



TESIS DOCTORAL

*Estudio de la Calidad de
Carnes y Productos Cárnicos
Procedentes de Hembras
Porcinas Ibéricas Enteras,
Inmunocastradas y Castradas
Quirúrgicamente*

Rafael Gamero Negrón

Departamento de Producción Animal
y Ciencia de los Alimentos

2015



TESIS DOCTORAL

TÍTULO: Estudio de la calidad de carnes y productos cárnicos procedentes de hembras porcinas ibéricas enteras, inmunocastradas y castradas quirúrgicamente

AUTOR: D. Rafael Gamero Negrón

DEPARTAMENTO DE DEFENSA: Producción Animal y Ciencia de los Alimentos (área de Tecnología de Alimentos)

CONFORMIDAD DE LOS DIRECTORES:

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Carmen García González".

Fdo: Carmen García González

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "José Sánchez del Pulgar Rico".

Fdo: José Sánchez del Pulgar Rico

AÑO DE LECTURA: 2015



DEPARTAMENTO

**PRODUCCIÓN ANIMAL Y
CIENCIA DE LOS ALIMENTOS**

Tecnología de los Alimentos

Carmen García González, Profesora Titular del Área de Tecnología de Alimentos de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Extremadura,

INFORMA:

Que la Tesis Doctoral titulada **“Estudio de la calidad de carnes y productos cárnicos procedentes de hembras porcinas ibéricas enteras, inmunocastradas y castradas quirúrgicamente”** de la que es autor el Licenciado en Veterinaria D. Rafael Gamero Negrón, ha sido realizada en el Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos (área de Tecnología de Alimentos) bajo mi dirección y cumple las condiciones exigidas para optar al grado de Doctor.

Para que así conste, lo firmo autorizando su presentación

Cáceres, 5 de noviembre de 2015

Carmen García González



José Sánchez del Pulgar Rico, investigador del Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria, area 1. Scieza degli Alimenti (Roma),

INFORMA:

Que la Tesis Doctoral titulada **“Estudio de la calidad de carnes y productos cárnicos procedentes de hembras porcinas ibéricas enteras, inmunocastradas y castradas quirúrgicamente”** de la que es autor el Licenciado en Veterinaria D. Rafael Gamero Negrón, ha sido realizada en el Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos (área de Tecnología de Alimentos) de la Universidad de Extremadura bajo mi dirección y cumple las condiciones exigidas para optar al grado de Doctor.

Para que así conste, lo firmo autorizando su presentación

Roma, 24 de julio de 2015

José Sánchez del Pulgar Rico

Esta tesis doctoral ha sido posible gracias a la financiación del **Gobierno de Extremadura y del Fondo Social Europeo**, mediante una beca de formación predoctoral de personal investigador (PRI).



*Questo misero modo
Tengon l'anime triste di coloro,
Che visser senza infamia e senza lodo.
Mischiate sono a quel cattivo coro
Degli angeli, che non furon ribelli,
Nè fur fideli a Dio, ma per sè foro.*

Dante Alighieri

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas e instituciones públicas y privadas que han hecho posible, de una manera u otra, la realización de esta tesis doctoral...

A la Dra. Carmen García González (directora de tesis), por su constante apoyo profesional y personal en el desarrollo de este proyecto. Ha sido para mí un honor participar de sus enseñanzas, agradeciendo su dirección, paciencia, comprensión, absoluta confianza, y por la gran libertad y responsabilidad depositada en mí desde el inicio de este proyecto.

Gracias Carmen por sacar tiempo de debajo de las piedras y por tus sabios consejos tanto para la realización de esta tesis doctoral como en mi vida personal. Gracias sobre todo por tu honestidad, respeto y amistad, eres una magnífica profesional pero mejor persona.

Al Dr. José Sánchez del Pulgar Rico (co-director de tesis), por su impecable dirección y coordinación, inagotable paciencia, equilibrio y mesura, incondicional apoyo y confianza tanto profesional como personalmente para llevar a cabo con éxito este proyecto.

Gracias José ha sido para mí un placer y un privilegio ser partícipe de tus múltiples enseñanzas, conversaciones, tertulias, y reuniones sin horarios ni límites, amenizadas con nostálgicas discusiones acaloradas (jamás fue fácil desarrollar *true science*). Gracias por esos tres mágicos meses de estancia en Faedo (San Michele, Trento), que de un modo u otro me cambiaron la vida, desde las alturas alpinas todo se ve más claro y con mayor perspectiva óptica. Gracias por coger a tiempo el timón y ser mi mapa de rutas para llevar a buen puerto nuestro barco de sueños (*Quando se navega sem destino nenhum vento é favorável*). Gracias por ser el *druida de la noche sin luna* compartiendo la “humilde grandeza de nuestra pequeñez” (ser diminuto polvo de una supernova es absolutamente mágico, incluso en la Tierra). Me atrevería a decir que me llevo a un hombre de ciencia y letras, y un gran amigo.

A Segundo Píriz Durán, Rector de la UEx, por sus inmejorables y sabios consejos en todos los aspectos de mi vida. Si se me permite, me gustaría destacar la calidad humana de Segundo Píriz Durán, todo un ejemplo a seguir para jóvenes estudiantes, cuya honestidad y bondad te preceden en todo momento, sin menoscabar tu profesionalidad y entrega absoluta al mundo del conocimiento, educación y el desarrollo científico. Gracias por tu amistad, comprensión absoluta, paciencia y tu apoyo incondicional en todos estos largos años. Gracias por confiar en mis aptitudes profesionales y científicas, por creer en mí en todo momento y devolverme la ilusión y fuerza para seguir investigando, aprendiendo y creyendo en mí, en definitiva. Gracias por ponerme en contacto y darme la oportunidad de formar parte del grupo de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, de la Facultad de Veterinaria (UEx), a través de la figura de Carmen García González, para llevar a cabo este proyecto de investigación.

Al Dr. Jesús Ventanas Barroso, por la increíble confianza depositada en mí, desde el inicio, y darme la oportunidad de formar parte de este proyecto de investigación tan novedoso e interesante para el mundo de la veterinaria y del desarrollo tecnológico y

alimentario. Gracias por tu implicación, coordinación, dirección, magníficas ideas y visión de futuro, por ayudarme y darme libertad en todo momento para la realización de este proyecto.

