4.94 ^c	4.99 ^{b,c}	0.369	0.012	0.001	0.360
Cl, mmol/L	110	112	112	112	2.0	0.158	0.887	0.009

^{a-c}Means within a row with no common superscript differ significantly ($P < 0.05$).

¹00SS = TMR pellet without sunflower soap stock (SS), 15SS = TMR pellet containing 15 g SS/kg, 30SS = TMR pellet containing 30 g SS/kg, 60SS = TMR pellet containing 60 g SS/kg.

Carcass Characteristics

The purpose of using alternative feed in livestock diets is to reduce the cost and improve, or at least not affect, carcass variables and traits (Tufarelli et al., 2013). In our study, apart from carcass weight, none of the other carcass characteristics were affected by the addition of SS to the TMR pellet. Previous studies have shown that adding fats to the diet for fattening lambs does not modify animal performance or carcass characteristics (Haddad and Younis, 2004; Castro et al., 2005). Even when relatively high proportions of polyunsaturated fats, such as 4% sunflower oil (Manso et al., 2009), were used (which could be similar to our study), no effects on carcass traits were reported. The linear decrease in CCW associated with SS supplementation might be related to an increase in digestive content (due to the reduction in fiber digestibility) and a possible rise in mesenteric and omental fat (Teixeira et al., 1989). Contrariwise, the shift in the ruminal VFA profile toward more glycolytic (propionate) makes the fermentation process more efficient and conserves more of the energy present in the feed in a useful form for the animal (Ørskov and Ryle, 1990), which could have helped to maintain CCW as the level of SS increased in the diet. Nevertheless, it is known that energy retention is reduced when unsaturated vegetable oils are used to supplement diets for lambs because of the decrease in fiber and DM digestibility (Machmüller et al., 2000).

The lack of effects on commercial cut category percentages agrees with the lack of differences in growth rate since changes in these parameters are usually related to changes in growth rates, age, and maturity (Huidobro and Cañeque, 1994). The values observed in the present experiment for commercial cut categories are within the range found in the literature for lambs reared under similar systems (Cano et al., 2003; Rodríguez et al., 2008; Manso et al., 2009).

When changes in pH decline are found in response to dietary changes, they are usually related to differences in carcass fatness and chilling rate (Aalhus et al., 2001). In this study the carcass fatness and the chilling rate were not affected by dietary treatments; hence, pH modifications in response to SS supplementation were not expected. Likewise, no differences were observed in subcutaneous fat color. Changes in the color of subcutaneous fat are linked to differences in pigment deposition and the lipid oxidation processes. However, when color measurements were performed in this study (at 24 h postmortem), changes due to the oxidation process were still not apparent (Wood et al., 2004) because it is related to the availability of oxygen in contact with the meat in stored processes (Decker and Zhimin, 1998).

Digestibility and Rumen Fluid Characteristics

The inclusion of certain levels of fat in the diet is usually accompanied by a reduction in structural carbohydrates' digestibility. It has long been documented that lipid supplements might adversely affect the metabolism of some ruminal microorganisms, thereby impairing ruminal fermentation (Harfoot and Hazlewood, 1997). In this sense, Bhatt et al. (2011) added 7.5% coconut oil to the diet of fattening lambs and observed a decrease in the digestibility of DM and NDF, which was associated with a reduction in the number of protozoa in the rumen (Towne et al., 1990). Nevertheless, doses around 35 g SS/kg diet did not alter DM and starch digestibility (Bock et al., 1991); with similar doses, we observed only a small change in DM digestibility, although fiber digestibility was further affected. Manso et al. (2006), using 4% palm oil in the diet of fattening lambs, reported a 16% reduction in NDF digestibility. In our study, the reduction was greater (ranging between 14% and 51%) and depended on the dose of SS. This could be due to the higher level of FFA and the degree of unsaturation of SS with respect to the palm oil (Dumont and Narine, 2007), which may modify ruminal microbial ecosystems and has a negative effect on bacterial growth that is more pronounced with PUFA than with SFA (Pantoja et al., 1994). Likewise, protozoal populations are largely decreased by PUFA (Towne et al., 1990; Bock et al., 1991; Doreau and Chilliard, 1997).

Crude protein digestibility was not found to be different among treatments, which was in accordance with the results shown by Manso et al. (2006) and Awawdeh et al. (2009), who used vegetable oils for finishing lambs under conditions similar to the present study (from 15 to 25 kg of BW). However, Machmüller et al. (2000) included different fats in the diet for finishing lambs (from 26 to 38 kg) and reported improvements in CP digestibility, which could be related to changes in the efficiency of bacterial N flow to the duodenum (Towne et al., 1990; Bock et al., 1991).

The addition of SS to the TMR pellet did not alter total ruminal VFA concentration, despite the effects observed in DM, NDF, and ADF digestibilities. This is consistent with the study of Dohme et al. (1999). Soap stocks, like fat and oils, contain a variable amount of glycerol (Dumont and Narine, 2007), which, after being released from oils, can be metabolized to VFA and can compensate the reduction in VFA production expected from a reduction in fiber digestibility. Accordingly, in an *in vitro* study using soap stocks from different vegetable oils, Blanco et al. (2012) also reported no changes in total VFA production after 24-h incubation of rumen fluid. In addition, in the present study there was a linear increase in propionate proportion, which led to a tendency to decrease the acetate to propionate ratio as

the level of SS increased. This could be due to a shift in ruminal fermentation through an inhibition of gram-positive ruminal microbes (acetate producers) relative to gram-negative strains (propionate producers; Shingfield et al., 2008; Spanghero et al., 2008; Blanco et al., 2012). Likewise, in the present study ruminal pH decreased as SS supplementation increased, which is likely to affect acetate producers because propionate producers are acid-tolerant species (Bannink and Tamminga, 2005). Our results are consistent with those of Santra et al. (2012), who reported that propionate proportion was linearly increased in calves receiving 0%, 2%, and 4% of sunflower oil. In our study no differences in ammonia concentration were observed, which agrees with studies in the literature showing that lipid supplementation does not affect this parameter (Doreau and Ferlay, 1995; Szumacher-Strabel et al., 2004).

Animal Health Parameters

One of the aims of including oil supplements in the diets for ruminants is to avoid the use of excessive amounts of readily fermentable carbohydrates from cereals and thus reduce the risk of acidosis (Bauman et al., 2003). However, in the present study, the darkness of the rumen mucosa increased as the level of SS increased in the diet. This change could be related to changes in ruminal fermentation because the use of SS increased the proportion of propionate in the rumen, which is known to be more acidogenic than acetic acid (Enemark et al., 2002; Kleen et al., 2003). Likewise, the diet pH seems to decrease as SS increases, as does the ruminal pH. Although the values of ruminal pH recorded in the present experiment are within the physiological range (Bodas et al., 2007), we must take into account that they were measured in the morning, with the lambs fasting for 1 h; therefore, pH values after feeding can be expected to be considerably lower. Dietary supplementation with soap stocks is associated with a decrease in the protozoa number (Towne et al., 1990), which is related to lower and more variable ruminal pH (Veira et al., 1983), which could explain the high variability and the lack of more significant differences in pH among experimental treatments in the present study. It is known that low ruminal pH triggers destruction of the ruminal epithelium (Wang et al., 2009), thus leading to parakeratosis processes, which are associated with a darkening (consistently found in 2 different rumen regions in the current experiment) and hardening of the ruminal mucosa (Álvarez-Rodríguez et al., 2012).

There was an increase in blood pH and a decrease in CO₂ pressure and anion gap as the level of SS increased, with the exception of group 30SS (whose trend would explain the significant cubic effect). A marked decrease in

blood pH, HCO_3^- , and tCO_2 is related to acute acidosis (Brossard et al., 2003). In the present experiment, the increase in blood pH could be related to the decreased pCO_2 that contributes to a mild alkalizing effect (Odongo et al., 2006). Likewise, in the current experiment the anion gap decreased as SS in the diet increased; this parameter is known to increase in cases of severe ruminal acidosis (Gentile et al., 2004). The long-term effect of an acidogenic diet (chronic acidosis) on the alkaline reserves of the blood requires a longer recovery period than that required for ruminal parameters (Brossard et al., 2003). Regarding the effect of soap stocks on K concentration, it must be related to the relative ratio of K to other macrominerals, such as Ca (which is expected to be higher as the level of soap stocks increases), whose competition for uptake at the enterocyte might explain the decrease observed (McDowell, 2000). Although we could not find a plausible explanation for the effect observed on Na concentration, it could be related to the changes in K concentration and the close relationship between both ions.

Including SS in the diet for light fattening lambs up to 30 g/kg did not affect DM and fiber digestibilities, and including SS up to 60 g/kg had no effect on DM intake and growth rate. Despite the increase in darkening of ruminal mucosa, a linear improvement in blood acid-base parameters was observed in response to soap stock inclusion of up to 60 g/kg. The results suggest that the optimum inclusion level of SS in the diet for light fattening lambs would be around 30 g/kg diet.

LITERATURE CITED

- Aalhus, J., J. Janz, A. Tong, S. Jones, and W. Robertson. 2001. The influence of chilling rate and fat cover on beef quality. *Can. J. Anim. Sci.* 81:321–330.
- Abel-Caines, S., R. Grant, and M. Morrison. 1998. Effect of soybean hulls, soy lecithin, and soapstock mixtures on ruminal fermentation and milk composition in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81:462–470.
- Álvarez-Rodríguez, J., E. Monleón, A. Sanz, J. Badiola, and M. Joy. 2012. Rumen fermentation and histology in light lambs as affected by forage supply and lactation length. *Res. Vet. Sci.* 92:247–253.
- American Oil Chemists' Society. 2008. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society. 5th ed. Am. Oil Chem. Soc., Urbana, IL.
- Ankom Technology. 2006a. Acid detergent fiber in feeds. Filter bag technique (for A2000, A2000I). Ankom Technol. Method No. 8. Ankom Technol. Corp., Macedon, NY.
- Ankom Technology. 2006b. Neutral detergent fiber in feeds. Filter bag technique (for A2000, A2000I). Ankom Technol. Method No. 9. Ankom Technol. Corp., Macedon, NY.
- Awawdeh, M. S., B. S. Obeidat, A. Y. Abdullah, and W. M. Hananeh. 2009. Effects of yellow grease or soybean oil on performance, nutrient digestibility and carcass characteristics of finishing Awassi lambs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 153:216–227.
- Bannink, A., and S. Tamminga. 2005. Rumen function. In: J. Dijkstra, J. M. Forbes, and J. France, editors, *Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism*. 2nd ed. CABI Publishing, Cambridge, MA. p. 263–288.
- Bauman, D. E., J. W. Perfield, J. De Veth, and A. L. Lock. 2003. New perspectives on lipid digestion and metabolism in ruminants. In: *Proc. Cornell Nutr. Conf. Cornell Univ., Ithaca, NY*. p. 175–189.
- Benavides, J., M. Martínez-Valladares, M. L. Tejido, F. J. Giráldez, R. Bodas, N. Prieto, V. Pérez, and S. Andrés. 2013. Quercetin and flaxseed included in the diet of fattening lambs: Effects on immune response, stress during road transport and ruminal acidosis. *Livest. Sci.* 158:84–90.
- Bender, D. A. 2009. *A dictionary of food and nutrition*. Oxford Univ. Press, Oxford.
- Bhatt, R., N. Soren, M. Tripathi, and S. Karim. 2011. Effects of different levels of coconut oil supplementation on performance, digestibility, rumen fermentation and carcass traits of Malpura lambs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 164:29–37.
- Blanco, C., R. Bodas, N. Prieto, L. Morán, S. Andrés, S. López, and F. J. Giráldez. 2012. Vegetable oil soapstocks reduce methane production and modify ruminal fermentation. *Anim. Feed Sci. Technol.* 176:40–46.
- Bock, B., D. Harmon, R. Brandt, and J. Schneider. 1991. Fat source and calcium level effects on finishing steer performance, digestion, and metabolism. *J. Anim. Sci.* 69:2211–2224.
- Bodas, R., A. B. Rodríguez, S. López, B. Fernández, A. R. Mantecón, and F. J. Giráldez. 2007. Effects of the inclusion of sodium bicarbonate and sugar beet pulp in the concentrate for fattening lambs on acid-base status and meat characteristics. *Meat Sci.* 77:696–702.
- Brossard, L., C. Martin, and B. Michalet-Doreau. 2003. Ruminal fermentative parameters and blood acid-base balance changes during the onset and recovery of induced latent acidosis in sheep. *Anim. Res.* 52:513–530.
- Cano, T., F. Peña, J. Martos, V. Domenech, M. Alcalde, A. García, M. Herrera, E. Rodero, and R. Acero De La Cruz. 2003. Calidad de la canal y de la carne en corderos ligeros de raza Segureña. *Arch. Zootec.* 52:315–326.
- Castro, T., T. Manso, A. R. Mantecón, J. Guirao, and V. Jimeno. 2005. Fatty acid composition and carcass characteristics of growing lambs fed diets containing palm oil supplements. *Meat Sci.* 69:757–764.
- Colomer-Rocher, F., P. Morand-Fehr, A. Kirtan, R. Delfa, and I. Sierra. 1988. Métodos normalizados para el estudio de los caracteres cuantitativos y cualitativos de las canales caprinas y ovinas. *INIA* 17:19–41.
- Commission Internationale de l'Eclairage. 1986. *Colorimetry*. Publication CIE No. 15.2 (2nd ed.). Central Bureau of the CIE, Vienna, Austria.
- Decker, E. A., and X. Zhimin. 1998. Minimizing rancidity in muscle foods. *Food Technol.* 52:54–59.
- Dohme, F., A. Machmüller, B. Estermann, P. Pfister, A. Wasserfallen, and M. Kreuzer. 1999. The role of the rumen ciliate protozoa for methane suppression caused by coconut oil. *Lett. Appl. Microbiol.* 29:187–192.
- Doreau, M., and Y. Chilliard. 1997. Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. *Br. J. Nutr.* 78:S15–S35.
- Doreau, M., and A. Ferlay. 1995. Effect of dietary lipids on nitrogen metabolism in the rumen: A review. *Livest. Prod. Sci.* 43:97–110.
- Dumont, M., and S. S. Narine. 2007. Soapstock and deodorizer distillates from North American vegetable oils: Review on their characterization, extraction and utilization. *Food Res. Int.* 40:957–974.
- Enemark, J. M. D. 2008. The monitoring, prevention and treatment of sub-acute ruminal acidosis (SARA): A review. *Vet. J.* 176:32–43.
- Enemark, J. M. D., R. J. Jorgensen, and P. S. Enemark. 2002. Rumen acidosis with special emphasis on diagnostic aspects of subclinical rumen acidosis: A review. *Vet. Zootec.* 20:16–29.
- European Commission. 2010. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. *Off. J. Eur. Union L* 276:33–79.