A la antigua empresa Pfizer Animal Health, por la financiación y su colaboración para la realización de este proyecto. Especialmente a **Jesús Maes**, gracias por la dirección, coordinación y buenos consejos desde el inicio de este proyecto, y por su inestimable ayuda en las matanzas y toma de muestras.

A la actual empresa Zoetis, por la financiación, por colaborar para que este proyecto saliera adelante y por su ayuda en la difusión de los resultados obtenidos, de gran importancia desde el punto de vista de bienestar animal en el mundo de la veterinaria y producción animal. Especialmente a la figura de **Alfredo Romero Rodríguez**, Marketing Manager en Zoetis, por su cooperación, amabilidad y por la cesión de todo tipo de información requerida para llevar a cabo este trabajo; y **Alberto Álvarez de Benito**, Improvac Sales Director Southern EuAfME (Swine Business), por la colaboración y el apoyo mostrado en todo momento para la consecución de este proyecto.

Al “Centro de Prueba de Porcino del Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León”, ITACYL (Hontalbilla, Segovia), por su gran trabajo y colaboración para llevar a cabo este proyecto. Especialmente al **Dr. José Gómez Fernández** y **Dr. Emilio Gómez Izquierdo**, por su ayuda en la toma de muestras en matadero, su disposición, y buenos consejos para la realización de esta tesis doctoral.

A mis compañeros de las unidades de Tecnología e Higiene de los Alimentos de la Facultad de Veterinaria, profesores, técnicos y becarios con los que he convivido y trabajado estos años, porque de alguna manera han formado parte de mi trabajo, colaborando en las numerosas catas realizadas o proporcionándome la ayuda necesaria cuando precisaba. Gracias a: Sonia, David, Trini, Fernando, Mónica, Josué, Marisol, Rubén, Estefy, Lourdes, Arancha, Laura, Librada, y Philip. Especialmente agradecido a: **Anita**, sin ti esta tesis doctoral jamás hubiese salido adelante. Gracias por tu trabajo y dedicación, y sobre todo por tu gran cariño, paciencia, comprensión y amistad, tanto en el *lab* como en las canchas de tenis. Gracias por nuestras risas y lágrimas, eternamente agradecido *pequeña Kournikova*; **Mar**, gracias por toda la ayuda, comprensión, apoyo y nuestras largas conversaciones de *sevillanas maneras*. Eres una persona con un corazón enorme, gracias por compartir tu tiempo conmigo (*ají jí...*); **Adri**, gracias por tu alegría y sonrisa diaria en el departamento, por tu incondicional apoyo y ayuda, por tu increíble compañerismo (*sth weird currently*), y más aún por tu amistad y cariño; **Mariví** (Vicky), gracias por tu buen humor, equilibrio, tranquilidad, serenidad, cariño y amistad; **Alicia** y **Dani**, gracias por nuestras interminables conversaciones y desahogos. Me hubiera gustado pasar más tiempo con vosotros, pero la investigación y el mundo os esperaban; **Luis Ladero**, gracias por tu ayuda y disposición en todo momento para cualquier problema laboratorial, por tu magistral instalación del dichoso programa de volátiles (*you saved me, dude*) y por nuestras charlas interminables; **Jorge Tovar**, gracias por tu ayuda con los índices de Kovats y nuestras conversaciones del sector ganadero y cárnico español; **Raquel**, gracias por todas tu explicaciones y ayudas laboratoriales, y sobre todo con los volátiles de las paletas; e **Inma**, gracias por tu ayuda en todo lo referente al laboratorio, y por el cariño y la amabilidad que me has demostrado siempre.

*Esta fábula sirva de advertencia
a los que tienen puesto el pensamiento
en la suprema soberana esencia;
porque quien, sin hacer a lo violento
de sus pasiones firme resistencia,
vuelve los ojos a otro indigno asiento,
pierde el gozar de lo que más desea,
mientras en lo inferior la vista emplea.*

Boecio, *El consuelo de la filosofía*

A tutti i colleghi dell'Istituto Agrario di San Michele all'Adige (Trento, Italia), principalmente a mi director en funciones el **Dr. Franco Biasioli**, un fenómeno de la física y la estadística, gracias por la dirección, confianza, amabilidad y el apoyo recibido para realizar mis estancias. Especialmente gracias a: **Alberto Algarra Alarcón**, *the best monologist from Socuéllamos that I have ever seen*, mi pequeño-gran *vitello*; **Hugo Campbell Sills**, extraordinario genetista y bioquímico, erudito y defensor a ultranza de lenguas indígenas chilenas “quechua”; y **Brian Farneti**, eres una mala bestia tanto en el mundo científico como en el *calcio*, *tu sei molto bravo, capitano* ...científicos de otros mundos, pero corazones terrenales e inmensos, gracias chicos por hacer mi estancia tan mágica e irreplicable en Trento, nunca os olvidaré. También agradecer al resto de *my science team* todo el tiempo perdido en mi causa: Luca, Julia, Siné, Valentina, Xianghui, Elisa, Luisa, Flavia, Eugenio, Salim, Mateo, Matilde, Andrea... y muchos más.

Turning over rocks and finding nothing is progress.

I Origins

Y a mis antiguos compañeros de la empresa NUTER FEED S.A.U., por apoyarme en mi nueva etapa: Jorge Pérez, José Antonio Cobo, Marcial, Bruno, Raquel, Alex, Luis. Especialmente a: **Mariano Gómez Albarrán**, por darme mi primera oportunidad profesional, por tu honestidad, respeto, confianza y magníficos consejos comerciales y personales, y por facilitarme la salida para la realización de esta tesis. Gracias por tu comprensión y apoyo para perseguir nuevos objetivos que me ayudasen a crecer profesional y personalmente; y **Diego Martínez del Olmo**, todo un ejemplo a seguir en el mundo científico y dirección comercial. Gracias por haber apostado por mí para futuros proyectos, por alentarme y apoyarme en mi crecimiento profesional y personal, y por nuestras últimas charlas acerca del mundo de la investigación, la empresa privada y la vida, que de una manera u otra cambiaron algo dentro de mi cabeza.

A mi familia, amigos y compañeros de batalla...