- Fundación Española Desarrollo Nutrición Animal. 2003. Normas FEDNA para la formulación de piensos compuestos. Fund. Esp. Desarro. Nutr. Anim., Madrid.
- García-Martínez, R., M. J. Ranilla, M. L. Tejido, and M. D. Carro. 2005. Effects of disodium fumarate on *in vitro* rumen microbial growth, methane production and fermentation of diets differing in their forage:concentrate ratio. *Br. J. Nutr.* 94:71–77.
- Gentile, A., S. Sconza, I. Lorenz, G. Otranto, G. Rademacher, P. Famigli-Bergamini, and W. Klee. 2004. D-Lactic acidosis in calves as a consequence of experimentally induced ruminal acidosis. *J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med.* 51:64–70.
- Haddad, S., and H. Younis. 2004. The effect of adding ruminally protected fat in fattening diets on nutrient intake, digestibility and growth performance of Awassi lambs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 113:61–69.
- Harfoot, C. G., and G. P. Hazlewood. 1997. Lipid metabolism in the rumen. In: P. N. Hobson and C. S. Stewart, editors, *The Rumen Microbial Ecosystem*. Chapman and Hall, London, UK. p. 382–426.
- Hill, S., B. Hopkins, S. Davidson, S. Bolt, D. Diaz, C. Brownie, T. Brown, G. Huntington, and L. Whitlow. 2005. Technique for dissection and analysis of the rumen in young calves. *J. Dairy Sci.* 88:324–326.
- Huidobro, F., and V. Cañeque. 1994. Producción de carne de corderos de raza Manchega. 5. Crecimiento relativo del cuarto y de los tejidos y piezas e la canal. *Investig. Agraria Producción Sanidad Anim.* 9:95–108.
- ISO. 1999. Animal feeding stuffs—Determination of moisture and other volatile matter content. Standard 6496. Int. Organ. Standardisation, Geneva, Switzerland.
- ISO. 2002. Animal feeding stuffs—Determination of crude ash. Standard 5984. Int. Organ. Standardisation, Geneva, Switzerland.
- ISO. 2005. Animal feeding stuffs—Determination of nitrogen content and calculation of crude protein content—Part 2: Block digestion and steam distillation method. International Standard ISO 5983-2. Int. Organ. Standardisation, Geneva, Switzerland.
- Kaps, M., and W. R. Lamberson. 2004. *Biostatistics for animal science*. CABI Publ., Cambridge, MA.
- Kleen, J., G. Hooijer, J. Rehage, and J. Noordhuizen. 2003. Subacute ruminal acidosis (SARA): A review. *J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med.* 50:406–414.
- Machmüller, A. 2006. Medium-chain fatty acids and their potential to reduce methanogenesis in domestic ruminants. *Agric. Ecosyst. Environ.* 112:107–114.
- Machmüller, A., D. Ossowski, and M. Kreuzer. 2000. Comparative evaluation of the effects of coconut oil, oilseeds and crystalline fat on methane release, digestion and energy balance in lambs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 85:41–60.
- Machmüller, A., D. A. Ossowski, M. Wanner, and M. Kreuzer. 1998. Potential of various fatty feeds to reduce methane release from rumen fermentation *in vitro* (Rusitec). *Anim. Feed Sci. Technol.* 71:117–130.
- Manso, T., R. Bodas, T. Castro, V. Jimeno, and A. R. Mantecón. 2009. Animal performance and fatty acid composition of lambs fed with different vegetable oils. *Meat Sci.* 83:511–516.
- Manso, T., T. Castro, A. Mantecón, and V. Jimeno. 2006. Effects of palm oil and calcium soaps of palm oil fatty acids in fattening diets on digestibility, performance and chemical body composition of lambs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 127:175–186.
- McDowell, L. R. 2000. *Vitamins in animal and human nutrition*. 2nd ed. Iowa State Univ. Press, Ames.
- Odongo, N., O. Alzahal, M. Lindinger, T. Duffield, E. Valdes, S. Terrell, and B. McBride. 2006. Effects of mild heat stress and grain challenge on acid-base balance and rumen tissue histology in lambs. *J. Anim. Sci.* 84:447–455.
- Ørskov, E. R., and M. Ryle. 1990. *Energy nutrition in ruminants*. Elsevier, London.
- Ottenstein, D., and D. Bartley. 1971. Separation of free acids C2–C5 in dilute aqueous solution column technology. *J. Chromatogr. Sci.* 9:673–681.
- Palmquist, D. L. 1994. The role of dietary fats in efficiency of ruminants. *J. Nutr.* 124(8, Suppl.):1377S.
- Pantoja, J., J. Firkins, M. Eastridge, and B. Hull. 1994. Effects of fat saturation and source of fiber on site of nutrient digestion and milk production by lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 77:2341–2356.
- Rodríguez, A. B., R. Bodas, N. Prieto, R. Landa, A. R. Mantecón, and F. J. Giráldez. 2008. Effect of sex and feeding system on feed intake, growth, and meat and carcass characteristics of fattening Assaf lambs. *Livest. Sci.* 116:118–125.
- Santra, A., S. Konar, A. Chatterjee, and S. Das. 2012. Effect of dietary sunflower oil on rumen protozoal population and fermentation characteristics in growing crossbred calves. *Anim. Nutr. Feed Technol.* 12:73–82.
- Sañudo, C., G. R. Nute, M. M. Campo, G. María, A. Baker, I. Sierra, and J. D. Wood. 1998. Assessment of commercial lamb meat quality by British and Spanish taste panels. *Meat Sci.* 48:91–100.
- Shain, D., M. Sindt, R. Grant, T. Klopfenstein, and R. Stock. 1993. Effect of a soybean hull soy lecithin: Soapstock mixture on ruminal digestion and performance of growing beef calves and lactating dairy cattle. *J. Anim. Sci.* 71:1266–1275.
- Shingfield, K., S. Ahvenjarvi, V. Toivonen, A. Vanhatalo, P. Huhtanen, and J. Grinari. 2008. Effect of incremental levels of sunflower-seed oil in the diet on ruminal lipid metabolism in lactating cows. *Br. J. Nutr.* 99:971–983.
- Spanghero, M., C. Zanfi, E. Fabbro, N. Scicutella, and C. Camellini. 2008. Effects of a blend of essential oils on some end products of *in vitro* rumen fermentation. *Anim. Feed Sci. Technol.* 145:364–374.
- Szumacher-Strabel, M., S. A. Martin, A. Potkański, A. Cieślak, and J. Kowalczyk. 2004. Changes in fermentation processes as the effect of vegetable oil supplementation in *in vitro* studies. *J. Anim. Feed Sci.* 13:215–218.
- Teixeira, A., R. Delfa, and F. Colomer-Rocher. 1989. Relationships between fat depots and body condition score or tail fatness in the Rasa Aragonesa breed. *Anim. Prod.* 49:275–280.
- Towne, G., T. Nagaraja, R. Brandt, and K. Kemp. 1990. Ruminal ciliated protozoa in cattle fed finishing diets with or without supplemental fat. *J. Anim. Sci.* 68:2150–2155.
- Tufarelli, V., M. Introna, E. Cazzato, D. Mazzei, and V. Laudadio. 2013. Suitability of partly destoned exhausted olive cake as by-product feed ingredient for lamb production. *J. Anim. Sci.* 91:872–877.
- Vasta, V., A. Nudda, A. Cannas, M. Lanza, and A. Priolo. 2008. Alternative feed resources and their effects on the quality of meat and milk from small ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.* 147:223–246.
- Veira, D., M. Ivan, and P. Y. Jui. 1983. Rumen ciliate protozoa: Effects on digestion in the stomach of sheep. *J. Dairy Sci.* 66:1015–1022.
- Wang, Y., M. Xu, F. Wang, Z. Yu, J. Yao, L. Zan, and F. Yang. 2009. Effect of dietary starch on rumen and small intestine morphology and digesta pH in goats. *Livest. Sci.* 122:48–52.
- Weatherburn, M. 1967. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. *Anal. Chem.* 39:971–974.
- Woerfel, J. 1983. Alternatives for processing of soapstock. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 60:310–313.
- Wood, J., R. Richardson, G. Nute, A. Fisher, M. Campo, E. Kasapidou, P. Sheard, and M. Enser. 2004. Effects of fatty acids on meat quality: A review. *Meat Sci.* 66:21–32.

Capítulo V

Effects of sunflower soapstocks on light lamb meat quality

C. Blanco^{*2}, J. F. Giráldez^{*}, L. Morán^{*3}, J. Mateo[†], L. H. Villalobos-Delgado[‡], S. Andrés^{*}, R. Bodas[#].

^{*}Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-Universidad de León), E-24346 Grulleros (León), Spain

[†]Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos. Universidad de León. Campus de Vegazana s/n 24071, León, Spain

[‡]Instituto de Agroindustrias, Universidad Tecnológica de la Mixteca, Carretera a Acatlima Km. 2.5, 69000, Huajuapán de León, Oaxaca, México

[#]Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León. Subdirección de Investigación y Tecnología. Finca Zamadueñas. Ctra. Burgos, km 119. E-47071 Valladolid, Spain

Bajo revision en Journal of Animal Science

Journal of Animal Science

Effects of sunflower soapstocks on lamb meat quality

Journal:	<i>Journal of Animal Science</i>
Manuscript ID:	E-2016-1010.R2
Manuscript Type:	Animal Products
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Blanco, Carolina; Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-ULE), Nutrición de Herbívoros Giráldez, Francisco Javier; IGM (CSIC-ULE) León, Spain, Morán, Lara; CSIC, IGM, Mateo, Javier; Universidad de León, Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos Villalobos-Delgado, Luz; Universidad Tecnológica de la Mixteca, Instituto de Agroindustrias Andrés, Sonia; Consejo Superior de Investigaciones Científicas Bodas, Raul; Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-ULE),
Key Words:	fatty acids, lamb meat, sunflower soapstocks, volatile compounds

SCHOLARONE™
Manuscripts

ScholarOne, 375 Greenbrier Drive, Charlottesville, VA, 22901

Abstract

Thirty-two lambs were used to study the effect of sunflower soapstocks (SS), a byproduct from the vegetable oil refinery industry, on meat chemical composition, fatty acid profile, volatile compounds and consumer acceptability. Lambs were finished (average length of fattening period 34.7 days, 27 kg final BW) on a pelleted total mixed ration (TMR) with no SS (00SS) or including 15, 30 or 60 g SS·kg⁻¹ (15SS, 30SS and 60SS, respectively). Sunflower soapstocks decreased the percentage of SFA, increased the proportion of trans-MUFA ($P < 0.05$) and modified the levels of several odor-active lipid-derived volatile compounds ($P < 0.05$). Consumers were able to distinguish between control and 15SS meat samples in a triangular test ($P < 0.05$), but a well-defined preference for meat of any of these treatments was not exhibited ($P > 0.05$). Atherogenicity and saturation indexes decreased by 31 and 27 % (respectively) in SS groups compared to control (P linear < 0.05). However, certain volatile compounds (benzene and toluene) and 10t-18:1 fatty acid (FA), known potential hazards for human health, were increased in meat from lambs fed TMR with SS. For this reason, only inclusion rates up to 15 g SS·kg⁻¹ TMR seem to sustain a satisfactory balance between beneficial and detrimental effects on lamb meat composition and quality.

Keywords: fatty acids, lamb meat, sunflower soapstocks, volatile compounds

INTRODUCTION

Soapstocks (SS) are a by-product obtained from the refining process of vegetable oils (Bender, 2009) by separating tryglicerides (the main components of the oils) from FFA (the main component of the soapstocks). Given their fatty acids (FA) composition, SS have been proved as a suitable ingredient for livestock diets in terms of animal performance and meat FA profile (Pardio et al., 2005; González et al., 2012). The use of soapstocks as feed ingredients contributes to the recycling of by-products from the industry, avoids the competition between human and animal for the same resources and may reduce feeding costs (Vasta et al., 2008). In addition, sunflower soapstocks have shown a promising depressing effect on ruminal methanogenesis (Blanco et al., 2012).

Apart from FFA, soapstocks may contain other compounds, such as solvents, organic phosphates, monoglycerides, diglycerides, triglycerides, sterols, polyalcohols and carbohydrates (Dumont and Narine, 2007). The effects of SS on lamb meat quality, and particularly on its volatile compounds profile, have not been studied. Furthermore, beyond the possible influence on meat flavor, the eventual presence of solvent derived compounds in meat must be considered, given their potential concerns on consumers' safety.

Therefore, the objective of the present study was to investigate the effects of the inclusion of different amounts of soapstocks in the diet for fattening lambs on meat chemical composition, FA profile, volatile compounds and consumers' acceptability.

MATERIALS AND METHODS

Animals and diets

All handling practices followed the recommendations of the Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of the protection of animals used for scientific purposes and were approved by the IGM-CSIC Animal Experimentation Committee (protocol number 2010-E80).

Thirty-two weaned male merino lambs (6–8 weeks old with a mean BW of 15.9 ± 0.24 kg at the beginning of the experiment) were used in this study and were managed as described in Blanco et al. (2014). Lambs were housed in individual concrete-floor pens (1.45, 1.40 and 1.30 m in width, length, and height, respectively, with individual feeding troughs and drinkers) with sawdust bedding during the whole experimental period. After randomization on the basis of body weight, lambs were assigned to one of four experimental diets incorporating different amounts of SS (Riosa, Jaen, Spain): 00SS (no SS included in the pelleted TMR), 15SS (15 g SS·kg⁻¹ TMR), 30SS (30 g SS·kg⁻¹ TMR) and 60SS (60 g SS·kg⁻¹ TMR). Each lamb had individual free access to fresh water. Experimental pelleted TMR (Table 1) were formulated to be isoproteic, whereas fat and ME contents increased with SS addition (Table 1). All lambs received the TMR once a day at 09:00 in the morning, the amount of feed offered was adjusted daily to provide a 20% surplus of feed above the previous day's intake. Lambs had an average feed intake and growth rate of 935 ± 12.5 and 315 ± 8.0 g per animal and day, respectively, fattening period lasting an average of $35 (\pm 7.30)$ days, with no differences between experimental groups in any case (Blanco et al., 2014). Body weight was recorded twice a week before morning feeding, until the lambs reached the target slaughter body weight (26.8 ± 0.09 kg). When an animal reached the target body weight, feed and water were withdrawn. The lamb was weighed again after 1 hour, and immediately stunned, slaughtered by exsanguination from the jugular vein, eviscerated and skinned. A total of eight different slaughter days were programmed (one animal from each group was slaughtered in each slaughter day).

Table 1. Ingredients and chemical composition of experimental diets¹.

	00SS	15SS	30SS	60SS	SS
Ingredients (g·kg ⁻¹ , as fed basis)					
Barley	433	417	404	375	
Corn	150	145	140	130	
Soybean meal 44	237	243	246	255	
Barley straw	150	150	150	150	
Sunflower soapstocks	-	15	30	60	
Mineral/vitamin premix ²	30	30	30	30	
Chemical composition (g kg ⁻¹ DM)					
DM, (g·kg ⁻¹)	900	896	897	897	1000
NDF	227	219	218	212	
ADF	121	117	117	110	
CP	174	178	178	182	
Fat	30	41	56	70	1000
Ash	68	69	67	72	
ME, (Mcal·kg ⁻¹) ³	2.46	2.51	2.55	2.64	5.49
Profile FA (%)					
C16:0	31.7	34.1	31.7	27.2	16.4
C18:0	4.69	6.29	7.07	7.00	11.4
C18:1	23.4	19.8	17.0	18.9	24.9
C18:2	31.5	30.6	34.9	37.2	38.1
C18:3	2.69	1.74	1.24	1.61	1.0
Others	5.16	6.14	6.41	6.60	8.2
Volatile benzene compounds (ng of undecane per g)					
Toluene	2.8	2.8	2.9	3.1	4.1
Ethylbenzene	0.0	0.14	0.35	0.69	11.0
Benzene, 1,3-dimethyl- (<i>m</i> -xylene)	0.0	0.25	0.55	1.13	18.1
Benzene, 1,4-dimethyl- (<i>p</i> -xylene)	0.0	0.09	0.17	0.33	5.0
Benzaldehyde	27.5	28.0	28.4	29.9	35.0
Toluene, 4-isopropyl (<i>p</i> -cymene)	0.0	0.20	0.43	0.84	13.6
Benzene, <i>n</i> -butyl	0.0	0.07	0.19	0.36	5.8
Phenol, 3-methyl- (<i>m</i> -cresol)	0.0	0.16	0.33	0.65	10.6
Phenol, 2-methoxy- (<i>o</i> -guaiacol)	0.0	0.09	0.21	0.43	6.8
Benzene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)- (Styrene)	0.0	1.15	2.40	4.90	78.7
Phenol, 4-ethyl-	0.0	0.39	0.77	1.60	24.9
Phenol, 2-methoxy-4-methyl- (<i>p</i> -methylguaiacol)	0.0	0.44	0.92	1.83	29.5
Benzaldehyde, 4-(1-methylethyl)- (cuminal)	0.0	0.15	0.27	0.62	9.2
Buthyl hydroxy toluene (BHT)	0.0	1.14	2.32	4.68	76.5

¹ 00SS = Total mixed ration (TMR) pellet without sunflower soapstock (SS), 15SS = TMR pellet containing 15 g SS·kg⁻¹, 30SS = TMR pellet containing 30 g SS·kg⁻¹, 60SS = TMR pellet containing 60 g SS·kg⁻¹.²

² Manufactured by DMS Nutritional Products S.A. Madrid, Spain. The premix contained (per kg): 2.25 g vitamin A, 0.02 g vitamin D₃, 10 g vitamin E, 0.25 vitamin K₃, 0.50 vitamin B₁, 0.50 vitamin B₂, 2.50 g vitamin B₅, 0.50 vitamin B₆, 5 g vitamin B₁₂, 5 g vitamin B₃, 50 g Choline Chloride, 17.50 g Fe, 15 g Zn, 2.5 g Cu, 20 g Mn, 0.05 g Co, 0.25 g I, 0.10 g Se, 259 g Ca and 50.5 g Mg.

³ Calculated from FEDNA (2003).

Meat packaging, storage and sampling

After 24 hour of carcass chilling at 4 °C, the muscles *longissimus thoracis* (LT), *adductor magnus* (AD), and *biceps femoris* (BF) were dissected from the carcasses, any trace of subcutaneous fat being removed from muscles. The LT muscle was frozen at -80 °C and lyophilized for subsequent chemical composition and fatty acid profile determination (intramuscular fat). Muscle BF was cut into three portions perpendicular to the long axis: proximal, central (the largest, 10 cm approximately) and distal sections. The central portion, weighing on average 120 g, was used for analysis of volatile compounds, the other sections were discarded. The AM muscles were frozen (-30 °C) and subsequently used for the sensory evaluation.

Feed and meat chemical composition

Standardized procedures were used to determine the feed DM (ISO, 1999), ash (ISO, 2002), and crude protein (ISO, 2005a) contents, and the ether extract content was determined using the Ankom filter bag technique (AOCS, 2008). Acid and Neutral Detergent Fiber was determined in feed samples using the method of Van Soest et al. (1991).

The procedures described by Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2003) were used for meat chemical analysis of the LT muscle (DM, ash, CP and crude fat).

Fatty acid analysis

The LT muscle of both sides of each carcass was used for intramuscular fatty acid analysis. All details regarding the methods and equipment [lipid extraction, derivatization, gas chromatography (GC) separation and conditions, and the standard mixture used to determine the fatty acid composition of the lamb meat samples] have been previously described by Aldai et al. (2009). A sample (1 g) of freeze-dried muscle (LT) was homogenized in 5 mL of methanol, and then 5 mL of chloroform were added and homogenized again (Kramer et al.

1998). The mixture was filtered through a sintered glass filter funnel. The homogenizer (Cyclone IQ2, VirTis Company, Gardiner, NY) was rinsed with another 10 mL of chloroform-methanol (1:1, vol·vol-1) and filtered through the same glass funnel and pooled with the first extract. The final volume was adjusted to contain exactly 20 mL chloroform-methanol (1:1, vol·vol-1) and 9 mL 0.88% potassium chloride solution and 1 drop of 6 N hydrochloric acid were added. The solution was mixed and centrifuged ($600 \times g$) to separate phases. The bottom organic layer (chloroform) was removed and another 10 mL of chloroform were added to rinse the aqueous phase again (methanol-water), mixed and centrifuged. The bottom organic layer was collected and pooled with the first one. The chloroform was evaporated using a rotary evaporator (Büchi, Model R-114, Labortechnik, Switzerland) and total lipids were dissolved in 15 mL of chloroform. Lipid aliquots (10 mg) from each sample were methylated using alkaline (sodium methoxide) reagents (Kramer et al. 2008). The fatty acid methyl esters were analyzed using the GC, and the trans-18:1 isomers were analyzed using two complementary GC temperature programs (Dugan et al. 2007; Kramer et al. 2008).

A quantitative procedure was used to determine the fatty acid profile, adding 1 ml of internal standard to each sample (1 mg·ml⁻¹ 23:0 methyl ester; N-23-M, supplied by Nu-Chek Prep Inc., Elysian, MN, USA) prior to methylation. The fatty acid methyl ester (FAME) content was expressed as mg·kg⁻¹ fresh meat and each fatty acid was expressed as percentage (%) of the total FAME.

Some nutritionally interesting indexes were calculated, according to Ulbricht and Southgate (1991):

$$\text{Saturation index (S/P)} = \frac{(14:0 + 16:0 + 18:0)}{[\sum MUFA + \sum \text{polyunsaturated fatty acids (PUFA)}]}$$

$$\text{Atherogenicity index (AI)} = \frac{(12:0 + 4 \times 14:0 + 16:0)}{[\sum MUFA + \sum(n-6) + \sum(n-3)]}$$

$$\text{Thrombogenicity index (TI)} = \frac{(14:0 + 16:0 + 18:0)}{[(0.5 \times \sum MUFA) + 0.5 \times \sum(n-6) + 3 \times \sum(n-3) + \sum(n-3)/\sum(n-6)]}$$

To obtain the sums of MUFA, PUFA, n-3 and n-6 fatty acids, only the fatty acids identified (listed in Table 2) were used.

The fatty acid composition of SS was determined following the same procedure used for the meat samples. On the other hand, amounts of 0.6 g of

each of the TMR were used for analysis of FAME performed in duplicate following the method described by Carrapiso et al. (2000).

Volatile compounds analysis

The central portions of BF muscle were first placed into 27 cm x 22 cm polyethylene zip lock plastic bags (U.S. Plastic Corp, Lima, OH), then cooked in a water bath (JP Selecta, Barcelona, Spain) for 40 min at 75 °C. Cooked meat portions were then cut into 1.5 cm slices, perpendicular to the long axis. Two slices were vacuum packaged and stored (−47 °C, up to ten days) for further volatile compounds analysis.

Volatile compounds were determined using static headspace-gas chromatography coupled to mass spectrometry. Volatile compounds were extracted from the cooked BF slices using solid-phase microextraction (SPME) with a 75 µm carboxen/polydimethylsiloxane-coated fused silica fiber (Supelco, Bellefonte, PA, USA). Meat samples were minced using a domestic mincer and 4 g of sample were weighed into a 15 ml vial, sealed with polytetrafluoroethylene-lined silicone septa. The vial was placed in a 200 W ultrasonic water bath (JP Selecta, Barcelona, Spain) for 30 min at 40 °C. The ultrasound was switched off and the SPME fiber was exposed to the sample headspace for 30 min at 40 °C. The compounds adsorbed by the fiber were desorbed in the injection port of a CG 7890A gas chromatograph coupled with an MSD 5975 C mass spectrometer (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) for 2 min at 260 °C in splitless mode. The volatile compounds were separated with a DB-5MS column (60 m×0.25 mm ID×0.25 µm film thickness; J&W Scientific, Folsom, CA, USA). The oven temperature program was as follows: an initial step at 35 °C for 1 min followed by linear increases from 35 to 50 °C at 10 °C·min^{−1}, then to 200 °C at 4 °C·min^{−1}, and to 250 °C at 50 °C·min^{−1}. The final temperature of 250 °C was maintained for 11 min. The mass spectrometer operated in electron impact mode with an electron energy of 70 eV and an emission current of 50 µA and scanned from m/z 40 to m/z 350 at 3.94 scans/s. The identification and quantification procedures were those described by Vieira et al. (2012), with the exception that in this case the series of n-alkanes used for calculating the experimental linear retention index was in the range of C5 and C15.

The volatile compounds were also determined in SS and in the diets in duplicate following the same procedure used for the meat samples.

Sensory evaluation

The AM muscle was used for sensory evaluation. Sensory analysis was carried out by 25 consumers in only one session. A triangle test (ISO, 1983) was carried out to assess the consumer discrimination of meat from the lambs that were fed the control (00SS) and 15SS diets. The samples to be tested were

chosen based on the results of the dose recommended (as noted in the discussion section, due to the presence of potential hazardous compounds observed when higher amounts of SS were included in the diet, only up to 15 g SS per kg TMR can be recommended). In the triangle test, the assessors were requested to identify which two of three samples were most alike and, hence, to indicate which sample differed the most from the other two in order to determine whether an overall difference existed (Meilgaard et al., 2006). Additionally, all consumers participated in blind preference tests in which they received two meat samples on a coded paper plate. Each consumer tasted and evaluated their preferences for the meat samples from lambs fed the control (00SS) and 15SS diets, and provided the reason for their choices (ISO, 2005b).

Statistical analysis

Chemical composition data, FA profiles and volatile compounds data were subjected to one-way analysis of variance (ANOVA) with the inclusion of SS in the diet as the fixed effect (SSi) and the animal nested to diet as the random effect (Aj), using the MIXED procedure of SAS (SAS Institute, 1990), according to the following model:

$$y_{ij} = \mu + SS_i + A_j + \varepsilon_{ij}$$

where y_{ij} is the individual observation, μ is the overall mean and ε_{ij} the random error. Normality of the data and homogeneity of variances were assayed using Shapiro-Wilk and Levene's test, respectively. When a significant effect ($P < 0.05$) was observed, means were separated using the LSD test. Linear and quadratic contrasts were performed using the CONTRAST procedure of SAS (Kaps and Lamberson, 2004) to test the effects of the level of SS inclusion. Correlations between fatty acid and volatile compounds contents were carried out using the CORR procedure of SAS (SAS Institute, 1990). Data from the sensorial analysis were assessed according to ISO 5495:2005 and also analyzed by a chi-squared test (Stone and Sidel, 2004) using the FREQ procedure of SAS (SAS Institute, 1990).

RESULTS AND DISCUSSION

Meat chemical composition

The chemical composition of the lamb meat samples (LT) is shown in Table 2, and no significant differences were observed between treatments ($P > 0.05$). The lipid content of muscle in light lambs seems to be hardly influenced by dietary fat supplementation at the levels used in this experiment. These results are in agreement with those reported by Manso et al. (2009), who did not observe significant differences in the meat chemical composition of lambs fed diets supplemented with 4% of different vegetable oils. On the other hand, other

studies reported some changes related to fat deposition. In this sense, Bessa et al. (2005) observed a greater proportion of carcass subcutaneous fat and lower proportion of carcass muscle when lambs were fed with soybean oil. However, in that study the fattening period was longer and the level of fat added to the diet was greater (10% vs. 6%) than in our experiment. It is important to note that in the present study lambs were slaughtered at the same weight and no differences in carcass parameters were observed (Blanco et al., 2014). The lack of effect on chemical composition of LT is in accordance with the lack of differences in growth rate, carcass fatness and age at slaughter or length of fattening period (Blanco et al., 2014). Changes in the chemical composition of meat are usually related to changes in growth rates, slaughter weight, age and maturity (Huidobro and Cañeque, 1994; Teixeira et al., 1989; Manso et al., 1998).

Table 2. Chemical composition of *m. longissimus thoracis* (g kg⁻¹ meat).

	Treatments ¹				RSD	P-value	Contrast	
	00SS	15SS	30SS	60SS			Linear	Quadratic
Moisture (%)	772	769	767	775	7.8	0.20	0.71	0.07
Ash (%)	13.2	13.7	17.3	15.1	3.42	0.11	0.08	0.25
Crude protein (%)	172	177	176	174	7.4	0.67	0.36	0.78
Crude fat (%)	25.7	23.6	25.1	21.9	5.48	0.30	0.60	0.08

¹00SS = Total mixed ration (TMR) pellet without sunflower soapstock (SS), 15SS = TMR pellet containing 15 g SS/kg, 30SS = TMR pellet containing 30 g SS/kg, 60SS = TMR pellet containing 60 g SS/kg.

RSD: Residual standard deviation

Fatty acid composition

The main individual fatty acids observed in each group (as % of total FAMES, including those in amounts greater than 0.1%), as well as the percentage of the main groups (as % of total FAME) are summarized in Tables 3 and 4. No differences among treatments were observed in total FAME extracted ($P > 0.05$). Saturated fatty acid percentage was on average 12 % lower in the supplemented groups than in the control one ($P < 0.05$). No differences were observed either in total MUFA or cis-MUFA ($P > 0.05$), however some differences were observed in some individual cis-FA, particularly a decrease in 9c-16:1 (palmitoleic acid) in 15SS and 60SS and 9c-17:1 in 30SS and 60SS samples. On the other hand, there was a significant increase in total trans-MUFA with SS

inclusion (a 36 % increase on average, $P < 0.05$), the 60SS group showing the highest values followed by 30SS, 15SS and control samples. Particularly the differences were significant in 6t,8t-18:1, 11t-18:1, 12t-18:1, 6c,8c+13t,14t-18:1 MUFA ($P < 0.05$) with the highest level of SS (60SS).

As previously mentioned, SS is a source of unsaturated FA, and it is well known that not all unsaturated FA in the rumen are biohydrogenated, with around 10 % passing through to the small intestine avoiding the biohydrogenation process (Raes et al., 2004). In the present study, no differences in total MUFA and PUFA were observed, whereas the trans-MUFA statistically increased with SS supplementation. Consumption of unsaturated fatty acids (especially PUFA, but also MUFA) has been shown to reduce plasma levels of low density lipoprotein cholesterol, increase high density lipoprotein cholesterol, and protect against lipid peroxidation (Shen et al., 2015). Thus, increasing its percentage in meat is a desirable objective in human health. However, not all individual MUFA have shown the same effects on human health. For example, the concentration of the main MUFA, oleic acid (9c-18:1), which has been associated with health benefits (López-Huertas, 2010) was not modified, whereas 9c-16:1 and 9c-17:1 concentrations, whose biofunctionality is still unknown, decreased in response to SS supplementation. Trans-FA can be found mainly in animals consuming concentrate-based diets, and the use of oil supplements or oilseeds also increase their content in meat (Andrés et al., 2014; Bessa et al., 2005). Trans-MUFA (particularly 10t-18:1) are relevant because they have been associated with a rise of atherogenicity in animal models (Bauchart et al., 2007; FAO, 2010), so it is recommended that the intake of trans-FA should be below 1% of total energy intake (FAO, 2010). Even so, as happened with some cis-FA, the biofunctionality of every trans-MUFA is still unknown.

In the current study, CLA did not increase with the inclusion of SS in the diet (Table 2). Some authors found similar results to ours (Manso et al., 2009; Castro et al., 2005) albeit they reported an increase of CLA in the subcutaneous fat. They suggested that supplementing high-concentrate diets with linoleic acid-rich lipid sources is not an effective method for increasing the proportion of linoleic acid in intramuscular fat.

Table 3. Percentages of total fatty acids (saturated and monounsaturated) methyl esters in the *m. longissimus thoracis* of lambs (n = 8 per group).

Fatty acids	Treatments ¹				RDS	P-value	Contrast	
	00SS	15SS	30SS	60SS			Linear	Quadratic
FAMEs (g/kg fresh meat)	22.1	22.1	24.3	20.2	9.2	0.96	0.67	0.94
Saturated (%)	47.11 ^a	41.23 ^b	41.01 ^b	41.54 ^b	4.56	0.04	0.82	0.56
10:0	0.301	0.257	0.280	0.288	0.151	0.96	0.45	0.35
11:0	0.208	0.142	0.157	0.168	0.211	0.94	0.65	0.37
12:0	0.424	0.353	0.413	0.458	0.219	0.86	0.64	0.49
13:0	0.163	0.099	0.135	0.175	0.204	0.92	0.81	0.51
14:0	3.639	2.932	3.090	3.069	0.871	0.43	0.28	0.30
15:0	0.539	0.441	0.440	0.438	0.085	0.08	0.04	0.15
16:0	24.88	21.84	21.17	20.99	2.421	0.11	0.01	0.14
17:0	1.786 ^a	1.456 ^{ab}	1.379 ^b	1.274 ^b	0.311	0.02	0.01	0.35
18:0	13.77	13.18	13.36	13.94	1.372	0.73	0.54	0.16
19:0	0.149	0.194	0.224	0.187	0.079	0.30	0.25	0.18
20:0	0.161	0.130	0.136	0.157	0.067	0.76	0.96	0.29
22:0	0.041	0.045	0.052	0.055	0.024	0.82	0.35	0.93
24:0	0.207	0.155	0.152	0.013	0.074	0.67	0.15	0.36
Monounsaturated (%)	34.65	41.95	42.58	40.97	7.06	0.13	0.41	0.65
Cis	29.15	35.12	35.18	32.79	7.60	0.40	0.45	0.35
9c-14:1	0.177	0.154	0.120	0.162	0.078	0.52	0.53	0.29
9c-16:1	1.919 ^a	1.266 ^b	1.565 ^{ab}	1.262 ^b	0.370	0.01	0.01	0.23
9c-17:1	0.921 ^a	0.742 ^{ab}	0.689 ^b	0.565 ^b	0.165	0.01	<0.01	0.66
9c-18:1 ²	24.26	31.18	31.16	29.23	8.134	0.33	0.26	0.16
11c-18:1	1.663	1.612	1.475	1.409	0.268	0.24	0.05	0.94
9c-19:1	0.202	0.160	0.165	0.144	0.107	0.74	0.33	0.80
Trans	5.50 ^b	6.83 ^{ab}	7.40 ^{ab}	8.18 ^a	1.72	0.03	0.01	0.87
9t-16:1	0.447	0.346	0.361	0.356	0.078	0.07	0.02	0.12
6t,8t-18:1	0.152 ^c	0.240 ^{bc}	0.317 ^{ab}	0.389 ^a	0.097	<0.01	<0.01	0.89
9t-18:1	0.243	0.222	0.273	0.314	0.090	0.28	0.58	0.51
10t-18:1	3.362	4.864	4.862	5.230	1.716	0.29	0.10	0.40
11t-18:1	0.563 ^{ab}	0.404 ^b	0.757 ^a	0.694 ^a	0.211	0.04	0.10	0.03
12t-18:1	0.205 ^b	0.190 ^b	0.225 ^b	0.340 ^a	0.097	0.02	0.66	0.59
6c,8c+13t,14t-18:1	0.286 ^c	0.412 ^{bc}	0.436 ^b	0.579 ^a	0.115	<0.01	<0.01	0.36
16t-18:1	0.181	0.150	0.170	0.194	0.102	0.89	0.81	0.59

¹00SS = Total mixed ration (TMR) pellet without sunflower soapstock (SS), 15SS = TMR pellet containing 15 g SS·kg⁻¹, 30SS = TMR pellet containing 30 g SS·kg⁻¹, 60SS = TMR pellet containing 60 g SS·kg⁻¹.

²Coelution with c10-18:1

³Coelution with t7c9-1:1

RSD: Residual standard deviation.

^{a,b,c} Means with different superscripts indicate statistically significant differences ($P < 0.05$).

No differences in $n-6$ contents in meat were observed with SS supplementation (Table 4). Some authors have reported that lipid supplementation has a negative impact on the $n-6/n-3$ ratio (Bessa et al., 2005), due to an increase in $n-6$ FA. Although SS are a source of $n-6$ in the present experiment we did not observe this effect. These results could be explained in part because of the high content of FFA in SS, which might be more susceptible to the biohydrogenation process by the rumen microbiota than vegetable oils. In this sense, Manso et al. (2009) suggested that rumen biohydrogenation may be enhanced if animals receive a high concentration of unsaturated lipid supplements. Moreover, in the present study, concentrations of 18:3 and $n-3$ FA both in SS (Table 1) and in the meat (Table 4) of control and supplemented lambs were small.

Table 4. Percentages of total fatty acids methyl esters in the *m. longissimus thoracis* of lambs ($n = 8$ per group).

Fatty acids	Treatments ¹					P-value	Contrast	
	00SS	15SS	30SS	60SS	RDS		Linea r	Quadrati c
Non conjugated 18:2 (%)	0.990	0.923	1.137	1.048	0.314	0.65	0.32	0.35
Tt	0.145	0.160	0.169	0.139	0.075	0.88	0.94	0.48
9t-12t	0.050	0.058	0.085	0.076	0.032	0.20	0.06	0.59
9c,13t+8t12c	0.242	0.262	0.281	0.246	0.087	0.82	0.81	0.45
8t,13c	0.247	0.192	0.271	0.263	0.097	0.52	0.42	0.54
11t,15c	0.301	0.254	0.330	0.319	0.103	0.59	0.42	0.63
Conjugated 18:2 (%)								
9c,11t	0.429	0.381	0.438	0.467	0.112	0.61	0.34	0.38
PUFA (%)	13.34	12.27	11.19	11.82	2.922	0.52	0.72	0.82
$n-6$	11.87	11.06	9.42	10.68	2.380	0.25	0.58	0.51
18:2 $n-6$	8.310	7.936	6.769	7.739	1.572	0.06	0.26	0.27
18:3 $n-6$	0.134	0.108	0.080	0.128	0.093	0.68	0.75	0.33
20:2 $n-6$	0.110	0.101	0.069	0.135	0.079	0.55	0.89	0.29
20:3 $n-6$	0.235	0.216	0.173	0.203	0.079	0.46	0.25	0.45
20:4 $n-6$	2.691	2.475	2.116	2.176	0.641	0.19	0.08	0.57
22:4 $n-6$	0.290	0.227	0.217	0.201	0.124	0.51	0.18	0.60
$n-3$	1.46	1.20	1.15	1.13	0.351	0.25	0.91	0.45
18:3 $n-3$	0.639	0.568	0.533	0.515	0.086	0.05	0.01	0.23
20:5 $n-3$	0.036	0.016	0.027	0.044	0.040	0.63	0.66	0.41
22:5 $n-3$	0.506	0.480	0.448	0.421	0.147	0.20	0.23	0.99
22:6 $n-3$	0.201	0.142	0.146	0.143	0.071	0.30	0.14	0.28

¹00SS = Total mixed ration (TMR) pellet without sunflower soapstock (SS), 15SS = TMR pellet containing 15 g SS·kg⁻¹, 30SS = TMR pellet containing 30 g SS·kg⁻¹, 60SS = TMR pellet containing 60 g SS·kg⁻¹.

RSD: Residual standard deviation.

^{a,b,c} Means with different superscripts indicate statistically significant differences ($P < 0.05$).

Albeit the small changes observed in the present study in FA, some positive effects on beneficial nutritional indexes were noticed. Atherogenicity and saturation indexes were decreased (P linear < 0.05) on average by 31 and 27 %, respectively, in SS groups compared to the control (Table 5). These indexes have been associated traditionally with a lower risk of coronary diseases (Ulbricht and Southgate, 1991).

Table 5. Nutritionally interesting ratios and indexes in the *m. longissimus thoracis* muscle of lambs ($n = 8$ per group).