En primer lugar quería dar las gracias a una de las personas más increíbles que he conocido en mi vida, **mi bisabuela Jacinta Salustia Almeida Rodríguez**, de tan sólo 96 añitos de edad, cualquier persona que llega a esa edad debe ser admirada. Vivir tantos años es un acto de valentía. Eres un eslabón perdido en la extraña carrera de la evolución, si Darwin anduviera por aquí lo tendrías igual de desconcertado que a todos nosotros, tanto desde el punto de vista físico como mental, gracias por ser nuestro astrolabio y guiarnos entre tempestades.

Como tú bien sabes, las novelas están repletas de relatos de héroes que tienen habilidades extraordinarias y realizan actos inimaginables para salvar el mundo. Me gustaría hacer una mención especial a los *héroes terrenales* de carne y hueso, aquellos que sienten dolor, miedo, terribles inseguridades. A aquellos héroes que escriben sus historias en páginas bien distintas y que forman parte del libro más maravilloso y excepcional jamás escrito, "LA VIDA." Tan sólo decirte que tú eres la **HEROÍNA NONAGENARIA** más increíble que hemos conocido, sobran palabras para describirte porque tus innumerables hazañas están escritas con letras de fuego en nuestros corazones, perdurando en la eternidad. No olvides que todos los que hoy te acompañamos no es fruto de la casualidad, es fruto de una vida dedicada a todos y cada uno de nosotros. Gracias por tus 96 añitos entregados a la noble, ardua y mal remunerada causa de *la familia*.

A mi querida abuela Mariana del Rosario Chávez Almeida, me gustaría darte las gracias por una vida dedicada a nosotros, eres la persona con el mejor humor y carácter que he conocido nunca. Como te he dicho siempre has sido la mejor profesora (*maestría nacional*, como a ti te gusta llamarlo) que he tenido en mi vida, gracias por darnos una educación ejemplar en todos los aspectos. Gracias por enseñarnos que dicha educación no puede, ni debe ser sinónimo de conocimiento, siendo mucho más importante la educación ética y moral. Gracias por inculcarnos valores de vida, que hoy en día parecen estar en *peligro de extinción*, gracias por tantos años de esfuerzo, constancia e infinita paciencia intentando hacer de nosotros personas buenas, honestas y dispuestas a ayudar a los demás en todo momento, especialmente a aquellos más desfavorecidos o desprotegidos. Gracias por llevarle la contraria a Maquiavelo en nuestra educación, en eso de "El fin justifica los medios...", pues la época del "todo vale" debería quedar obsoleta en sociedades evolucionadas. No creo que el *Corderismo Ilustrado* tenga cabida en pleno siglo XXI como corriente socio-política, filosófica o, mucho menos aún, en el mundo científico... donde la rebeldía y el atrevimiento de contrariar o romper las normas de lo establecido es el único motor que ha llevado a la humanidad a evolucionar hacia la construcción de algo, si no mejor, por lo menos diferente... el inmovilismo sólo conduce a la decadencia... gracias *Lale*...

A mi querida madre María Esther Negrón Chávez, gracias por aguantarme, guiarme, orientarme y apoyarme de manera incondicional estos largos 32 años a mi lado (sé que no ha sido fácil nunca y mucho menos aún estos últimos añitos). Gracias por entender mi memoria emocional y potenciarla desde que era un *pequeño mocoso preguntón*, mis interminables e insaciables *porqués* pueden acabar con la infinita paciencia de cualquiera, pero no contigo ni con tu mágico mundo de hadas etéreas. Gracias por enseñarme a ser un niño y un adulto, un niño que imagina y cree en lo

imposible, y un adulto que encuentra las fuerzas necesarias para sacar esos sueños adelante.

El problema no es que sólo usemos el diez por ciento de nuestro cerebro, sino que no utilizamos ni el dos por ciento de las emociones de nuestro corazón.

Albert Espinosa, *El mundo azul: Ama tu caos*

Mamá eres una persona extrañamente diferente a todo lo que he conocido, por eso me ha gustado siempre compararte con los agujeros negros o *cazadores de luz universal*, que permiten curvar el espacio-tiempo creando una singularidad (lugar en el cual las leyes de la física clásica no tienen sentido, no existen leyes que nos hagan entender tu esencia), y envuelta por un horizonte de sucesos (zona limítrofe entre el resto del universo y tu propio universo). Estos *cazadores de luz universal* realizan el trabajo sucio y menos comprendido por el resto del universo, sin embargo rigen y buscan incasablemente el equilibrio de nuestras galaxias entrópicas en constante movimiento... Gracias por ser el *cazador de luz universal* de mi caótica galaxia, te estaré eternamente agradecido.

A mi querida hermana Esther, gracias por compartir tantos momentos desde *peques*, por intentar comprender todo, y ser mi gran apoyo y punto de equilibrio en todos los momentos difíciles y duros de nuestras ajetreadas vidas. Gracias por estar siempre a mi lado, gordita.

A mi querido hermano José Antonio, gracias por ser el mejor actor cómico de reparto en las últimas películas dramáticas de nuestras vidas. Gracias por imponerme la felicidad como forma de vida, eres una persona muy especial que brilla con luz propia... *eres una dorada dura de la caleta, que no se puede aguantá*. Gracias por tu bonita y eterna sonrisa, y estar siempre a mi lado.

A mi madrina María Isabel Chávez Almeida, sé que no ha sido nada fácil manejar y aguantar mis estados de ánimo estos últimos tiempos, pero por suerte todo llega a su fin, gracias por el cuidado, comprensión, apoyo y cariño durante toda mi vida.

A Eduardo Lauzurica Ortiz de Urbina, ha sido todo un placer para mí compartir contigo tantos buenos momentos durante muchos años, donde me has impartido lecciones magistrales del *maravilloso mundo de la economía y del mundo empresarial*, o por lo menos eso me has hecho creer con tu clarividencia de ideas de Deusto, sin embargo siento *amargamente* no poder decir lo mismo de tus *implausible speeches in the science world*. Gracias por tu honestidad, bondad, generosidad, apoyo, cariño, por tu disparidad de ideas y eternos debates de contrariedad, todo ello junto a tus buenos consejos me han hecho crecer y madurar como profesional y como persona. Gracias por tu gran amistad y por tu *surfer style marbellí*; y **Pablete Lauzurica**, por tu cariño, amabilidad, apoyo y por haberme hecho sentir como en mi propia casa el poco tiempo que he podido disfrutar contigo, gracias por tu sana amistad *Sr. Espina (or Mr. Bones, whatever you want, dude)*.