Nutritional indexes	Treatments ¹				RSD	P-value	Contrast	
	00SS	15SS	30SS	60SS			Linear	Quadratic
<i>n</i> -6/ <i>n</i> -3 PUFA	5.77	6.07	5.32	5.84	0.742	0.35	0.41	0.25
<i>n</i> -6/ <i>n</i> -3 HUFA	6.46	7.10	6.30	7.56	1.069	0.11	0.17	0.23
PUFA/SFA	0.271	0.288	0.244	0.272	0.050	0.50	0.88	0.78
Atherogenicity index	0.940	0.644	0.641	0.651	0.246	0.06	0.04	0.11
Saturation index	0.943	0.686	0.684	0.704	0.214	0.07	0.05	0.01
Thrombogenicity index	1.44	1.24	1.20	1.30	0.199	0.14	0.74	0.63

¹00SS = Total mixed ration (TMR) pellet without sunflower soapstock (SS), 15SS = TMR pellet containing 15 g SS·kg⁻¹, 30SS = TMR pellet containing 30 g SS·kg⁻¹, 60SS = TMR pellet containing 60 g SS·kg⁻¹.

RSD: Residual standard deviation.

HUFA: Highly unsaturated fatty acids.

Volatile compounds

Table 6 shows the volatile composition of cooked meat samples according to dietary treatment with the compounds grouped into main chemical families. The most abundant compounds in cooked lamb were aldehydes followed by alcohols, hydrocarbons and ketones. The dominance of the acyclic aldehydes in the headspace of lamb meat was in agreement with the results from other studies (Vasta et al., 2008; Roldán, et al., 2015). Acyclic hydrocarbons, aldehydes and ketones, aliphatic alcohols, and furan compounds are thought to arise from lipid degradation taking place during meat cooking (Sivadier et al., 2008; Resconi et al., 2013).

The concentrations of nine of those (33) presumptively lipid-derived volatiles (i.e., undecane, tetradecane, (Z)-2-heptenal, 1-hexanol, 2-ethylhexanol, 1-octen-3-ol, 2-pentylfuran, octanoic acid and nonanoic acid) were affected by diet ($P < 0.05$). Among them, (Z)-2-heptenal, 1-hexanol, 1-octen-3-ol and 2-pentylfuran have been considered as potential contributors to meat flavor (Machiels et al., 2003; Wang et al., 2016). Therefore, differences in the levels of

those compounds could be expected to have influence in the flavor of the mutton samples.

Meat concentrations of undecane (the most abundant hydrocarbon), tetradecane, and the sum of hydrocarbons, followed a similar pattern. These compounds were increased in meat samples from lambs fed SS, compared with control meat (00SS), although no significant differences were observed between 00SS and 60SS samples. The reason for this common pattern could be that *n*-hydrocarbons would be formed from the same reaction intermediates, i.e., alkyl free radicals by reaction with hydrogen-free radicals (Maruri and Larick, 1992), which could have been increased in SS meat. Furthermore, 15SS and 30SS treatments also resulted in higher 1-hexanol and 2-ethyl-1-hexanol concentrations compared with control. Moreover, 60SS treatment resulted in a significant increase in the concentrations of octanoic and nonanoic acids with respect to the other feeding treatments.

The other three volatiles affected by dietary treatment (2-heptenal, 1-octen-3-ol, 2-pentylfuran) showed the lowest mean levels in 30SS meat samples, with significant differences being found between 30SS and 60SS treatments. Cooked meat volatile profile might be explained, at least partially, by variations in FA composition (Dransfield, 2008). In this regard, 2-heptenal, 1-octen-3-ol and 2-pentylfuran are derived from the decomposition of C18:2 n -6 (Elmore et al., 2005). Thus, the effect of feeding treatment on those volatiles might be related to the tendency ($P < 0.10$) of the effects of SS on the levels of C18:2 n -6, which was the major PUFA in lamb samples (Table 2). This relation is supported by the significant ($P < 0.01$) correlation ($r > 0.5$) between C18:2 n -6 and each of those volatiles (data not shown in tables).

As for benzene compounds, the presence of toluene, benzaldehyde and ethylbenzene in lamb meat samples has been reported in other studies (Elmore et al., 2005; Sivadier et al., 2010; Ortuño et al., 2016). In these studies, it has been suggested that toluene may arise from the degradation of dietary carotenoids, and benzaldehyde could be formed by thermal decomposition of FA during meat cooking. Furthermore, benzene compounds in meat might be due to feed contamination from atmosphere pollutants that are retained by green plants (Sivadier et al., 2010). In this study, the presence of toluene and ethylbenzene was only quantifiable in meat from lambs supplemented with SS. It is important to mention that SS contained solvent residues (< 0.70 mg/kg), and that toluene and ethylbenzene were actually detected in the headspace of SS samples (Table 1). This could be the reason for the increased presence of those benzene compounds in SS-meat.

Table 6. Volatile composition (ng of undecane equivalent per g of meat) in cooked meat (*m. biceps femoris*) of lambs fed with different levels of sunflower soapstocks.

	Treatments ¹				RSD	P-value	Contrast	
	00SS	15SS	30SS	60SS			Linear	Quadratic
Acyclic hydrocarbons	284 ^b	701 ^a	799 ^a	487 ^{ab}	347.5	0.04	0.24	0.01
1-Heptene (682) ²	21	22	29	21	11.6	0.50	0.62	0.32
1-Octene (790)	23	24	33	34	12.9	0.26	0.06	0.99
Octene (800)	6.7	23	23	14	27.9	0.61	0.61	0.22
Decane (1000)	19	105	108	36	75.2	0.05	0.67	0.08
Undecane (1100)	77 ^c	227 ^{ab}	315 ^a	167 ^{bc}	133.8	0.01	0.10	0.01
Dodecane (1200)	67	81	81	89	22.0	0.25	0.06	0.73
Undecane, 2,6-dimethyl (1213)	8.4	11	11	11	3.5	0.28	0.12	0.35
Tetradecane (1400)	14 ^b	22 ^a	17 ^{ab}	18 ^{ab}	5.4	0.03	0.38	0.05
Pentadecane (1500)	10	19	12	16	8.7	0.22	0.42	0.50
Acyclic aldehydes	10410	10374	10454	11102	2033.6	0.87	0.51	0.64
Pentanal (704)	528	552	635	554	127.6	0.42	0.43	0.26
Hexanal (807)	7097	6974	7142	7235	1465.8	0.99	0.80	0.84
Heptanal (903)	580	665	579	740	269.5	0.59	0.37	0.70
2-Heptenal, (Z)- (959)	23 ^{ab}	17 ^b	13 ^b	35 ^a	13.1	0.01	0.14	0.01
Octanal (1005)	888	890	948	1063	178.9	0.19	0.05	0.39
2-Octenal, (E)- (1060)	27	35	48	43	19.9	0.20	0.06	0.34
Nonanal (1106)	1237	1195	1053	1391	213.3	0.39	0.35	0.02
2-Nonenal, (E)- (1162)	10	14	11	11	5.1	0.33	0.93	0.19
Decanal (1207)	NQ	30	26	31	6.0	0.12 ³	0.16	0.75
Acyclic ketones	457	427	364	567	183.9	0.21	0.37	0.09
2-Heptanone (891)	64	66	54	83	24.2	0.15	0.26	0.13
2-Heptanone, 6-methyl- (955)	13	12	10	17	5.9	0.14	0.31	0.07
2,5-Octanedione (985)	368	327	279	450	156.7	0.21	0.43	0.07
2-Decanone (1192)	12	22	21	18	8.6	0.14	0.26	0.05

Aliphatic alcohols	1219	1317	1993	1456	296.3	0.31	0.21	0.43
1-Penten-3-ol (680)	13	18	21	14	7.4	0.10	0.60	0.02
1-Pentanol (760)	313	374	368	364	105.0	0.64	0.39	0.40
1-Hexanol (871)	78 ^b	151 ^a	155 ^a	116 ^{ab}	54.6	0.03	0.18	0.01
1-Heptanol (971)	78	81	84	101	25.8	0.30	0.08	0.44
1-Octen-3-ol (981)	555 ^a	500 ^{ab}	374 ^b	622 ^a	151.4	0.03	0.76	0.01
1-Hexanol, 2-ethyl (1030)	6.0 ^b	28 ^a	22 ^{ab}	7.7 ^b	16.3	0.03	0.96	0.01
2-Octen-1-ol, (E)- (1068)	57	11	8.3	57	71.6	0.36	0.99	0.08
1-Octanol (1072)	124	153	168	180	41.0	0.06	0.01	0.57
Furan compounds								
Furan, 2-pentyl (991)	196 ^{ab}	186 ^b	148 ^b	278 ^a	80.9	0.03	0.12	0.02
Fatty acids	58 ^b	37 ^{bc}	35 ^c	112 ^a	21.1	<0.01	<0.01	<0.01
Octanoic acid (1169)	23 ^b	14 ^b	17 ^b	56 ^a	12.4	<0.01	<0.01	<0.01
Nonanoic acid (1265)	35 ^b	23 ^c	18 ^c	56 ^a	11.1	<0.01	0.03	<0.01
Benzene compounds and quinones	46 ^b	105 ^a	112 ^a	110 ^a	27.7	<0.01	0.02	0.06
Toluene (755)	NQ	14 ^{ab}	10 ^b	17 ^a	9.2	0.05 ³	0.02	0.75
Benzene, ethyl (861)	NQ	17	16	10	14.9	0.09 ³	0.44	0.02
Benzaldehyde (966)	46	70	68	65	22.2	0.16	0.13	0.12
2,6-di-tert-butylquinone (1484)	NQ	4.2 ^b	18 ^a	18 ^a	8.2	0.01 ³	0.02	0.81

¹00SS = Total mixed ration (TMR) pellet without sunflower soapstock (SS), 15SS = TMR pellet containing 15 g SS·kg⁻¹, 30SS = TMR pellet containing 30 g SS·kg⁻¹, 60SS = TMR pellet containing 60 g SS·kg⁻¹.

RSD: Residual standard deviation.

² The relative retention times found for each compound are shown in parentheses.

³ Control treatment was excluded of the analysis of variance.

^{a,b,c} Means with different superscripts indicate statistically significant differences ($P < 0.05$).

NQ: Non-quantified (levels under the detection limit: 4 ng of undecane equivalent/g of meat).

Finally, the presence of quinone 2,6-di-tert-butylquinone (BHT-quinone) has not been reported previously in lamb meat samples. In the present study, BHT-quinone was present in samples from lambs fed SS at levels higher than the quantification limit (4 ng of undecane equivalent per g of meat), and at lower levels (traces) in control samples. The presence of this compound in lamb meat samples might be partially explained by migration from the packaging plastic material used in contact with the meat samples in the experiment, since it is

considered a common plastic oxidation product (Kontominas et al., 2006). On the other hand, BHT-quinone could be originated from tissue metabolism via biotransformation of di-tert-butylhydroxytoluene (BHT) (JECFA, 1996), which was ingested by the lambs with the SS diets; explaining the greater concentrations in SS meat. In fact, BHT was an additive used as antioxidant in the SS and was actually detected in the headspace of SS samples (Table 1). Moreover, BHT was also detected in the SS lamb meat samples, albeit under the quantification limit (not tabulated data).

Sensory analysis

Meat from lambs fed the control and 15SS diets was used to compare the effects of SS supplementation on the consumers' discrimination and preference between both meats. The results of the triangle test showed that 14 out of 25 panelists (56 %, $P < 0.05$) were able to discriminate the samples from soapstock unsupplemented (00SS) and supplemented (15SS) lambs, probably due to the modifications in the FA and volatile compounds profiles. However, in the preference test no significant differences ($P > 0.10$) were observed in the proportions of panelists choosing the meat from control (00SS) or 15SS lambs (44 vs. 56 %, respectively). These results do not support a well-defined preference for lamb meat from either diet and implies that the consumers' choices were due to chance (Stone and Sidel, 2004). Other authors have pointed out that supplementing lamb diets with vegetable oils could influence the consumers' preference (Bas et al., 2007). This effect was not observed in the present study when 15SS meat was tested against the control lamb meat, probably due to the small changes in n-3 FA or the low inclusion rate of SS in the 15SS diet compared with the control one (00SS).

Implications for human health

The inclusion of SS in the diet for fattening lambs decreased the atherogenicity and saturation indexes ($P_{\text{linear}} < 0.05$). These indexes have been traditionally used as indicators of the potential effects of fatty acid composition on human health, and thus low values are recommended to reduce the risk of coronary diseases (Ulbricht and Southgate, 1991). However, in the present study, an increase of certain compounds described as potentially hazardous for the human health was observed. In this way, trans-MUFA increased with the addition of SS to the diet. Some trans-MUFA have been associated with a rise in atherogenicity in animal models (Bauchart et al., 2007; FAO, 2010), and intake of trans-FA should be below 1% of total energy intake (FAO, 2010). Moreover, the increasing presence of benzene compounds in meat of SS supplemented lambs might be of particular concern because of their potential toxicity for the human health (carcinogenic and mutagenic properties) (Bahadar et al., 2014). These results have not been described before and should

be considered in any risk assessment of the use of industrial by-products in animal feed.

The inclusion of SS in the diet of lambs at the conditions of the present study promotes meat with decreased SFA and increased trans-MUFA in the intramuscular fatty acid profile, along with modifications in the levels of several odor-active lipid-derived volatile compounds (that may affect lamb meat flavor). Nevertheless, although consumers were able to discriminate between the meat from control and 15SS lambs, there was not a well-defined consumer preference for meat from any of these treatments. Furthermore, it should be pointed out that the use of SS could give rise to the presence of potentially toxic benzene compounds (solvent residues) and quinones (BHT derivatives) in meat. Therefore, considering the effects on meat composition observed in the present study, addition of SS to the diets of light fattening lambs should be limited to a maximum level of 15 g SS·kg⁻¹ TMR.

LITERATURE CITED

- Andrés, S., L. Morán, N. Aldai, M. L. Tejido, N. Prieto, R. Bodas, and F. J. Giráldez. 2014. Effects of linseed and quercetin added to the diet of fattening lambs on the fatty acid profile and lipid antioxidant status of meat samples. *Meat Sci.* 97(2):156-163. doi:10.1016/j.meatsci.2014.02.001
- Aldai, N., M. E. Dugan, D. C. Rolland, and J. K. Kramer. 2009. Survey of the fatty acid composition of Canadian beef: Backfat and *longissimus lumborum* muscle. *Can. J. Anim. Sci.* 89(3):315-329. doi:10.4141/CJAS08126
- AOAC. 2003. Official Methods of Analysis. Assoc. of Anal. Chem. 17th ed. Gaithersburg, MD.
- AOCS. 2008. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. (5th ed.) Assoc. of Off. Anal. Chem. Maryland, USA.
- Bahadar, H., S. Mostafalou, and M. Abdollahi. 2014. Current understandings and perspectives on non-cancer health effects of benzene: a global concern. *Toxicol. Appl. Pharm.* 276(2):83-94. doi: 10.1016/j.taap.2014.02.012
- Bas P., V. Berthelot, E. Pottier, and J. Normand. 2007. Effect of level of linseed on fatty acid composition of muscles and adipose tissues of lambs with emphasis on *trans* fatty acids. *Meat Sci.* 77:678-688. doi:10.1016/j.meatsci.2007.05.022
- Bauchart, D., A. Roy, S. Lorenz, J. M. Chardigny, A. Ferlay, D. Gruffat, J. L. Sébédio, Y. Chilliard, and D. Durand. 2007. Butters varying in *trans* 18:1 and *cis*-9,*trans*-11 conjugated linoleic acid modify plasma lipoproteins in the hypercholesterolemic rabbit. *Lipids.* 42:123-133. doi:10.1007/s11745-006-3018-0
- Blanco, C., R. Bodas, N. Prieto, L. Morán, S. Andrés, S. López, and F. J. Giráldez. 2012. Vegetable oil soapstocks reduce methane production and modify ruminal fermentation. *Anim. Feed. Sci. Tech.* 176(1):40-46. doi: 10.1016/j.anifeeds.2012.07.006
- Blanco, C., F. J. Giráldez, N. Prieto, L. Morán, S. Andrés, J. Benavides, M. L. Tejido, and R. Bodas. 2014. Effects of dietary inclusion of sunflower soap stocks on nutrient digestibility, growth performance, and ruminal and blood metabolites of light fattening lambs. *J. Anim. Sci.* 92:4086-4094. doi:10.2527/jas.2014-7693
- Bender, D. A. 2009. A dictionary of food and nutrition. OUP Oxford.
- Bessa, R. J. B., P. V. Portugal, I. A. Mendes, and J. Santos-Silva. 2005. Effect of lipid supplementation on growth performance, carcass and meat quality and fatty acid