A mis tíos Ramona Chávez y Ramón Uhagón, por su incondicional ayuda, apoyo y cariño en todos los momentos de mi vida, gracias por estar siempre ahí para tender una mano amable.

A mi tía Esperanza Espada Guerrero, por su absoluta comprensión, honestidad, bondad, apoyo, cariño y amistad, gracias por nuestras largas charlas hasta altas horas de la mañana.

Y a Allyson Noëlle Craven, por tu infinita paciencia y cariño, por tu honestidad, bondad, serenidad y equilibrio, por intentar hacerme feliz todos y cada uno de los días desde que nos conocimos. Sé que estos tiempos han sido un poco convulsos; *not to spoil the ending, but everything is gonna be ok*.

Remember “Dream or Nightmare”:

HAPPINESS WITHOUT PAIN IS LIKE A RAINBOW WITHOUT RAIN.

Obrigado for your essential corrections of the English issues in all of the articles, you have been a “keyword” for shutting down this PhD. *Grazie mille* for being my shadow of light illuminating my path. Thank you for being *my cranky crab froooooommm Missouriiii*.

Some awesome friends...

A Alfonsito López Antequera, te estaré eternamente agradecido por cuidar de mí, apoyarme y protegerme desde que era niño. Amigos como tú son como los cometas, asombrosas bolas de energía que iluminan nuestro caminar por este mundo, pero fugaces como la vida misma. Estés donde estés sé que sigues cuidando de mí, de un modo u otro, se te echa mucho de menos por aquí abajo, gracias por ser el hermano mayor que nunca tuve; **Jaime Chávez Barajas** (*mi primo calambre*), una de las personas más especiales y diferentes que he conocido en mi vida, uno de mis primeros diamantes. Primo, eres una caja de sorpresas, nunca he visto a nadie expresar tantas emociones con silencios reflexivos y sensatos, me has enseñado que no hace falta viajar muy lejos para encontrar gente *free style* como tú. Gracias por estar siempre a mi lado y defender mi causa, gracias por ser el *abogado de las causas perdidas*; **Rosa María Parra Moreno**, te estaré siempre agradecido por todo lo que has representado y representas en mi vida, por tu paciencia, comprensión, cariño absoluto e inquebrantable amistad, gracias por tantos años a mi lado compartiendo sonrisas y lágrimas, y por tu apoyo incondicional en todos los aspectos de mi vida buscando en todo momento mi felicidad; **Jorge Martínez-Denegri Sánchez**, compañero de vida y sueños, el caprichoso *efecto mariposa* nos hizo coincidir en la *bat cueva* en Cáceres (our shrine of dreams, *qué jjjjartooo, nota*), gracias por convertir el tedio del diario en algo mágicamente irracional y divertido, eres uno de los diamantes de mi vida, gracias *culebrilla navarro-malacitana*; **Mirko Nairi**, por tu increíble corazón, peculiaridad y espontaneidad (olééé *il primo torero sardo del mondo*), gracias por tantos momentos de risas y filosofía *in everywhere*, entre ingentes cantidades de comida y un *po'* de vino, *grazie mille curina, tu sei il mio fratello italiano per sempre*; **Miguel Ángel Sánchez Galea**, posiblemente una de las personas más cariñosas, afectivas, emotivas y positivas que se han cruzado en mi camino, gracias por tu inagotable manantial de sonrisas y por tu intachable amistad; **Luis** (*Ramirevic hijo de la tormenta*) y **Miguel** (*mi pequeño diablo*) **Ramírez Parra**, compañeros de vida y mil batallas, gracias por la infinidad de sonrisas y carcajadas compartidas y por vuestra gran amistad, gracias por ser mis *hermanos romanos*; **José Manuel Méndez Boza** (*El Tiry*), un filósofo, bohemio-

cantautor, poeta y ganadero, *you are special*. Gracias por tu música, especialmente por tus letras, que me han acompañado durante tanto tiempo en lugares tan *variopintos*, haciéndome pensar, reflexionar e intentar entender la esencia de lo que nos rodea (*Con impaciencia vivimos para moldear, trozos de un mundo aminorado a nuestros ojos... con la solvencia de soñar...*). Gracias por tus conversaciones, consejos, cariño y sobre todo por tu amistad; **Manolo Chacón Ferrera**, una de las personas más honestas, generosas y de corazón más puro que he encontrado en mi vida. Gracias por todos y cada uno de nuestros momentos vividos juntos, por tu innegable paciencia y ayuda en todos los aspectos de mi vida, por tus buenos y sabios consejos de *hermano mayor*, por tu bonita amistad y por ser otro diamante en mi vida. Gracias a ti y a **Rosa González Pérez** por todo vuestro cariño y apoyo; y **Juan Ramón Feijoo** (*mi primo frijón*), gracias por ser quien eres para mí (no tengo palabras para describir a un *ser tan insólito* como tú, es mejor conocerte), y por *enseñarme a ver en mis planos ciegos de la vida*.

...muchísimas gracias a todos de corazón, porque de una manera u otra, habéis formado parte de mi vida y me habéis ayudado a estar donde estoy hoy en día, con personas como vosotros es imposible perder.