- composition of intramuscular lipids of lambs fed dehydrated lucerne or concentrate. *Livest. Prod. Sci.* 96:185-194. doi:10.1016/j.livprodsci.2005.01.017
- Carrapiso, A. I., M. L. Timón, M. J. Petró, J. F. Tejada, and C. García, 2000. In situ transesterification of fatty acids from Iberian pig subcutaneous adipose tissue. *Meat Sci.* 56:159–164.
- Castro, T., T. Manso, A. R. Mantecón, J. Guirao, and V. Jimeno. 2005. Fatty acid composition and carcass characteristics of growing lambs fed diets containing palm oil supplements. *Meat Sci.* 69:757-764. doi:10.1016/j.meatsci.2004.11.008
- Council, E. P. A. E. 2010. European Commission Directive 2010/63/Eu on the protection of animals used for scientific purposes. Ispra, Italy: Institute for Health and Consumer Protection.
- Dransfield, E. 2008. The taste of fat. *Meat Sci.* 80:37-42. doi:10.1016/j.meatsci.2008.01.017
- Dugan, M. E. R., J. K. G. Kramer, W. M. Robertson, W. J. Meadus, N. Aldai, and D. C. Rolland. 2007. Comparing subcutaneous adipose tissue in beef and muskox with emphasis on *trans* 18:1 and conjugated linoleic acids. *Lipids.* 42: 509-518. doi:10.1007/s11745-007-3051-7
- Elmore, J. S., S. L. Cooper, M. Enser, D. S. Mottram, L. A. Sinclair, R. G. Wilkinson, and J. D. Wood. 2005. Dietary manipulation of fatty acid composition in lamb meat and its effect on the volatile aroma compounds of grilled lamb. *Meat Sci.* 69(2):233-242. doi: 10.1016/j.meatsci.2004.07.002
- FAO. 2010. Fats and fatty acids in human nutrition. Reports of an Expert Consultation. World Health Organization. Rome, Italy.
- FEDNA. 2003. FEDNA para la formulación de piensos compuestos. Fundación Española Desarrollo Nutrición Animal. Madrid, Spain
- González, E., A. Hernández-Matamoros, and J. F. Tejada. 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. *J. Sci. Food Agr.* 92(12):2543-2551. doi:10.1002/jsfa.5669
- Huidobro, F., and V. Cañeque. 1994. Producción de carne en corderos de raza Manchega. IV. Ecuaciones predictorias de la composición tisular de las canales. *Investigación Agropecuaria Producción Sanidad Animal.* 9(1):71-81.
- ISO. 1983. Sensory evaluation. Standard 4120. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- ISO. 1999. Animal feeding stuffs. Determination of moisture and other volatile matter content. Standard 6496. International Organization for Standardization. Geneva, Switzerland.
- ISO. 2002. Animal feeding stuffs. Determination of crude ash. Standard 5984. International Organization for Standardization. Geneva, Switzerland.
- ISO. 2005a. Animal feeding stuffs. Determination of nitrogen content and calculation of crude protein content. Part 2: Block digestion and steam distillation method. Standard ISO 5983–2. International Organization for Standardization. Geneva, Switzerland.
- ISO. 2005b. Sensory analysis. Methodology. Paired comparison test. Standard no. 5496, International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- JECFA. 1996. Toxicological evaluation of certain food additives and contaminants in food. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Food Ad. 35:3–86. Geneva.
- Kaps, M., and W. R. Lamberson, 2004. Biostatistics for Animal Science. CABI Publishing, Wallingford, United Kingdom.
- Kramer, J. K. G., N. Sehat, M. E. R. Dugan, M. M. Mossoba, M. P. Yurawecz, J. A. G. Roach, K. Eulitz, J. L. Aalhus, A. L. Schaefer, and Y. Ku. 1998. Distribution of conjugated linoleic acid (CLA) isomers in tissue lipid classes of pigs fed a

- commercial CLA mixture determined by GC and silver ion HPLC. *Lipids*. 33:549-558.
- Kramer, J. K. G., M. Hernandez, C. Cruz-Hernandez, J. Kraft, and M. E. R Dugan. 2008. Combining results of two GC separations partly achieves determination of all *cis* and *trans* 16:1, 18:1, 18:2, 18:3 and CLA isomers of milk fat as demonstrated using Ag-ion SPE fractionation. *Lipids*. 43:259-273. doi:10.1007/s11745-007-3143-4
- Kontominas, M. G., A. E. Goulas, A. V. Badeka, and A. Nerantzaki. 2006. Migration and sensory properties of plastics-based nets used as food-contacting materials under ambient and high temperature heating conditions. *Food Addit. Contam.* 23(6):634-641. doi:10.1080/02652030600643369
- López-Huertas, E. 2010. Health effects of oleic acid and long chain omega-3 fatty acids (EPA and DHA) enriched milks. A review of intervention studies. *Pharmacological Research*. 61(3):200-207. doi:10.1016/j.phrs.2009.10.007
- Machiels, D., S. M. Van Ruth, M. A. Posthumus, and L. Istasse. 2003. Gas chromatography-olfactometry analysis of the volatile compounds of two commercial Irish beef meats. *Talanta*. 60:755-764
- Manso, T., A. R. Mantecón, F. J. Giráldez, P. Lavín, and T. Castro. 1998. Animal performance and chemical body composition of lambs fed diets with different protein supplements. *Small Ruminant Res.*, 29(2):185-191.
- Manso, T., R. Bodas, T. Castro, V. Jimeno, and A. R. Mantecón. 2009. Animal performance and fatty acid composition of lambs fed with different vegetable oils. *Meat Sci.* 83(3):511-516. doi:10.1016/j.meatsci.2009.06.035
- Maruri, J. L., and D. K. Larick. 1992. Volatile concentration and flavor of beef as influenced by diet. *J. Food Sci.* 57(6):1275-1281.
- Meilgaard, M. C., B. T. Carr, and G. V. Civille. 2006. Sensory evaluation techniques. CRC press.
- Ortuño, J., R. Serrano, and S. Bañón. 2016. Use of dietary rosemary diterpenes to inhibit rancid volatiles in lamb meat packed under protective atmosphere. *Animal*. 1-11. doi:10.1017/S1751731116000392
- Pardio, V. T., L. A. Landin, K. N. Waliszewski, F. Pérez-Gil, L. Díaz, and B. Hernández. 2005. The effect of soybean soapstock on the quality parameters and fatty acid composition of the hen egg yolk. *Poultry Sci.* 84(1):148-157. doi:10.1093/ps/84.1.148
- Raes, K., S. De Smet, and D. Demeyer. 2004. Effect of dietary fatty acids on incorporation of long chain polyunsaturated fatty acids and conjugated linoleic acid in lamb, beef and pork meat: a review. *Anim. Feed. Sci. Tech.* 113:199-221.
- Resconi, V. C., A. Escudero, and M. M. Campo. 2013. The development of aromas in ruminant meat. *Molecules*. 18:6748-6781. doi:10.3390/molecules18066748
- Roldán, M., Ruiz, J., Sánchez del Pulgar, J., Pérez-Palacios, T., and Antequera, T. 2015. Volatile compound profile of sous-vide cooked lamb loins at different temperature-time combinations. *Meat Sci.* 100:52-57. doi:10.1016/j.meatsci.2014.09.010
- SAS Institute. 1990. SAS/STAT user's guide, version 6 (Vol. 2). Cary, NC: SAS Institute.
- Shen, J., K. A. Wilmot, N. Ghasemzadeh, D. L. Molloy, G. Burkman, G. Mekonnen, M. C. Gongora, A. A. Quyyumi, and L. S. Sperling. 2015. Mediterranean dietary patterns and cardiovascular health. *Annual Review of Nutrition*. 35:425-449. doi:10.1146/annurev-nutr-011215-025104
- Sivadier, G., J. Ratel, F. Bouvier, and E. Engel. 2008. Authentication of meat products: Determination of animal feeding by parallel GC-MS analysis of three adipose tissues. *J. Agr. Food Chem.* 56, 9803-9812. doi:10.1021/jf801276b

- Sivadier, G., J. Ratel, and E. Engel. 2010. Persistence of pasture feeding volatile biomarkers in lamb fats. *Food Chem.* 118:418-425. doi:10.1016/j.foodchem.2009.02.088
- Stone, H., and J. L. Sidel. 2004. *Sensory Evaluation Practices*. Third edition. Elsevier Academic Press, San Diego, CA.
- Teixeira, A., R. Delfa, and F. Colomer-Rocher. 1989. Relationships between fat depots and body condition score or tail fatness in the Rasa Aragonesa breed. *Animal Production*. 49(02):275-280. doi:10.1017/S0003356100032402
- Ulbricht, T., and D. Southgate. 1991. Coronary heart disease: seven dietary factors. *The Lancet*. 338:985-992.
- Van Soest, P. V., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74:3583-3597.
- Vasta, V., A. Nudda, A. Cannas, M. Lanza, and A. Priolo. 2008. Alternative feed resources and their effects on the quality of meat and milk from small ruminant. *Anim. Feed. Sci. Tech.* 147:223-246. doi:10.1016/j.anifeedsci.2007.09.020
- Vieira, C., A. Fernández-Diez, J. Mateo, R. Bodas, S. Soto, and T. Manso, 2012. Effects of addition of different vegetable oils to lactating dairy ewes' diet on meat quality characteristics of suckling lambs reared on the ewes' milk. *Meat Sci.* 91:277-283. doi:10.1016/j.meatsci.2012.02.003
- Wang, Y., H. Song, Y. Zhang, J. Tang, and D. Yu. 2016. Determination of aroma compounds in pork broth produced by different processing methods. *Flavour Frag. J.* 31:319–328. doi:10.1002/ffj.3320

Discusión general

El presente trabajo de investigación se ha planteado con el objetivo de desarrollar un sistema de alimentación basado en el empleo de raciones completas granuladas y la inclusión de oleínas en las mismas.

Tal y como se expone con mayor detalle en la introducción, el desarrollo de raciones completas tiene como finalidad productiva reducir el coste de producción asociado a la administración de paja de forma separada al pienso, característica de los sistemas tradicionales de cebo. Con tal propósito, considerando el papel de la relación forraje/concentrado en la fisiología digestiva y en la respuesta productiva, se planteó una primera prueba experimental para confirmar la validez del empleo de raciones completas granuladas, frente al sistema convencional, y establecer la proporción óptima de forraje en las mismas. Los resultados obtenidos en esta prueba experimental se recogen y discuten en los capítulos I y II de la presente memoria.

Una vez confirmada la validez de este nuevo sistema y establecida la proporción adecuada de forraje, con el objetivo de mejorar aspectos relacionados con el bienestar animal, el impacto ambiental y la calidad de la carne, se realizaron dos pruebas complementarias. En primer lugar, se realizó una prueba *in vitro* para evaluar el efecto de diferentes tipos de oleína sobre la fermentación ruminal, en especial, sobre la producción de metano. Y en segundo lugar, una vez seleccionado el tipo de oleína más adecuado, se realizó una prueba de cebo para establecer el efecto de diferentes niveles de inclusión. Los resultados obtenidos en estas pruebas se recogen y discuten en los capítulos III, IV y V.

Teniendo en cuenta el enfoque holístico e interdisciplinar del presente trabajo de investigación, cuya necesidad se justifica en la introducción, consideramos que en este apartado de discusión general procede, por tanto, discutir los resultados recogidos en los diferentes artículos agrupados de acuerdo con 4 bloques temáticos: a) ingestión y rendimiento productivo; b) bienestar animal; c) impacto ambiental y d) calidad de la canal y de la carne.

Ingestión y rendimiento productivo

Como se mencionó anteriormente, en la formulación de raciones completas granuladas el primer paso es establecer el porcentaje óptimo de forraje, ya que influye en la ingestión y la digestibilidad y, por tanto, en la ganancia diaria de peso y el índice de conversión.

A medida que se incrementa el porcentaje de paja en la ración, se diluye el contenido energético, por lo que los animales deben incrementar la ingestión para mantener la velocidad de crecimiento. Diferentes autores han observado

que al diluir la concentración de la ración, incrementando la proporción de forraje, los animales responden aumentando la ingestión de materia seca, para mantener la ingestión de energía, siempre y cuando el forraje no limite físicamente esta respuesta (Cate et al., 1955; Lawlor y Crowley, 1971; Pérez-Lánzac et al., 1987).

En el presente estudio, la paja se administró en forma larga (sin moler) y de forma separada al pienso en el grupo control o se incluyó finamente picada y mezclada con el pienso, dentro del gránulo, en proporciones del 5 (grupo F05), 15 (grupo F15) y 25 (grupo F25) %, por lo que no cabría esperar una limitación física de la ingestión. De hecho, los resultados obtenidos así lo confirmaron, incrementándose la ingestión al hacerlo la proporción de paja en la ración (ver figura 6).

Además, la ausencia de diferencias entre los grupos experimentales en el peso del contenido digestivo en los pre-estómagos (retículo, rumen y omaso) sugiere que tampoco las hubo en la velocidad de desaparición del alimento en este segmento del tracto digestivo, a pesar de la reducción observada en la digestibilidad de la materia seca al aumentar la proporción de paja en la dieta. Al administrarse la paja finamente picada no cabe esperar que este componente de la ración tuviese que permanecer más tiempo en el retículo-rumen para alcanzar el tamaño de partícula necesario para atravesar el orificio retículo-omasal (Shaver et al., 1986; Colucci et al., 1990; Tripathi et al., 2007).

Sin embargo, sí se constataron diferencias en el peso del contenido digestivo retenido en el abomaso e intestino, con mayores valores en los grupos F15 y F25. La distensión del tracto digestivo, en general y no solo del rumen, desencadena mecanismos de inhibición de la ingestión (Fisher et al., 1987). No obstante, en este trabajo de investigación se emplearon animales en crecimiento y no se puede descartar que el tracto digestivo se adaptase al tipo de dieta consumida (Fattet et al., 1984; Varga et al., 1995).

De hecho, los animales de los grupos F15 y F25 consumieron más alimento del que sería necesario para compensar la dilución energética de la ración, lo que se tradujo en una mayor ingestión de energía y una mayor ganancia diaria de peso (299^{ab}, 280^a, 339^{bc} y 353^c g/día para los grupos control, F05, F15 y F25, respectivamente).

La cuestión que se deriva de estos resultados es determinar por qué los animales de los grupos F15 y F25 incrementaron su ingestión respecto a los animales del grupo control.

Un aspecto muy interesante de los resultados obtenidos es que el incremento en la GDP fue consecuencia de una mayor ingestión de paja, ya que la ingestión de pienso fue similar en los 4 grupos (ver figura 6). Esto sugiere que el factor limitante podría residir en la ingestión de concentrado, pero en algún factor añadido al contenido energético.

Figura 6. Valores medios de ingestión de paja y de pienso de corderos consumiendo dietas con diferente proporción de paja (Control: 3,4%; F05: 5%; F15: 15% y F25: 25 %)

El contenido de proteína de la ración es un factor cuyo efecto en la ingestión ha sido demostrado en numerosos estudios (Allison, 1985; Koster et al., 1996; Manso et al., 1998; Broderick, 2003). Sin embargo, en el presente estudio las dietas formuladas fueron isoproteicas por lo que no cabe esperar que este factor haya sido determinante.

Tanto en el tracto digestivo como en diferentes órganos y tejidos, incluido el sistema nervioso, existen receptores para distintos compuestos químicos que intervienen en la regulación de la ingestión a corto y largo plazo. Algunos trabajos relacionan la concentración plasmática de ácido propiónico con la ingestión, siendo menor esta última al aumentar la concentración del mencionado ácido graso volátil (Elliot et al., 1985; Allen, 2000). En nuestro estudio no hubo diferencias en la concentración de acético y propiónico en las muestras de líquido ruminal recogidas en el momento de sacrificio. No obstante, estos resultados deben interpretarse con suma precaución, ya que aunque a los animales se les retiró la comida 1 hora antes del sacrificio, su patrón de ingestión durante las horas anteriores podría haber sido diferente. De hecho, en

la prueba de fermentación *in vitro* sí se observó que la producción de propiónico y su proporción molar disminuyeron al aumentar la proporción de paja en la ración. Por tanto, asumiendo que una mayor producción de propiónico podría traducirse en una mayor concentración plasmática de este ácido, estos resultados podrían explicar las variaciones observadas entre tratamientos en la ingestión.

Figura 7. Valores medios de ingestión de paja y de pienso o de materia seca digestible de corderos consumiendo dietas con diferente proporción de oleína de girasol (00SS: 0%; 15SS: 1,5%; 30SS: 3% y 60SS: 6 %)

Uno de los objetivos de la inclusión de lípidos en las dietas de cebo es incrementar la densidad energética de la ración, de manera que los animales puedan alcanzar la misma ingestión de energía con menor cantidad de alimento. En rumiantes esta estrategia permite reducir la proporción de cereal en la dieta, disminuyendo la incidencia o la intensidad de acidosis ruminal (Kleen et al., 2003; Oetzel, 2003; Nagaraja y Lechtenberg, 2007). No obstante, cuando los suplementos lipídicos administrados no están protegidos, una proporción excesiva puede afectar a la microbiota ruminal, reducir la digestibilidad e influir negativamente en el rendimiento productivo (Palmquist y Conrad, 1978; Doreau and Chilliard, 1997; Carvalho et al., 2014).

Con la finalidad de evaluar el empleo de oleínas, y partiendo de la dieta F15 valorada en la primera prueba experimental, se elaboraron diferentes dietas experimentales con proporciones del 0 (00SS); 1,5 (15SS); 3 (30SS) y 6 % (60SS) de oleína de girasol. Se formularon dietas isoproteicas pero, paralelamente al aumento de la proporción de oleína, aumentó la concentración

de energía bruta y disminuyó la proporción de cereal en la dieta (desde el 58,3 al 50,5 %).

Contrariamente a lo esperado, la proporción de oleína no influyó en la ingestión de materia seca (ver figura 7). Sin embargo, un análisis más detallado de los resultados sí evidencia la presencia de un mecanismo de regulación energético. Aunque no se observaron diferencias en la ingestión de materia seca, la ingestión de materia seca digestible disminuyó al aumentar la proporción de oleína (ver figura 7). No obstante, dado que la concentración energética se incrementó al hacerlo el contenido de oleína, no hubo diferencias entre grupos en la energía digestible ingerida (3,11; 3,15; 3,25 y 3,00 Mkal ED/día, para los grupos 00SS, 15SS, 30SS y 60SS, respectivamente).

La utilización de oleína supuso una reducción en la digestibilidad de la materia seca y de la fibra (DFND), especialmente acusada en el grupo que recibió la dieta con la mayor proporción de oleína (DFND = 56, 42, 48 y 27 % para los grupos 00SS, 15SS, 30SS y 60SS, respectivamente). La disminución observada en el grupo 60SS es mayor que la señalada por otros autores con proporciones similares de aceites vegetales (Manso et al., 2009; Bhatt et al., 2011), lo que podría estar relacionado con la elevada proporción de ácidos grasos libres que posee la oleína y que le confieren mayor toxicidad sobre la microbiota ruminal (Towne et al., 1990; Pantoja et al., 1994).

En relación con el rendimiento productivo, como se señaló anteriormente, la mayor ingestión en los grupos F15 y F25 se tradujo en una mayor ganancia diaria de peso y, por tanto, en una reducción del periodo de cebo, respecto al grupo control. El índice de conversión, sin embargo, no resultó significativamente afectado e incluso fue alrededor de un 10 % superior en el grupo F25 respecto al grupo control.