I

Índice General

I. ÍNDICE GENERAL

I. ÍNDICE.....	I
II. ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS.....	VII
III. RESUMEN.....	XIII
IV. ABSTRACT.....	XIX
1. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
1.1. CALIDAD DE LA CARNE.....	3
1.1.1. Factores relacionados con calidad de carne.....	4
1.2. CASTRACIÓN/ESTERILIZACIÓN.....	7
1.2.1. Legislación/Normativa referente a castración.....	10
1.2.2. Bienestar animal y castración.....	11
1.2.3. Alternativas a la castración quirúrgica.....	12
1.3. INMUNOCASTRACIÓN.....	14
1.3.1. Ventajas de la inmunocastración.....	18
1.4. PARÁMETROS RELACIONADOS CON LA CALIDAD DE LA CARNE.....	20
1.4.1. pH.....	21
1.4.2. Agua.....	22
1.4.3. Color.....	23
1.4.4. Compuestos nitrogenados.....	23
1.4.5. Fracción lipídica.....	26
1.4.6. Compuestos volátiles.....	28
1.4.7. PTR.....	29
1.4.8. Evaluación sensorial de la calidad de la carne.....	35
2. PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS.....	39
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	43
3.1. MATERIAL BIOLÓGICO.....	45
3.1.1. Naturaleza de las muestras.....	45
3.1.2. Tratamiento de las muestras: lomo fresco.....	46
3.1.3. Tratamiento de las muestras: lomo curado.....	47
3.1.4. Tratamiento de las muestras: paleta curada.....	48



3.2. MÉTODOS DE ANÁLISIS.....	48
3.2.1. Características de la canal.....	49
3.2.2. Contenido de humedad.....	49
3.2.3. Capacidad de retención de agua.....	49
3.2.4. Contenido de proteínas.....	49
3.2.5. Contenido en grasa intramuscular.....	50
3.2.6. Color instrumental.....	50
3.2.7. Color químico. Determinación de pigmentos relacionados con el color: mioglobina.....	51
3.2.8. Determinación del contenido de cloruros.....	51
3.2.9. Cuantificación de productos derivados de la oxidación lipídica.....	52
3.2.10. Determinación de pH.....	53
3.2.11. Determinación del perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular.....	53
3.2.11.1. Metilación de los ácidos grasos.....	53
3.2.11.2. Análisis cromatográfico.....	53
3.2.12. Análisis de compuestos volátiles mediante PTR-ToF-MS.....	54
3.2.12.1. Preparación de las muestras para PTR-ToF-MS.....	54
3.2.12.2. Espectrometría de masas por reacción de transferencia de protón con detector de tiempo de vuelo (PTR-ToF-MS).....	55
3.2.12.3. Análisis del espectro de masas.....	55
3.2.13. Análisis de compuestos volátiles mediante SPME-CG-MS.....	55
3.2.13.1. Extracción de los compuestos volátiles.....	56
3.2.13.2. Análisis cromatográfico (CG/EM).....	56
3.2.13.3. Identificación de los compuestos volátiles.....	57
3.2.14. Evaluación sensorial.....	57

3.2.14.1. Apariencia.....	57
3.2.14.2. Olor.....	58
3.2.14.3. Textura táctil.....	58
3.2.14.4. Textura en boca.....	58
3.2.14.5. Flavor.....	59
3.2.15. Análisis estadístico.....	60
4. RESULTADOS GENERALES.....	61
4.1. TABLAS.....	63
4.2. FIGURAS.....	75
5. DISCUSIÓN GENERAL.....	79
6. BIBLIOGRAFÍA GENERAL.....	101
7. CONCLUSIONES.....	129
8. CONCLUSIONS.....	133
9. PUBLICACIONES.....	137
9.1. ARTÍCULO 1: Immune-spaying as an alternative to surgical spaying in Iberian x Duroc females: Effect on carcass traits and meat quality characteristics.....	139
9.2. ARTÍCULO 2: Immune-spaying as an alternative to surgical spaying in Iberian x Duroc females: Effect on quality characteristics and fatty acid profile in dry-cured shoulders and loins.....	144
9.3. ARTÍCULO 3: Immune-spaying as an alternative to surgical spaying in Iberian x Duroc females: Effect on the VOC profile of dry-cured shoulders and dry-cured loins as detected by PTR-ToF-MS.....	150
9.4. ARTÍCULO 4: Immune-spaying as an alternative to surgical spaying in Iberian x Duroc females: Effect on the sensory traits and VOC profile of dry-cured shoulders and dry-cured loins.....	155



III

Índice de Tablas y Figuras



II. ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

Figura 1. Mecanismo de acción de Improvac® (Zoetis) en cerdos.....	15
Figura 2. Reducción del desarrollo y función testicular en cerdos (a y b).....	16
Figura 3. Mecanismo de acción de Vacsincel® (Zoetis) en cerdas.....	16
Figura 4. Regresión del tamaño de ovarios y úteros (estado atrófico inmaduro o infantilizados) en cerdas inmunocastradas respecto a hembras enteras (a y b respectivamente).....	16
Tabla 1.1. Composición química media de la carne en porcentaje (Belitz y Grosch, 1997).....	21
Figura 5. Esquema del aparato de PTR-MS.....	33
Figura 6. Espectrómetros de masas empleados para detectar los iones producidos en el tubo de deriva.....	34
Figura 7. Diferencia en la señal producida por el detector de espectro de masas de cuadrupolo (QMS) y el detector de espectro de masas de tiempo de vuelo (ToF-MS).....	34

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Figura 1. Canales de los animales sacrificados en el matadero.....	46
Figura 2. Lomos frescos en la sala de despiece.....	47
Figura 3. Lomos curados, mitad craneal (<i>Longissimus thoracis</i>).....	47
Figura 4. Paletas curadas loncheadas y envasadas al vacío.....	48

4. RESULTADOS GENERALES

Tabla 1. Efecto de la inmunocastración de hembras en las características de las canales.....	63
Tabla 2. Efecto de la inmunocastración de hembras en la composición química y color del músculo <i>Longissimus dorsi</i>	64
Tabla 3. Efecto de la inmunocastración de hembras en peso fresco, composición química y color de paletas curadas.....	64