En general, con una misma dieta y dentro de ciertos límites, al aumentar la ingestión y la ganancia diaria de peso mejora el índice de conversión sólo por el hecho de que una menor proporción de la energía ingerida se destina a cubrir las necesidades de mantenimiento. En el presente estudio, no obstante, las diferencias en la ingestión entre los distintos grupos experimentales fueron debidas al incremento en la ingestión de paja al aumentar su proporción en la dieta. Como consecuencia, el efecto positivo sobre el índice de conversión que tendría la mayor ganancia diaria de peso se compensó con la menor eficiencia de utilización digestiva de la paja respecto al pienso. De hecho, cuando se expresó el índice de conversión utilizando la materia seca digestible se observó el resultado opuesto al anteriormente señalado, con menores índices de conversión en los grupos F15 y F25, consecuencia de la mayor ingestión de MS digestible.

Figura 8. Valores medios del índice de conversión para los diferentes grupos experimentales (control, F05, F15 y F25) calculado sobre la base de la materia seca ingerida o sobre la materia seca digestible ingerida.

La inclusión de oleínas en la dieta no afectó ni a la ganancia diaria de peso, ni al índice de conversión, lo que estuvo en concordancia con la ausencia de diferencias entre grupos experimentales en la ingestión de energía digestible.

El índice de conversión, no obstante, puede variar dependiendo de la proporción de energía aportada por las diferentes fuentes energéticas y el lugar de digestión (Huntington et al., 2005; Moharrery et al., 2014), ya que estos factores pueden influir en la energía final disponible para los tejidos y en la composición de la ganancia corporal.

Así, por ejemplo, Manso et al. (2006) observaron un menor índice de conversión en corderos alimentados con aceite de palma y con jabones cálcicos, resultados similares a los obtenidos por Lough et al. (1993) también utilizando aceite de palma en corderos. Estos autores atribuyeron este efecto a una mayor ingestión de energía digestible. Sin embargo, en el presente estudio no se encontraron diferencias en la ingestión de energía digestible entre los grupos que recibieron las dietas con distinta proporción de oleína.

Desde un punto de vista productivo, los resultados obtenidos han permitido confirmar que es posible emplear raciones completas granuladas para cebar corderos con la misma eficiencia que el sistema convencional, siendo la dieta con un 15 % de paja la que proporciona los mejores resultados. La inclusión de oleínas en la ración, no influyó ni en la ingestión, ni en el rendimiento productivo cuando se incluyó en proporciones iguales o inferiores al

3 %. Con proporciones superiores (6 %) afectó negativamente a la digestibilidad de los nutrientes, en especial de la fibra.

Bienestar animal

Como se ha comentado en el apartado previo, en los sistemas intensivos de cebo la acidosis ruminal y la litiasis (en el caso de animales macho) constituyen las patologías más frecuentes relacionadas con la alimentación.

En el sistema convencional, a los animales se les oferta paja, en forma larga, a voluntad, la finalidad de estimular la rumia y la producción de saliva, reduciendo así, la aparición de acidosis. En estas condiciones, sin embargo, el consumo de paja es muy reducido y la acidosis ruminal es una patología frecuente. Sin embargo, dada la corta duración del periodo de cebo, la acidosis ruminal no incide excesivamente en el rendimiento productivo; al contrario de lo que sucede en el cebo de terneros. No obstante, reducir la prevalencia de esta patología o su gravedad son objetivos a los que no se tiene que renunciar y deben estar presentes a la hora de desarrollar nuevos sistemas de alimentación.

Cabe esperar que cuanto menor sea el tamaño de la paja, menor será la efectividad de su fibra para estimular la rumia y la salivación. Por ello, se incluyeron en el diseño de la primera prueba experimental 3 dietas mixtas completas granuladas con 3 proporciones de paja (5, 15 y 25 %). Para evaluar, adecuadamente, el efecto sobre la salud de los animales, además del grupo control, cebado con el sistema convencional, se incluyó un quinto grupo que se alimentó con alfalfa a voluntad y pienso de forma restringida (Grupo ALFALFA), de manera que los animales no padecieran acidosis ruminal.

Obviamente los animales del grupo ALFALFA presentaron una menor ganancia diaria de peso y un peor índice de conversión, pero, como cabría esperar, los resultados obtenidos corroboraron que los animales de este grupo no sufrieron acidosis ruminal. El pH del líquido ruminal fue superior al de los otros grupos (5,8; 5,2; 5,6; 5,7 y 6,9 para los grupos control, F05, F15, F25 y ALFALFA, respectivamente), en parte debido a una menor producción de ácidos grasos volátiles, con un perfil, además, orientado a la producción de ácido acético.

Como consecuencia, el número de papilas fue mayor y el color de la mucosa, como se aprecia en la figura 9, fue más blanco. La menor acidosis en el rumen se tradujo en un menor hematocrito, así como un valor mayor del pH sanguíneo y un menor anión gap, en el día 15 de experimento.

Figura 9. Estado macroscópico de la mucosa ruminal de los grupos control, F05, F15, F25 y ALFALFA.

Las raciones de cebo con un elevado contenido de carbohidratos fácilmente fermentables provocan un descenso del pH ruminal como resultado del aumento de la concentración de AGV y de ácido láctico (Bodas, 2004). Este hecho implica un incremento de la presión osmótica, favoreciéndose la reabsorción de agua desde el torrente sanguíneo hacia el rumen, que, junto a la acidez presente en el medio, provoca daños en las papilas ruminales y termina causando una atrofia de las mismas y un aumento del estrato córneo (Van Soest, 1994; Kleen et al., 2003; Benavides et al., 2013). A nivel metabólico, la reabsorción de agua desde el torrente sanguíneo, causa en primer lugar un incremento de hematocrito (Owens et al., 1998; Hernández et al., 2014). Además, puede provocar cambios en el pH de la sangre, aunque los resultados publicados a este respecto son muy variables, (Huber, 1976; Owens et al., 1998), posiblemente debido a los mecanismos de compensación que se desencadenan. Así por ejemplo, la queranitización de la mucosa ruminal disminuye la absorción de AGV, lo que puede agravar la acidosis ruminal pero evitar una acidosis metabólica (Kleen et al., 2003). Por otra parte, a través de la respiración y de variaciones en la concentración de distintos cationes y aniones se regula también el pH sanguíneo (Nikolov, 2003).

En relación con las dietas completas, aunque el consumo de paja fue mayor que en el grupo control, el estado de acidosis no mejoró respecto a este grupo, pero tampoco empeoró. Estos resultados concuerdan con la ausencia de diferencia entre grupos en la ingestión de concentrado (ver figura 6) y confirman que la fibra incluida en las dietas granuladas no fue efectiva.

Varios estudios han puesto de manifiesto que inducir acidosis mediante la administración de dietas con altas proporciones de concentrado aumenta la concentración de endotoxinas o lipopolisacáridos (lps) en el rumen (Gozho et al., 2005; Plaizier et al., 2012). Éstas pueden atravesar la barrera epitelial del tracto digestivo y llegar al flujo sanguíneo o al sistema linfático, donde pueden interactuar con distintos tipos de células (mononucleares, endoteliales y células musculares lisas, granulocitos polimorfonucleares y trombocitos), estimular la producción de mediadores pro-inflamatorios, tales como las citoquinas (Plaizier

et al., 2012), y activar las respuestas celular y humoral del sistema inmunitario y el número de células blancas (Gozho et al., 2005; Khafipour et al., 2009). En nuestro caso no hubo diferencias en la concentración entre tratamientos en la producción de gamma-interferón e interleuquina 4. Estos datos conjuntamente con la ausencia de diferencias entre tratamientos en el recuento de células blancas, linfocitos, granulocitos y monocitos y las elevadas ganancias de peso y los bajos índices de conversión registrados en todos los grupos, excepto en el grupo de ALFALFA, corroboran que la acidosis ruminal en corderos de cebo tiene escasa relevancia productiva, posiblemente debido al corto periodo de tiempo que implica el cebo.

Si bien, como reflejaron los resultados, la relevancia productiva de la acidosis ruminal fue escasa, utilizar una alimentación que afecta negativamente a la salud del tracto digestivo tiene implicaciones éticas que no se deben ignorar.

La disminución de la proporción de cereal en la ración y la reducción de la ingestión de pienso es una estrategia ya evaluada para este objetivo (Castro et al., 2005; Manso et al., 2006). Así, por ejemplo, se ha estudiado la inclusión de fuentes de fibra soluble (Bodas et al., 2007) y de aceites y grasas protegidas (Haddad y Younis, 2004; Kitessa et al., 2009; Arar y Harb, 2010). El empleo de oleínas, sin embargo, ha sido objeto de menos atención y por ello nos planteamos evaluar su empleo.

Como se discutió en el apartado anterior, contrariamente a lo esperado, la ingestión no disminuyó al aumentar la proporción de oleína de girasol y el contenido de energía bruta en la dieta, posiblemente como consecuencia de la reducción en la digestibilidad de la fibra, que, a su vez, redujo la digestibilidad de la energía.

Las oleínas presentan una acidez notable, su pH varía entre 4,5 y 5,5, debido fundamentalmente al alto porcentaje de ácidos grasos libres (Dumont y Narine, 2007). De hecho, el pH ruminal tendió a disminuir linealmente a medida que aumentó la inclusión de oleína en la dieta.

Esta circunstancia podría explicar, en parte, el cambio observado en el patrón de fermentación, ya que una mayor acidez inhibe el crecimiento de las bacterias Gram positivas, productoras de ácido acético, favoreciendo el crecimiento de las bacterias Gram negativas, productoras de propiónico (Bannink y Tamminga, 2005; Shingfield et al., 2008; Spanghero et al., 2008). La consecuencia de estos cambios en el patrón de fermentación, fue un aumento en el grado de paraqueratosis, tal y como sugiere el análisis del color de la mucosa.

No obstante, no se puede descartar efectos específicos de ciertos ácidos grasos sobre la microbiota ruminal, dado el bajo grado de esterificación y la relativa alta proporción en ácidos grasos insaturados (principalmente linoleico en el caso de la oleína de girasol) (Jenkins, 1993; Bauman y Griinari, 2001). En cualquier caso, a pesar de la mayor paraqueratosis encontrada en los animales que recibieron las dietas con oleína, los parámetros sanguíneos indicativos del estado ácido-base fueron en su conjunto mejores en estos animales. Posiblemente este estado de la mucosa del rumen actuó como mecanismo de defensa (Kleen et al., 2003).

Cuando se analizan conjuntamente los resultados de las dos pruebas de cebo realizadas en el presente trabajo de investigación, llama la atención las diferencias observadas entre el grupo F15, de la primera prueba, y el grupo Control, de la segunda, ya que en ambos grupos se utilizó la misma dieta.

Así, aunque los datos productivos (ingestión, ganancia diaria de peso e índice de conversión) fueron similares, los datos de pH del rumen difirieron. Es cierto que los datos de pH deben interpretarse con precaución ya que corresponden a una muestra puntual recogida en el momento del sacrificio. Sin embargo, no es menos cierto que son concordantes con un aparente menor grado de paraqueratosis. Esta discrepancia, no obstante, podría responder a diferencias entre animales en la susceptibilidad a la acidosis (Cheng et al., 1998; Mohammed et al., 2012). Cabe indicar que los animales empleados en ambas pruebas procedieron de diferentes rebaños.

Desde la perspectiva del bienestar animal, los resultados obtenidos constataron que el empleo de dietas completas granuladas, de las características evaluadas en el presente trabajo de investigación, permiten obtener un estándar de bienestar, en lo referente a la prevalencia e intensidad de la acidosis ruminal, similar al que se consigue con el sistema convencional de cebo. La inclusión de oleínas de girasol en la dieta, como alternativa para reducir la proporción de cereal, no redujo la acidosis ruminal, pero permitió mejorar algunos parámetros sanguíneos indicativos del estado ácido-base de los animales, si bien este efecto varió con el nivel de inclusión.

Impacto ambiental

Se estima que la producción ganadera es responsable, a nivel mundial, del 15-20 % del total de metano emitido a la atmósfera, siendo los rumiantes los animales que más contribuyen a esta emisión (Moss et al., 2000; Knapp et al., 2014). En consecuencia, el desarrollo de cualquier estrategia para mitigar su emisión es relevante. Además, dado que la vida media de este gas es muy

inferior al de otros gases de efecto invernadero, la reducción de su emisión puede tener un efecto positivo a corto plazo (Kumar et al., 2014).

Independientemente del potencial contaminante del metano, su producción implica una pérdida energética para los animales (Blaxter, 1989; McAllister et al., 1996). La reducción de esta producción, por tanto, no sólo es beneficiosa desde el punto de vista ambiental sino también productivo.

La prueba *in vitro* realizada en nuestro estudio de investigación (capítulo III) permitió evaluar el efecto de la proporción de forraje y concentrado y el uso de oleínas sobre el patrón de fermentación ruminal, complementando los datos obtenidos *in vivo*.

El tipo de dieta determina en gran medida la producción de metano, aumentado ésta a medida que lo hace la relación forraje/concentrado. En general, un aumento en la proporción de forraje en la dieta incrementa la metanogénesis, debido, principalmente, a un incremento en la producción de ácido acético. Por el contrario, dietas ricas en concentrado están asociadas a la producción de altas cantidades de propiónico y una menor producción de metano por g de alimento fermentado (Johnson y Johnson, 1995; Martin et al., 2010). No obstante, el efecto de la relación forraje/concentrado puede variar dependiendo de la calidad del forraje, ya que con forrajes de baja calidad aunque aumente la proporción de acético y la de metano en el gas producido, la cantidad total de gas producido por gramo de materia seca disminuye y puede hacerlo también la producción total de metano (Doane et al., 1997).

Los datos de la prueba de fermentación *in vitro* corroboraron esta afirmación, de este modo al aumentar el porcentaje de paja disminuyó la producción de ácidos grasos volátiles por g de materia seca y se modificó el patrón de fermentación, disminuyendo la proporción de ácido propiónico y aumentando la de acético. Fruto de ello, aunque aumentó la proporción de metano por ml de gas producido, la producción de metano por gramo de materia seca incubada disminuyó al aumentar la proporción de paja en la ración.

Cuando se trasladaron estos resultados a la prueba *in vivo*, y asumiendo que la producción de metano por gramo de materia seca incubada de los grupos control y F05 fuese similar, se observó que la producción de metano por animal, para el conjunto del periodo de cebo, no mostró diferencias entre los distintos grupos experimentales si bien el grupo F15 presentó una producción un 5,5 % menor que el grupo control, debido al efecto combinado de una menor producción de metano por gramo de materia seca incubada y una menor ingestión acumulada de alimento en todo el periodo de cebo.

Figura 10. Valor medio de la emisión estimada de metano, expresada por animal para el periodo total de cebo (desde aproximadamente 14 kg hasta los 27 kg de peso) para los grupos control, F05, F15 y F25.

El uso de aceites y semillas vegetales o mezclas específicas de ácidos grasos para reducir la formación de metano entérico ha sido una estrategia ampliamente estudiada (Machmüller et al., 1998; 2000; Machmüller, 2006; Martin et al., 2008). Sin embargo, el uso de subproductos más económicos, como las oleínas, no ha sido objeto de la misma atención, por lo que se incluyeron en la prueba *in vitro* diferentes oleínas presentes en el mercado (procedentes del refinado de distintos aceites: palma, oliva, girasol y soja).

Todas las oleínas redujeron la producción de gas y la producción de metano por g de alimento y también por mol de ácidos grasos volátiles producido (AGV). Sin embargo, únicamente en las oleínas de palma, soja y girasol el efecto se incrementó con la proporción de oleína en la dieta.

El hecho de que las oleínas de girasol y soja son fluidas a temperatura ambiente, cualidad de gran interés para su inclusión en los piensos comerciales, y de que son fuentes de ácidos grasos insaturados, que pueden contribuir a mejorar el perfil de ácidos grasos de los productos obtenidos de los animales (carne), determinaron que fuesen seleccionadas para ser evaluadas en el cebo de corderos.

Para seleccionar entre las dos oleínas (girasol y soja) se realizó una prueba de preferencia (Kyriazakis y Oldham, 1997), no incluida en los artículos que se recogen en el presente trabajo de investigación. En esta prueba se ofreció a 6 corderos la posibilidad de elegir entre una dieta elaborada con un 3

% oleína de girasol y otra con un 3 % oleína de soja. Como dieta basal se utilizó la dieta B15 de la primera prueba experimental. Los resultados mostraron que los animales tuvieron una preferencia clara por el pienso con oleína de girasol frente al pienso con oleína de soja (ver figura 11; valor estándar de preferencia $SPV = 1,9 \pm 0,89$; un valor igual a 0 implica no preferencia) y por ello ésta fue la oleína elegida para realizar la prueba *in vivo*.

Figura 11. Preferencia de los animales por raciones mixtas completas conteniendo un 3 % de oleína de girasol o un 3 % oleína de soja

Cuando extrapolamos los datos *in vitro* a la prueba *in vivo*, se constató este descenso en la producción de metano, mostrando todos los grupos de oleínas un descenso lineal con la dosis.

La eliminación de N al medio también es importante tanto desde el punto de vista ambiental como productivo. En el proceso de degradación de las deyecciones se produce óxido nítrico - gas de potente efecto invernadero -, generalmente en mayor cantidad cuanto mayor contenido de N se elimine en las deyecciones (Rotz, 2004). Por otra parte, Europa es dependiente de la importación de fuentes de proteína para alimentación animal, siendo además los suplementos proteicos una de las materias primas que más encarece los piensos (St-Pierre y Thraen, 1999). Por tanto, utilizar de forma eficiente el N aportado con la dieta es un objetivo tanto productivo como ambiental.

Figura 12. Valor medio de la emisión estimada de metano, expresada por animal para el periodo total de cebo (desde aproximadamente 14 kg hasta los 27 kg de peso) para los grupos 00SS, 15SS, 30SS y 60SS.

Cuando se consideró el conjunto del periodo de cebo, a pesar de que la ingestión diaria de N fue menor en el grupo control que en los grupos F15 y F25, la excreción de N en heces fue mayor en este grupo que en el grupo F15 como consecuencia, fundamentalmente, de una mayor duración del cebo, ya que no se observaron diferencias en la digestibilidad aparente de la proteína. La menor duración del cebo, sin embargo, no compensó la mayor ingestión de proteína del grupo F25.

A medida que aumenta la ingestión de proteína, la digestibilidad aparente de la proteína suele aumentar, si se mantiene constante la excreción de nitrógeno metabólico fecal. En el presente experimento, no se observó esta relación seguramente porque al aumentar la ingestión de proteína también aumentó la ingestión de materia seca y en especial de fibra y ello podría haber provocado un incremento en la excreción de N endógeno (Giráldez et al., 1997). Por otra parte, tampoco se podría descartar una reducción en la digestibilidad verdadera, ya que al aumentar la ingestión de proteína también aumentó la proporción de proteína bruta aportada por la paja, parte de la cual está ligada a la fibra y es indigestible (Woodman y Evans, 1947).

Figura 13. Valores medios de eliminación de N fecal para el periodo completo de cebo (g N excretado /animal y cebo), correspondiente a las dos pruebas experimentales (Prueba 1: grupos control, F05, F15 y F25; Prueba 2: grupos 00SS, 15SS, 30SS y 60SS).

La menor excreción fecal de N en el grupo F15 respecto al control, a pesar de la mayor ingestión diaria de proteína en este último grupo, fue consecuencia de la menor duración del cebo en el grupo F15. En consecuencia, este grupo eliminó una menor cantidad de N al medio para producir los mismos kg de carne.

En relación con el experimento realizado con oleína, los valores de excreción fecal no disminuyeron al incluir oleína en la ración. Estos animales tuvieron una ingestión similar de proteína y su digestibilidad no se vio afectada por la inclusión de oleínas, por lo que no era esperable encontrar diferencias en este parámetro.

Cuando se analizan de manera conjunta los resultados de los dos experimentos vuelve a llamar la atención las diferencias en la excreción fecal de N entre los animales de los grupos F15 y 00SS, que fueron alimentados con la misma dieta. La ingestión de materia seca y de proteína fue similar en ambos grupos, pero tanto la digestibilidad de la FND como de la proteína fue menor en el grupo F15. La menor digestibilidad de la FND concuerda con los menores valores de pH en las muestras de líquido ruminal recogidas en el momento del sacrificio y pone de manifiesto un mayor grado de acidosis ruminal en los animales del grupo F15. Una alteración de la fermentación podría haber influido

en la degradación ruminal de la proteína y en la síntesis de proteína microbiana, modificando la digestibilidad de la misma (Erfle et al., 1982).

En cualquier caso, considerando globalmente los datos de producción de metano y eliminación de N, el empleo de raciones completas granuladas, con una proporción de paja no superior al 15 %, parece constituir una alternativa mejor, desde el punto de vista del impacto ambiental, que el sistema convencional de cebo. La inclusión de oleínas en este tipo de raciones, además, también se confirma como una estrategia eficaz para reducir las emisiones de metano, pero no de nitrógeno.

Calidad de la canal y de la carne

Como se analizó en el apartado de revisión bibliográfica, la relación forraje/concentrado puede influir en las características de la canal y de la carne, pero básicamente cuando las diferencias son extremas e inciden en el aporte de nutrientes o en la relación entre ellos, en especial entre la proteína y la energía o en el perfil de ácidos grasos (Elmore et al., 2005; Wood et al., 2008; Zervás y Tsiplakou, 2011).

En la primera prueba realizada, los animales se sacrificaron al mismo peso y si bien se observaron diferencias en la GDP, éstas fueron debidas al nivel de ingestión y no a diferencias en la relación energía/proteína. De hecho, el índice de conversión fue similar cuando se expresó en relación a la materia seca digestible, lo que sugiere que no hubo diferencias en la composición de la ganancia de peso entre tratamientos. La ausencia de diferencias en las características de la canal, por tanto, concuerdan con esta hipótesis.

Es oportuno recordar que las principales diferencias en la ingestión entre tratamientos fueron debidas a diferencias en la ingestión de paja y no de pienso (ver figura 6) y la paja no es un alimento que aporte componentes específicos, como ácidos grasos, que puedan tener gran efecto en las características de la carne. La ausencia de diferencias entre tratamientos en los parámetros determinados para evaluar la calidad de la carne estaría, por consiguiente, en concordancia con esta circunstancia.

A priori, cabría esperar que la inclusión de oleínas, en sustitución parcial del cereal de la ración, modificase la fermentación ruminal y, por extensión, la energía fermentable ingerida y la relación proteína/energía fermentable. No obstante, los suplementos lipídicos pueden desarrollar un efecto propio, ya que pueden ser tóxicos para las bacterias, alterando la microbiota ruminal y modificando también la fermentación ruminal (Jenkins, 1993). No obstante, ambos efectos pueden sumarse o contraponerse, dependiendo de la forma de

presentación y del grado de insaturación del suplemento lipídico, y por tanto influir de forma variable en el proceso digestivo y en las características de la canal y de la carne.

La inclusión de aceites vegetales ricos en ácidos grasos insaturados puede reducir la digestibilidad de la fibra y como consecuencia reducir la energía retenida en animales en crecimiento (Machmüller et al., 2000). En el presente trabajo de investigación, observamos una reducción en la digestibilidad de la fibra y de la energía, aunque la mayor concentración de energía bruta compensó esta reducción, de manera que la ingestión de energía digestible fue similar en los diferentes tratamientos. Por otra parte, los cambios observados en la fermentación ruminal, con un incremento en la proporción de ácido propiónico al aumentar la proporción de oleína en la dieta, también podrían contribuir a compensar la reducción en la digestibilidad, ya que la eficiencia de utilización de la energía para el crecimiento incrementa al hacerlo la proporción de propiónico (Blaxter, 1989; Johnson y Johnson, 1995; Russell, 1998).

A pesar de ello se evidenció una ligera reducción en el peso de la canal fría, que fue menor en el grupo 60SS que en el 00SS. Es posible que al mantenerse la ingestión de alimento y reducirse la digestibilidad, se incrementase el contenido digestivo. Tampoco se puede descartar que existieran diferencias en la deposición de grasa en los depósitos de la no canal. En la canal no se observaron diferencias estadísticamente significativas en el depósito de grasa pélvico-renal pero sí se observaron diferencias numéricas, con un 25 % más de depósito en los animales que recibieron oleínas. Es por tanto plausible la hipótesis de una mayor deposición de grasa en los depósitos de la no canal, dado que son de deposición más temprana (Castrillo, 1979; Teixeira et al., 1989). Estas diferencias podrían guardar relación con diferencias en la proporción de energía aportada por las distintas fuentes (carbohidratos vs lípidos) y el lugar de digestión, ya que el total de energía digestible ingerida no varió entre tratamientos.

Estas diferencias en el peso de la canal fría no se tradujeron en diferencias en las proporciones de los diferentes cortes de la canal, que fundamentalmente se ven afectadas por la velocidad de crecimiento, la edad y el grado de madurez (Carrasco et al., 2009), factores que, en el presente trabajo, no variaron entre tratamientos.

Como cabría esperar, dada la ausencia de diferencias en la velocidad de crecimiento, peso de sacrificio y características de la canal, la inclusión de oleínas no influyó en el pH, ni en la composición química de la carne, pero sí que se observó un efecto en el perfil de ácidos grasos y de compuestos volátiles.

Una discusión detallada del efecto sobre ambos perfiles se recoge en el artículo 5, por lo que en esta discusión general nos centraremos en los aspectos más relevantes.

Respecto al perfil de ácidos grasos, destaca, en primer lugar, el incremento lineal en la proporción de ácidos grasos monoinsaturados *trans* al hacerlo el contenido de oleína en la dieta. El incremento de estos ácidos grasos al incorporar suplementos lipídicos en la dieta ya ha sido demostrado por otros autores (Bessa et al., 2005; Manso et al., 2009) y es debido al efecto de la toxicidad provocada por los ácidos grasos sobre la microbiota que aumenta las rutas de biohidrogenación alternativas, donde se forman más metabolitos *trans*.

En segundo lugar, cabe indicar que no se observaron diferencias ni en la proporción de ácido linoleico conjugado (CLA), ni en el total de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA). La oleína de girasol presenta un elevado contenido de ácido linoleico (475 g/kg), sin embargo, el mayor aporte dietético de este ácido no incrementó su contenido en carne.

Algunos autores han comprobado que la inclusión de aceites vegetales, en dietas de corderos en cebo originó, un incremento en la proporción de ácidos grasos n-6 (Santos-Silva et al., 2004; Bessa et al., 2005). En el presente estudio, la ausencia de efecto sobre los ácidos n-6 y el incremento en la proporción de *trans*-MUFA sugiere una intensa biohidrogenación, posiblemente debido a que, a diferencia de los aceites, en las oleínas los ácidos grasos se encuentran mayoritariamente en forma libre, no esterificados.

En cualquier caso, aunque los cambios registrados en la mayoría de los ácidos grasos fueron de escasa magnitud y estadísticamente no significativos, la inclusión de oleínas mejoró los índices de saturación y de aterogenicidad. Estos índices se calculan mediante una ponderación de los principales grupos de ácidos grasos y valoran de un modo general el perfil cardiosaludable de la grasa (Ulbricht y Southgate, 1991).

En relación con el perfil de compuestos volátiles, cabe destacar que varios autores han evaluado el efecto de la inclusión de diferentes aceites vegetales en la dieta de corderos (Nute et al., 2007; Vasta et al., 2008; Vasta et al., 2010). Sin embargo, en lo que nosotros conocemos, no existen estudios realizados con oleínas en carne de cordero y es especialmente relevante porque en el caso de las oleínas, además de los ácidos grasos presentes en ellas contienen otros tipos de compuestos derivados del proceso de refinamiento de los mismos, como son solventes orgánicos, fosfatos, esteroides, polialcoholes y carbohidratos (Dumont y Narine, 2007), que podrían causar cambios en el flavor de la carne o incluso generar componentes perjudiciales para la salud de los consumidores.

Como cabría esperar, dada la ausencia de diferencias en la composición química y las escasas diferencias observadas en el perfil de ácidos grasos, no se encontraron diferencias cuantitativamente importantes en el perfil de compuestos volátiles. El cambio quizá más relevante, por su potencial tóxico, (Bahadar et al., 2014) fue una acumulación de compuestos bencénicos (tolueno, benzaldehído y etilbenceno) en la carne de los corderos que recibieron las dietas con oleína.

El tolueno, benzaldehído y etilbenceno han sido previamente identificados en carne de cordero (Sivadier et al., 2010; Ortuño et al., 2016). Estos estudios sugieren que el tolueno podría proceder de la degradación de los carotenos y el benzaldehído de la degradación térmica de los ácidos grasos durante el cocinado. Además, su presencia en carne también podría deberse a la contaminación de las materias primas de la dieta por medio de la acumulación de residuos presentes en la atmósfera (Sivadier et al., 2010).

Figura 14. Acumulación de compuestos bencénicos y quinonas en los diferentes grupos experimentales.

En este estudio la presencia de tolueno y etilbenceno solo se detectó en los corderos que recibieron oleína por lo que su presencia puede derivar de residuos, presentes en la misma, de disolventes orgánicos que se usan en el proceso de refinado del aceite.

La presencia de 2,6-di-tert-butilquinona (BHT-quinona) no ha sido descrita previamente en carne de cordero. Este compuesto fue identificado en todos los

grupos experimentales, excepto en el grupo control. La hipótesis más probable es que este compuesto podría proceder del metabolismo del butilhidroxitolueno o BHT (International Programme on Chemical, 1996), aditivo que se emplea en las oleínas y en los aceites para evitar su oxidación.

Los resultados obtenidos confirman que el empleo de dietas completas permite producir canales y carne de cordero de características similares a las que se obtienen con el sistema convencional de cebo. La inclusión de oleínas tuvo efectos positivos (mejora de los índices de aterogenicidad y saturación) y negativos (incremento de ácidos grasos *trans* y acumulación de compuestos bencénicos) sobre parámetros que inciden en la salud de los consumidores. Estos efectos dependieron de la dosis y considerando en conjunto todos los resultados obtenidos, sería recomendable no utilizar niveles de inclusión superiores al 1,5 %.

Referencias

- Allen, M.S., 2000. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 83, 1598-1624.
- Allison, C.D., 1985. Factors affecting forage intake by range ruminants - a review. *Journal of Range Management* 38, 305-311.
- Arar, H.R., Harb, M., 2010. The effect of adding protected fat in the ration of lactating awassi ewes and fattening lambs. *Jordan Journal of Agricultural Sciences* 2,1.
- Bahadar, H., Mostafalou, S., Abdollahi, M., 2014. Current understandings and perspectives on non-cancer health effects of benzene: A global concern. *Toxicology and Applied Pharmacology* 276, 83-94.
- Bannink, A., Tamminga, S., 2005. Rumen function. Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism. 2nd edn. (Eds J Dijkstra, JM Forbes, J France), 263-288.
- Bauman, D.E., Griinari, J.M., 2001. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. *Livestock Production Science* 70, 15-29.
- Benavides, J., Martínez-Valladares, M., Tejido, M.L., Giráldez, F.J., Bodas, R., Prieto, N., Pérez, V., Andrés, S., 2013. Quercetin and flaxseed included in the diet of fattening lambs: Effects on immune response, stress during road transport and ruminal acidosis. *Livestock Science* 158, 84-90.
- Bessa, R.J.B., Portugal, P.V., Mendes, I.A., Santos-Silva, J., 2005. Effect of lipid supplementation on growth performance, carcass and meat quality and fatty acid composition of intramuscular lipids of lambs fed dehydrated lucerne or concentrate. *Livestock Production Science* 96, 185-194.
- Bhatt, R.S., Soren, N.M., Tripathi, M.K., Karim, S.A., 2011. Effects of different levels of coconut oil supplementation on performance, digestibility, rumen fermentation and carcass traits of Malpura lambs. *Animal Feed Science and Technology* 164, 29-37.
- Blaxter, K., 1989. Energy metabolism in animals and man. *Energy metabolism in animals and man.*, i-xiii, 1-336.

- Bodas, R., 2004. El bicarbonato sódico en la alimentación de corderos en la etapa de crecimiento-cebo y de ovejas en lactación. Tesis Doctoral, Universidad de León.
- Bodas, R., Giráldez, F.J., López, S., Rodríguez, A.B., Mantecón, A.R., 2007. Inclusion of sugar beet pulp in cereal-based diets for fattening lambs. *Small Ruminant Research* 71, 250-254.
- Broderick, G.A., 2003. Effects of varying dietary protein and energy levels on the production of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 86, 1370-1381.
- Carrasco, S., Ripoll, G., Sanz, A., Álvarez-Rodríguez, J., Panea, B., Revilla, R., Joy, M., 2009. Effect of feeding system on growth and carcass characteristics of Churra Tensina light lambs. *Livestock Science* 121, 56-63.
- Carvalho, S., Pires, C.C., Macari, S., Lopes, J.F., Moro, A.B., Venturini, R.S., Lins, A., Teixeira, R.S., 2014. Características produtivas de cordeiros terminados em confinamento com dietas contendo diferentes teores de borra de soja. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 66, 259-267.
- Castrillo, C., 1979. Variaciones en la composición corporal de los corderos churros en relación con el peso, el sexo y el contenido graso de la dieta. Tesis Doctoral. Universidad de Oviedo.
- Castro, T., Manso, T., Mantecón, A.R., Guirao, J., Jimeno, V., 2005. Fatty acid composition and carcass characteristics of growing lambs fed diets containing palm oil supplements. *Meat Science* 69, 757-764.
- Cate, H.A., Lewis, J.M., Webb, R.J., Mansfield, M.E., Garrigus, U.S., 1955. The effect of pelleting rations of varied quality on feed utilization by lambs. *Journal of Animal Science* 14, 137-142.
- Cheng, K.J., McAllister, T.A., Popp, J.D., Hristov, A.N., Mir, Z., Shin, H.T., 1998. A review of bloat in feedlot cattle. *Journal of Animal Science* 76, 299-308.
- Colucci, P.E., Macleod, G.K., Grovum, W.L., McMillan, I., Barney, D.J., 1990. Digesta kinetics in sheep and cattle fed diets with different forage to concentrate ratios at high and low intakes. *Journal of Dairy Science* 73, 2143-2156.
- Doane, P.H., Schofield, P., Pell, A.N., 1997. Neutral detergent fiber disappearance and gas and volatile fatty acid production during the in vitro fermentation of six forages. *Journal of Animal Science* 75, 3342-3352.
- Doreau, M., Chilliard, Y., 1997. Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. *British Journal of Nutrition* 78, S15-S35.
- Dumont, M.-J., Narine, S.S., 2007. Soapstock and deodorizer distillates from North American vegetable oils: Review on their characterization, extraction and utilization. *Food Research International* 40, 957-974.
- Elliot, J.M., Symonds, H.W., Pike, B., 1985. Effect on feed-intake of infusing sodium propionate or sodium-acetate into a mesenteric vein of cattle. *Journal of Dairy Science* 68, 1165-1170.
- Elmore, J.S., Cooper, S.L., Enser, M., Mottram, D.S., Sinclair, L.A., Wilkinson, R.G., Wood, J.D., 2005. Dietary manipulation of fatty acid composition in lamb meat and its effect on the volatile aroma compounds of grilled lamb. *Meat Science* 69, 233-242.
- Erfle, J.D., Boila, R.J., Teather, R.M., Mahadevan, S., Sauer, F.D., 1982. Effect of pH on fermentation characteristics and protein-degradation by rumen microorganisms *in vitro*. *Journal of Dairy Science* 65, 1457-1464.
- Fattat, I., Hovell, F.D.D., Orskov, E.R., Kyle, D.J., Pennie, K., Smart, R.I., 1984. Undernutrition in sheep - the effect of supplementation with protein on protein accretion. *British Journal of Nutrition* 52, 561-574.