Tabla 4. Efecto de la inmunocastración de hembras en peso fresco, composición química y color de lomos curados.....	65
Tabla 5. Efecto de la inmunocastración de hembras en el perfil de ácidos grasos de la grasa dorsal.....	66
Tabla 6. Efecto de la inmunocastración de hembras en el perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular del músculo <i>Longissimus dorsi</i>	67
Tabla 7. Efecto de la inmunocastración de hembras en el perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular de paletas curadas.....	68
Tabla 8. Efecto de la inmunocastración de hembras en el perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular de lomos curados.....	69
Tabla 9. Correlaciones de Pearson entre la grasa intramuscular y los ácidos grasos de lomos curados.....	70
Tabla 10. Picos de masas con concentración (ppbv) significativamente diferente entre lomos curados de diferentes grupos de tratamiento ($p < 0,01$) y tentativamente identificados a partir de la fórmula química calculada..	71
Tabla 11. Efecto de la inmunocastración de hembras en las características sensoriales de paletas Ibéricas curadas.....	72
Tabla 12. Efecto de la inmunocastración de hembras en las características sensoriales de lomos Ibéricos curados.....	73
Tabla 13. Correlaciones de Pearson entre la grasa intramuscular y las características sensoriales de lomos curados.....	74
Figura 3. Representación de las muestras en el espacio definido por los componentes principales 1 y 2 (PC1 vs PC2) del PCA de la “huella dactilar” de PTR-ToF-MS de paletas curadas procedentes de hembras castradas quirúrgicamente, hembras inmunocastradas y hembras enteras.....	75
Figura 4. Representación de las muestras en el espacio definido por los componentes principales 1 y 2 (a: PC1 vs PC2), 3 y 4 (b: PC3 vs PC4) del PCA del análisis de SPME-GC-MS de paletas curadas procedentes de hembras castradas quirúrgicamente, hembras inmunocastradas y hembras enteras.....	76



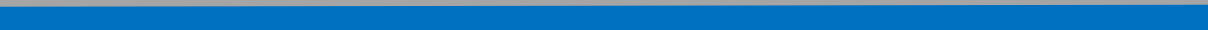
Figura 5. Representación de las muestras en el espacio definido por los componentes principales 1 y 2 (PC1 vs PC2) del PCA de la “huella dactilar” de PTR-ToF-MS de lomos curados procedentes de hembras castradas quirúrgicamente, hembras inmunocastradas y hembras enteras.....	77
Figura 6. Representación de las muestras en el espacio definido por los componentes principales 1 y 2 (PC1 vs PC2) del PCA del análisis de SPME-GC-MS de lomos curados procedentes de hembras castradas quirúrgicamente, hembras inmunocastradas y hembras enteras.....	78
5. DISCUSIÓN GENERAL	
Figura 1. Influencia del sexo en la deposición de grasa.....	84
Figura 2. Ondas de crecimiento heterogónico de Hammond (1966).....	89



III



Resumen





III. RESUMEN

En la actualidad, la castración de cerdos se realiza tanto en machos como en hembras en España (debido a las condiciones especiales del sistema de explotación del cerdo Ibérico), mientras que dicha castración de hembras no se suele practicar en otros países de la Unión Europea. La finalidad de la castración en cerdos es conseguir un buen manejo animal, y la posible mejora en la calidad de la carne debido al incremento de la grasa intramuscular. La castración quirúrgica es la práctica más utilizada, se suele realizar a edades tempranas y sin anestesia, atentando contra el bienestar animal. En este sentido, existe un creciente interés europeo en el bienestar animal, que ha animado a la industria porcina a investigar alternativas, tal es el caso de la inmunocastración. La inmunocastración en machos ha sido ampliamente estudiada, sin embargo, existe una escasez de datos científicos sobre el efecto de la inmunocastración de hembras en calidad de carne fresca y curada.

Por todo lo descrito, el objetivo de esta Tesis Doctoral ha sido evaluar el efecto de la inmunocastración en hembras Ibéricas (IB x D), tanto desde el punto de vista de calidad de carne fresca como de calidad final de productos cárnicos curados (paletas y lomos).

Para este estudio se utilizaron lomos frescos (*Longissimus dorsi*), paletas y lomos curados de hembras porcinas Ibéricas (IB x D). Los animales fueron identificados y clasificados en tres grupos: hembras inmunocastradas (IF), hembras castradas quirúrgicamente (SF) y hembras enteras (EF). Específicamente la toma de muestras consistió en la recepción de 36 lomos frescos (mitad caudal de *Longissimus dorsi*); 12 muestras de cada uno de los tres grupos descritos (n = 12). Asimismo, el muestreo de las paletas y los lomos curados (mitad craneal del músculo *Longissimus dorsi*) se realizó usando 18 animales tomados aleatoriamente: 6 IF (n = 6), 6 SF (n = 6) y 6 EF (n = 6). En cuanto a la metodología utilizada, se determinaron medidas morfológicas (longitud, anchura, peso, perímetro) para evaluar el efecto de la inmunocastración en el rendimiento de las distintas piezas cárnicas. También se analizaron las distintas características: físico-químicas (humedad, pH, color físico, capacidad de retención de



agua, grasa intramuscular, proteínas, cloruros, oxidación lipídica (TBARs), color químico), instrumentales (ácidos grasos y perfil de compuestos volátiles (SPME-GC-MS), y sensoriales (análisis cuantitativo-descriptivo (AQD)) para evaluar la influencia de la inmunocastración en la calidad de los productos curados. Además se probó la técnica de análisis de compuestos volátiles PTR-ToF-MS (proton transfer reaction time of flight mass spectrometry) como técnica rápida de diferenciación entre los tres grupos en estudio. Todos los datos fueron analizados estadísticamente con ayuda del programa informático SPSS versión 15.0.

Los resultados obtenidos en esta Tesis Doctoral han demostrado que la inmunocastración de hembras Ibéricas (IB x D) no afectó a las características de las canales y a la calidad de carne fresca (*Longissimus dorsi*). Asimismo, la inmunocastración tuvo un efecto inconsecuente en la composición físico-química de las paletas curadas. Sin embargo, en los lomos curados se observó un aumento del contenido de grasa intramuscular en el grupo de IF. Además, el contenido de ácidos grasos poliinsaturados, tanto en paletas como lomos curados, tuvo valores más bajos en el grupo de IF que en las SF, lo cual podría prevenir una excesiva oxidación lipídica responsable de la rancidez.

Respecto al perfil de compuestos orgánicos volátiles (VOCs) de las paletas curadas, no se observaron diferencias significativas entre los grupos estudiados. Probablemente debido a la amplia variabilidad interna que presenta este producto curado, afectando así a la emisión de los VOCs. Contrariamente, en el caso de los lomos curados es posible separar los productos obtenidos de IF de aquellos procedentes de SF. La inmunocastración parece favorecer la producción de VOCs con un papel importante en el desarrollo del flavor final en este tipo de productos curados. Siguiendo la tendencia descrita, el perfil sensorial de las paletas curadas no se vio afectado por el método de castración. Contrariamente, en concordancia con las diferencias encontradas en el contenido de grasa intramuscular y perfil de VOCs, en el caso de los lomos curados algunos descriptores como el brillo y veteado mostraron mayores valores en el grupo de IF. Esto podría ser debido a la mayor homogeneidad



encontrada en los lomos curados, la cual permite observar con mayor claridad los efectos de la inmunocastración.

En conclusión, la inmunocastración de hembras porcinas, con demostradas ventajas desde el punto de vista del bienestar animal, es una alternativa viable a la castración quirúrgica que permite mantener o incluso mejorar las características finales de los productos curados.



IV

Abstract



IV. ABSTRACT

Currently, porcine castration is performed on both males and females in Spain (due to the special conditions of the Iberian pig's rearing system), whereas in other countries of the European Union it is not common practice to spay female pigs. The purpose of porcine castration is to obtain good animal management, and possibly improve the meat quality due to the increase of intramuscular fat. Surgical castration is the most commonly employed practice, usually performed at young ages and without anesthesia, threatening animal welfare. In this sense, in Europe, the increasing concern of animal welfare has driven the porcine industry to investigate alternatives such as immunocastration. Immunocastration in male pigs has been thoroughly studied, however scarce scientific data exists regarding immune-spaying in female pigs and its effects on fresh and dry-cured meat quality.

For the reasons described above, the objective of this Doctoral Thesis has been to assess the effect of immune-spaying on female Iberian pigs (IB x D) from the point of view of fresh meat quality, as well as the final quality of dry-cured meat products (dry-cured shoulders and loins). For this study, fresh loins were used (*Longissimus dorsi*), as well as dry-cured shoulders and loins from female Iberian pigs (IB x D). The animals were identified and classified in three groups: immune-spayed females (IF), surgically spayed females (SF) and entire females (EF). The collection of samples specifically consisted in the receipt of 36 fresh loins (caudal half of *Longissimus dorsi*); 12 samples of each of the described groups (n=12). Additionally, the sampling of dry-cured shoulders and loins (cranial half of *Longissimus dorsi*) was performed using 18 randomly selected animals: 6 IF (n=6), 6 SF (n=6), and 6 EF (n=6). With regard to the methodology used, morphological measurements (length, width, weight, perimeter) were determined to assess the effect of immune-spaying on the yield of the various meat pieces. Distinct characteristics: physico-chemical (moisture, pH, instrumental color, water-holding capacity, intramuscular fat, total protein and chlorides, lipid oxidation (TBARs), haem pigments), instrumental (fatty acids and volatile compound profile (SPME-GC-MS), and sensorial (quantitative-descriptive analysis (QDA)) were



analyzed to evaluate the influence of immune-spaying on the quality of the dry-cured products. Furthermore, volatile compound analysis was tested by means of PTR-ToF-MS (proton transfer reaction time of flight mass spectrometry) as a rapid technique to differentiate between the three study groups. All of the data was statistically analyzed with help from the computer program SPSS version 15.0.

The results obtained from this Doctoral Thesis have demonstrated that immune-spaying of female Iberian pigs (IB x D) did not affect carcass traits nor fresh meat quality (*Longissimus dorsi*). Likewise, immune-spaying had an inconsequential effect on the physico-chemical composition of dry-cured shoulders. In dry-cured loins, however, an increase in intramuscular fat content was observed in the IF group. Furthermore, the polyunsaturated fatty acid content in both dry-cured shoulders and loins was lower in the IF group than in the SF group, which could prevent the excessive lipid oxidation responsible for rancidity.

Regarding the volatile organic compound profile (VOCs) of dry-cured shoulders, significant differences were not observed between the study groups. This is probably due to the wide internal variability of this dry-cured product which affects the emission of VOCs. Contrarily, in the case of dry-cured loins, it is possible to separate products obtained from IF from those originating from SF. Immune-spaying seems to favor VOC production, playing an important role in the development of the final flavor of these sorts of dry-cured products. Following the described tendency, the sensorial profile of dry-cured shoulders did not appear to be affected by the method of spaying. Conversely, in agreement with the differences found in the intramuscular fat content and the VOC profile, in the case of dry-cured loins some descriptors such as brightness and marbling showed higher values in the IF group. This could be due to the great homogeneity found in dry-cured loins, which permits the effects of immune-spaying to be observed with better clarity. In conclusion, immune-spaying of female pigs, with proven advantages from the point of view of animal welfare, is a viable alternative to surgical spaying, allowing the final characteristics of dry-cured products to be maintained or even improved upon.

1

Introducción General



1. INTRODUCCIÓN GENERAL

En la actualidad, la carne forma uno de los pilares básicos de la dieta debido a que es un alimento altamente nutritivo y aporta diferentes tipos de compuestos para la correcta alimentación de la población mundial. Además, provoca sensaciones placenteras asociadas a su consumo.

1.1. CALIDAD DE LA CARNE

El término calidad es bastante complejo, y nos podríamos referir a ella como una palabra *polisémica*, en función de la persona que se encargue de definirla. El concepto de calidad del productor difiere del que tenga el distribuidor, y el de éste del que tenga el consumidor. Desde el punto de vista del productor, el ideal de calidad será una canal que tenga **un alto rendimiento, con abundante masa muscular y que esté poco engrasada**. Por otro lado, el distribuidor valorará que la **canal esté bien estructurada, y que la carne tenga un color estable y rosáceo**, con una fina película de grasa blanquecina. Además de otras propiedades que variarán dependiendo del producto que se vaya a elaborar, por ejemplo: para un producto cárnico destinado a consumo en fresco tendrá gran importancia un pH adecuado de la canal después de sacrificio (Rosenvold y Andersen, 2003); sin embargo, para productos cárnicos curados van a tener gran importancia un elevado contenido en grasa intramuscular (GIM) y la estabilidad oxidativa de la misma, los cuales influirán notablemente en el proceso de desecación y maduración del producto (Ruiz *et al.*, 2002a; Muriel *et al.*, 2004a). Finalmente, el consumidor ha incrementado en los últimos años el número de criterios que utiliza para valorar la calidad. Su **interés se centrará cada vez más en el bienestar animal durante las fases de producción**, en la ausencia de sustancias perjudiciales para la salud pública (antibióticos, promotores del crecimiento, etc.), en la vida útil de la carne antes de su consumo, en que no se desarrollen olores o sabores anómalos tras su periodo de procesado y elaboración (fresco o curado), y fundamentalmente, en sus apreciadas propiedades sensoriales.