- Fisher, D.S., Burns, J.C., Pond, K.R., 1987. Modeling ad-libitum dry-matter intake by ruminants as regulated by distension and chemostatic feedbacks. *Journal of Theoretical Biology* 126, 407-418.
- Giráldez, F.J., Valdés, C., Peláez, R., Frutos, P., Mantecón, A.R., 1997. The influence of digestible organic matter and nitrogen intake on faecal and urinary nitrogen losses in sheep. *Livestock Production Science* 51, 183-190.
- Gozho, G.N., Plaizier, J.C., Krause, D.O., Kennedy, A.D., Wittenberg, K.M., 2005. Subacute ruminal acidosis induces ruminal lipopolysaccharide endotoxin release and triggers an inflammatory response. *Journal of Dairy Science* 88, 1399-1403.
- Haddad, S.G., Younis, H.M., 2004. The effect of adding ruminally protected fat in fattening diets on nutrient intake, digestibility and growth performance of Awassi lambs. *Animal Feed Science and Technology* 113, 61-69.
- Hernández, J., Benedito, J.L., Abuelo, A., Castillo, C., 2014. Ruminal acidosis in feedlot: from aetiology to prevention. *The Scientific World Journal*, 2014, Article ID 702572.
- Huber, T.L., 1976. Physiological effects of acidosis on feedlot cattle. *Journal of Animal Science* 43, 902-909.
- Huntington, G., Richards, C., Harmon, D., 2005. Sites, rates, and limits of starch digestion and glucose metabolism in growing cattle. *Journal of Animal Science* 83, 72-72.
- International Programme on Chemical, S., 1996. Toxicological evaluation of certain food additives and contaminants in foods. *WHO Food Additives Series*, 465, 465.
- Jenkins, T.C., 1993. Lipid metabolism in the rumen. *Journal of Dairy Science* 76, 3851-3863.
- Johnson, K.A., Johnson, D.E., 1995. Methane Emissions from Cattle. *Journal of Animal Science* 73, 2483-2492.
- Khafipour, E., Krause, D.O., Plaizier, J.C., 2009. A grain-based subacute ruminal acidosis challenge causes translocation of lipopolysaccharide and triggers inflammation. *Journal of Dairy Science* 92, 1060-1070.
- Kitessa, S.M., Williams, A., Gulati, S., Boghossian, V., Reynolds, J., Pearce, K.L., 2009. Influence of duration of supplementation with ruminally protected linseed oil on the fatty acid composition of feedlot lambs. *Animal Feed Science and Technology* 151, 228-239.
- Kleen, J.L., Hooijer, G.A., Rehage, J., Noordhuizen, J., 2003. Subacute ruminal acidosis (SARA): a review. *Journal of Veterinary Medicine Series* 50, 406-414.
- Knapp, J.R., Laur, G.L., Vadas, P.A., Weiss, W.P., Tricarico, J.M., 2014. Invited review: Enteric methane in dairy cattle production: Quantifying the opportunities and impact of reducing emissions. *Journal of Dairy Science* 97, 3231-3261.
- Koster, H.H., Cochran, R.C., Titgemeyer, E.C., Vanzant, E.S., Abdelgadir, I., StJean, G., 1996. Effect of increasing degradable intake protein on intake and digestion of low-quality, tallgrass-prairie forage by beef cows. *Journal of Animal Science* 74, 2473-2481.
- Kumar, S., Choudhury, P.K., Dolores Carro, M., Griffith, G.W., Dagar, S.S., Puniya, M., Calabro, S., Ravella, S.R., Dhewa, T., Upadhyay, R.C., Sirohi, S.K., Kundu, S.S., Wanapat, M., Puniya, A.K., 2014. New aspects and strategies for methane mitigation from ruminants. *Applied Microbiology and Biotechnology* 98, 31-44.
- Kyriazakis, I., Oldham, J.D., 1997. Food intake and diet selection in sheep: The effect of manipulating the rates of digestion of carbohydrates and protein of the foods offered as a choice. *British Journal of Nutrition* 77, 243-254.
- Lawlor, M.J., Crowley, J.P., 1971. Pelleted roughage-concentrate diets in indoor fattening of early weaned lambs. *Irish Journal of Agricultural Research* 10, 31-40.

- Lough, D.S., Solomon, M.B., Rumsey, T.S., Kahl, S., Slyter, L.L., 1993. Effects of high-forage diets with added palm oil on performance, plasma-lipids, and carcass characteristics of ram and ewe lambs. *Journal of Animal Science* 71, 1171-1176.
- Machmüller, A., Ossowski, D.A., Kreuzer, M., 1998. Methane reduction and energy turnover in lambs receiving different dietary fat supplements. *Energy Metabolism of Farm Animals*, 127-130.
- Machmüller, A., Ossowski, D.A., Kreuzer, M., 2000. Comparative evaluation of the effects of coconut oil, oilseeds and crystalline fat on methane release, digestion and energy balance in lambs. *Animal Feed Science and Technology* 85, 41-60.
- Machmüller, A., 2006. Medium-chain fatty acids and their potential to reduce methanogenesis in domestic ruminants. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 112, 107-114.
- Manso, T., Bodas, R., Castro, T., Jimeno, V., Mantecón, A.R., 2009. Animal performance and fatty acid composition of lambs fed with different vegetable oils. *Meat Science* 83, 511-516.
- Manso, T., Castro, T., Mantecón, A.R., Jimeno, V., 2006. Effects of palm oil and calcium soaps of palm oil fatty acids in fattening diets on digestibility, performance and chemical body composition of lambs. *Animal Feed Science and Technology* 127, 175-186.
- Manso, T., Mantecón, A.R., Giráldez, F.J., 1998. Animal performance and chemical body composition of lambs fed diets with different protein supplements. *Small Ruminant Research* 29, 185-191.
- Martin, C., Morgavi, D.P., Doreau, M., 2010. Methane mitigation in ruminants: from microbe to the farm scale. *Animal* 4, 351-365.
- Martin, C., Rouel, J., Jouany, J.P., Doreau, M., Chilliard, Y., 2008. Methane output and diet digestibility in response to feeding dairy cows crude linseed, extruded linseed, or linseed oil. *Journal of Animal Science* 86, 2642-2650.
- McAllister, T.A., Okine, E.K., Mathison, G.W., Cheng, K.J., 1996. Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. *Canadian Journal of Animal Science* 76, 231-243.
- Mohammed, R., Stevenson, D.M., Weimer, P.J., Penner, G.B., Beauchemin, K.A., 2012. Individual animal variability in ruminal bacterial communities and ruminal acidosis in primiparous Holstein cows during the periparturient period. *Journal of Dairy Science* 95, 6716-6730.
- Moharrery, A., Larsen, M., Weisbjerg, M.R., 2014. Starch digestion in the rumen, small intestine, and hind gut of dairy cows - A meta-analysis. *Animal Feed Science and Technology* 192, 1-14.
- Moss, A.R., Jouany, J.P., Newbold, J., 2000. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. *Annales de Zootechnie* 49, 231-253.
- Nagaraja, T.G., Lechtenberg, K.F., 2007. Acidosis in feedlot cattle. *Veterinary Clinics of North America-Food Animal Practice* 23, 333-340.
- Nikolov, Y., 2003. Biochemical alterations in rumen liquor, blood cerebrospinal fluid and urine in experimental acute ruminal lactic acidosis in sheep. *Indian Veterinary Journal* 80.
- Nute, G.R., Richardson, R.I., Wood, J.D., Hughes, S.I., Wilkinson, R.G., Cooper, S.L., Sinclair, L.A., 2007. Effect of dietary oil source on the flavour and the colour and lipid stability of lamb meat. *Meat Science* 77, 547-555.
- Oetzel, G.R., 2003. Subacute ruminal acidosis in dairy cattle. *Advances in Dairy Technology* 15, 307-317.

- Ortuño, J., Serrano, R., Bañón, S., 2016. Use of dietary rosemary diterpenes to inhibit rancid volatiles in lamb meat packed under protective atmosphere. *Animal* 10, 1391-1401.
- Owens, F.N., Secrist, D.S., Hill, W.J., Gill, D.R., 1998. Acidosis in cattle: a review. *Journal of Animal Science* 76, 275-286.
- Palmquist, D.L., Conrad, H.R., 1978. High fat rations for dairy cows. Effects on feed intake, milk and fat production, and plasma metabolites. *Journal of Dairy Science* 61, 890-901.
- Pantoja, J., Firkins, J.L., Eastridge, M.L., Hull, B.L., 1994. Effects of Fat Saturation and Source of Fiber on Site of Nutrient Digestion and Milk Production by Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science* 77, 2341-2356.
- Plaizier, J.C., Khafipour, E., Li, S., Gozho, G.N., Krause, D.O., 2012. Subacute ruminal acidosis (SARA), endotoxins and health consequences. *Animal Feed Science and Technology* 172, 9-21.
- Pérez-Lanzac, J., Bendicho, J., Castro, P., 1987. Tecnología de los piensos para corderos. I. Crecimientos y composición corporal de la canal de corderos alimentados con piensos granulados de distinto contenido en fibra. Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca. Comunicación Agraria, Serie Producción Animal.
- Rotz, C.A., 2004. Management to reduce nitrogen losses in animal production. *Journal of Animal Science* 82 E-Suppl, E119-137.
- Russell, J.B., 1998. The importance of pH in the regulation of ruminal acetate to propionate ratio and methane production in vitro. *Journal of Dairy Science* 81, 3222-3230.
- Santos-Silva, J., Mendes, I.A., Portugal, P.V., Bessa, R.J.B., 2004. Effect of particle size and soybean oil supplementation on growth performance, carcass and meat quality and fatty acid composition of intramuscular lipids of lambs. *Livestock Production Science* 90, 79-88.
- Shaver, R.D., Nytes, A.J., Satter, L.D., Jorgensen, N.A., 1986. Influence of amount of feed-intake and forage physical form on digestion and passage of prebloom alfalfa hay in dairy-cows. *Journal of Dairy Science* 69, 1545-1559.
- Shingfield, K.J., Ahvenjarvi, S., Toivonen, V., Vanhatalo, A., Huhtanen, P., Griinari, J.M., 2008. Effect of incremental levels of sunflower-seed oil in the diet on ruminal lipid metabolism in lactating cows. *British Journal of Nutrition* 99, 971-983.
- Sivadier, G., Ratel, J., Engel, E., 2010. Persistence of pasture feeding volatile biomarkers in lamb fats. *Food Chemistry* 118, 418-425.
- Spanghero, M., Zanfi, C., Fabbro, E., Scicutella, N., Camellini, C., 2008. Effects of a blend of essential oils on some end products of *in vitro* rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology* 145, 364-374.
- St-Pierre, N.R., Thraen, C.S., 1999. Animal grouping strategies, sources of variation, and economic factors affecting nutrient balance on dairy farms. *Journal of Animal Science* 77, 72-83.
- Teixeira, A., Delfa, R., Colomerocher, F., 1989. Relationships between fat depots and body condition score or tail fatness in the rasa aragonesa breed. *Animal Production* 49, 275-280.
- Towne, G., Nagaraja, T.G., Brandt, R.T., Kemp, K.E., 1990. Ruminal ciliated protozoa in cattle fed finishing diets with or without supplemental fat. *Journal of Animal Science* 68, 2150-2155.
- Tripathi, M.K., Chaturvedi, O.H., Karim, S.A., Singh, V.K., Sisodiya, S.L., 2007. Effect of different levels of concentrate allowances on rumen fluid pH, nutrient

- digestion, nitrogen retention and growth performance of weaner lambs. *Small Ruminant Research* 72, 178-186.
- Ulbricht, T.L.V., Southgate, D.A.T., 1991. Coronary heart disease: seven dietary factors. *The Lancet* 338, 985-992.
- Van Soest, P.J., 1994. *Nutritional ecology of the ruminant*. Cornell University Press.
- Varga, G.A., Harpster, H.W., Oklahoma State, U., 1995. Gut size and rate of passage. Symposium: Intake by Feedlot Cattle, 85-96.
- Vasta, V., Jeronimo, E., Brogna, D.M.R., Dentinho, M.T.P., Biondi, L., Santos-Silva, J., Priolo, A., Bessa, R.J.B., 2010. The effect of grape seed extract or *Cistus ladanifer* L. on muscle volatile compounds of lambs fed dehydrated lucerne supplemented with oil. *Food Chemistry* 119, 1339-1345.
- Vasta, V., Nudda, A., Cannas, A., Lanza, M., Priolo, A., 2008. Alternative feed resources and their effects on the quality of meat and milk from small ruminant. *Animal Feed Science and Technology* 147, 223-246.
- Wood, J.D., Enser, M., Fisher, A.V., Nute, G.R., Sheard, P.R., Richardson, R.I., Hughes, S.I., Whittington, F.M., 2008. Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Science* 78, 343-358.
- Woodman, H.E., Evans, R.E., 1947. The nutritive value of fodder cellulose from wheat straw .1. Its digestibility and feeding value when fed to ruminants and pigs. *Journal of Agricultural Science* 37, 202-210.
- Zervas, G., Tsiplakou, E., 2011. The effect of feeding systems on the characteristics of products from small ruminants. *Small Ruminant Research* 101, 140-149.

Conclusiones

Primera

El empleo de raciones completas granuladas, con proporciones de paja de cebada del 5, 15 o 25 %, en corderos de cebo y en la etapa comprendida entre los 14 y los 27 kg de peso, permite producir canales y carne de características similares a las que se obtienen en corderos criados con el sistema tradicional de alimentación (basado en el suministro a voluntad y de forma separada de paja de cereal y de pienso compuesto). Aunque la proporción de paja utilizada no afecta al índice de conversión, con proporciones iguales o superiores al 15 % se incrementa la ingestión y la ganancia diaria de peso respecto al sistema tradicional, reduciendo el tiempo necesario para alcanzar el peso al sacrificio.

Segunda

En las condiciones del presente estudio, los parámetros indicativos de acidosis ruminal ponen de manifiesto que los animales cebados con el sistema tradicional de alimentación sufren esta patología y que esta situación no mejora cuando se utilizan raciones completas con proporciones del 5, 15 o 25 % de paja de cereal.

Tercera

La producción *in vitro* de metano por gramo de materia seca incubada de raciones completas con un 5, 15 o 25 % de paja disminuye al aumentar la proporción de paja. Cuando se extrapolan los datos de *in vitro* a *in vivo*, la producción estimada de metano por animal, en el periodo de cebo comprendido entre los 14 y los 27 kg, no varía con la proporción de paja y los valores son similares a los estimados para los corderos cebados con el sistema tradicional de cebo. La eliminación de nitrógeno en heces, en el total del periodo de cebo, es mayor en los animales que consumen la dieta con el mayor contenido en paja (25 %), que en los otros dos grupos (5 y 15 %), cuyos valores son menores que los de animales cebados con el sistema tradicional.

Cuarta

La inclusión de un 3 o 6 % de oleínas de palma, oliva, soja o girasol en raciones completas con un 5, 15 o 25 % de paja, reduce la producción de gas *in vitro*, así como la producción de metano por gramo de materia seca incubada. Las oleínas de soja y girasol reducen, además, la proporción de metano en el gas producido, por lo que pueden considerarse como alternativas prometedoras a los aceites de los que se obtienen para reducir la metanogénesis ruminal.

Quinta

La inclusión de oleína de girasol en proporciones del 1,5; 3 y 6 % en raciones completas para el cebo de corderos, en la etapa comprendida entre los 14 y los 27 kg de peso, no reduce la acidosis ruminal ni afecta a la ingestión de materia seca ni a la ganancia diaria de peso, pero sí influye en la digestibilidad de la fibra neutro detergente, que disminuye con la proporción más alta de oleína.

Sexta

La inclusión de un 6 % de oleína de girasol en la dieta de corderos, en la etapa de cebo, reduce el peso de la canal fría, sin afectar al resto de características de la canal. La inclusión de oleína de girasol (1,5; 3 o 6 % de la ración) reduce el porcentaje de ácidos grasos saturados y los índices de saturación y aterogenicidad de la grasa intramuscular. Sin embargo, el contenido de ácidos grasos *trans* monoinsaturados y de compuestos bencénicos, potencialmente perjudiciales para la salud de los consumidores, se incrementa al aumentar el porcentaje de oleína. Considerando los efectos beneficiosos y perjudiciales sobre la composición de la carne, la adición de oleína de girasol a la dieta de corderos en cebo debería limitarse a un máximo de 15 g de oleína de girasol/kg de ración.

Conclusions

First

The use of pelleted total mixed rations, including 5, 15 or 25 % of barley straw, for light fattening lambs between 14 and 27 kg of live weight, allows for the production of carcasses and meat with similar characteristics to those obtained from lambs raised under the traditional feeding system (based on the separate supply of cereal straw and concentrate). Although the proportion of straw used does not affect feed to gain ratio, proportions of this ingredient equal or greater than 15 % increase intake and average daily gain compared to the traditional system, thus reducing the time required to attain the slaughter weight.

Second

Under the conditions of the present study, the parameters indicative of ruminal acidosis reveal that animals fed on the traditional feeding system suffer from this pathology and that this situation does not improve when pelleted total mixed rations including proportions of 5, 15 or 25 % of cereal straw are used.

Third

When using total mixed rations including 5, 15 or 25 % of straw, *in vitro* methane production per gram of incubated dry matter decreases as the straw proportion increases. When *in vitro* data are extrapolated to *in vivo*, estimated methane production per animal in the fattening period between 14 and 27 kg live weight does not vary with the proportion of straw, the average values being similar to those estimated for lambs reared under the traditional fattening system. The excretion of N in faeces in the whole fattening period is higher in animals receiving the highest straw content (25%) than in the other two groups (5 and 15 %), whose values are lower than animals raised under the traditional system.

Fourth

The inclusion of 3 or 6 % of palm, olive, soybean or sunflower soapstocks in total mixed rations containing 5, 15 or 25 % straw reduces *in vitro* gas production as well as methane production per gram of incubated dry matter. Soybean and sunflower soapstocks also reduce methane proportion in the gas produced, so they can be considered as promising alternatives to the oils which they come from to reduce ruminal methanogenesis.

Fifth

The inclusion of sunflower soapstocks in proportions of 1.5, 3 and 6 % in total mixed rations for fattening lambs between 14 and 27 kg of live weight neither reduces rumen acidosis nor affects dry matter intake and daily weight gain, but it influences neutral detergent fibre digestibility, which decreases with the higher proportion of soapstocks.

Sixth

The inclusion of 6 % of sunflower soapstocks in the diet of fattening lambs reduces cold carcass weight, without affecting the rest of carcass characteristics. The inclusion of sunflower soapstocks (1.5, 3 or 6 % of the ration) reduces the percentage of saturated fatty acids and the saturation and atherogenic indexes of intramuscular fat. However, the content of monounsaturated *trans* fatty acids and benzene compounds, potentially harmful to consumers' health, are increased with soapstock inclusion. Considering beneficial and detrimental effects on meat composition, the addition of sunflower soapstocks to the diet of fattening lambs should be limited to a maximum of 15 g of sunflower soapstock/kg of ration.