Ante esta situación se podría definir: calidad higiénica como la ausencia en la carne de agentes infecciosos que supongan un riesgo para su consumo (Gracey, 1989); calidad bromatológica asociada al valor nutritivo; calidad tecnológica relacionada con la aptitud para los diferentes procesos tecnológicos y de conservación; y calidad sensorial correspondiente a la percepción mediante los sentidos de las cualidades de los alimentos que generan una sensación característica. Por último, la calidad asociada al bienestar animal que incluye todos los conceptos de calidad definidos anteriormente y conseguidos dentro de unos parámetros de producción que garanticen además el bienestar animal.

1.1.1. Factores relacionados con calidad de carne

La calidad de la carne depende de diversos factores extrínsecos e intrínsecos al animal, todos ellos de crucial importancia a la hora de seleccionar y manejar animales para obtener productos de calidad. Entre los factores extrínsecos el más importante es **la alimentación**, que incide directamente sobre la composición de la carne, ya que en función de la dieta utilizada se puede modificar el contenido de grasa, el color de la carne (Priolo *et al.*, 2001) u otras propiedades sensoriales de la misma, afectando por lo tanto a la calidad del producto final. Por ejemplo, un aumento en la dieta del contenido de hidratos de carbono o de la grasa, aumenta el engrasamiento de las canales (Ordóñez *et al.*, 1998). Mediante aportes grasos controlados podemos mejorar la jugosidad y la ternura como consecuencia del incremento de GIM (García *et al.*, 1991; Antequera *et al.*, 1994), pero por otra parte esto implicaría un descenso en el contenido de proteínas.

Entre los factores intrínsecos, **la raza** es uno de los más considerados al seleccionar las canales en función de sus productos derivados. Las razas con mayores masas musculares y más magras son las más buscadas para el consumo de carne fresca mientras que las que presentan mayor infiltración grasa son las mejores para la elaboración de productos curados.

En este sentido, las características más destacables de la raza Ibérica pueden resumirse en: elevada rusticidad consecuencia de la adaptación al ecosistema de la



dehesa, tendencia a acumular grasa, alto nivel de veteado de los músculos y baja o nula susceptibilidad al estrés. Esta raza presenta una excelente capacidad para conseguir un aprovechamiento óptimo de los recursos naturales, mientras que desde el punto de vista productivo y reproductivo, presenta una serie de deficiencias en comparación con las razas de cerdos comerciales (peores índices de transformación de los alimentos, mala conformación cárnica, baja prolificidad, inferior índice de crecimiento, etc...). Estas deficiencias se han conseguido mitigar mediante el cruce con otras razas porcinas más seleccionadas, principalmente la raza Duroc. Asimismo, es importante destacar el marcado carácter adipogénico de la raza Ibérica, el cual es uno de los factores más importantes que van a determinar la calidad final de carne de los distintos productos derivados del cerdo Ibérico (López-Bote, 1998a). En consecuencia las características de la grasa, principalmente la GIM, son determinantes para la obtención de productos de alta calidad sensorial (Ruiz *et al.*, 2002b; Muriel *et al.*, 2004a). En este sentido, podemos encontrar en la literatura trabajos donde se demuestra como la raza Duroc ha sido introducida en Europa como línea padre para aumentar y mejorar la infiltración grasa en los cerdos (Barton-Gade *et al.*, 1987; Peloso *et al.*, 2010), lo cual se valora como un índice de alta calidad en productos cárnicos curados (lomos, paletas y jamones) por parte del consumidor.

La **zona anatómica** también tiene influencia sobre la composición de la carne, la grasa se deposita en distintas localizaciones anatómicas como es la subcutánea, intermuscular e intramuscular. Estos depósitos no van a tener la misma importancia en la canal y en la calidad de la carne, ya que un exceso de grasa subcutánea no es un aspecto positivo para el consumo de carne fresca, pero juega un papel importante en el proceso de curación de paletas y jamones. Además, la velocidad de deposición también se verá influenciada por la zona anatómica, puesto que algunos autores han encontrado que la velocidad de deposición de la grasa subcutánea será mayor que la de la GIM en el caso del jamón curado, pero igual en el caso de la paleta curada (Kouba y Bonneau, 2009).

Los siguientes factores tienen una estrecha relación con el objetivo principal de esta tesis doctoral. **La edad** (y por lo tanto el peso) influye en la proporción y



composición de los distintos tejidos del animal (Kouba y Bonneau, 2009), de manera que estos muestran una intensidad máxima de crecimiento variable a lo largo de distintas etapas de su vida. Así, el tejido adiposo es el que crece con mayor intensidad en las últimas etapas. Por lo tanto, en animales de más edad, mayor será la grasa acumulada y menor el contenido en colágeno (proteínas). Otro factor sobre el que influye es el color de la carne, es decir, la carne presenta una mayor cantidad de pigmentos a mayor edad de los animales (Charpentier, 1967; Cross *et al.*, 1986 y Lawrie, 1998). La composición de la grasa también se ve afectada por la edad de los animales (Bosch *et al.*, 2012; Daza *et al.*, 2007). Los cerdos Ibéricos normalmente se sacrifican con 120-170 kg de peso al sacrificio y una vida mínima de 10 meses.

El sexo afecta al contenido de GIM, ya que su contenido es mayor en las hembras que en los machos. Este factor unido a la raza puede tener una notable influencia en la calidad final del producto, debido a una mayor infiltración grasa que puede favorecer la adquisición de mejores características sensoriales (García *et al.*, 1991; Antequera *et al.*, 1994).

La condición reproductiva de los animales (enteros o castrados), es otro factor extrínseco que va a influir de manera notable en la composición y calidad final de carne, donde la castración va a jugar un papel crucial sobre el contenido de grasa de infiltración de los animales (GIM). La finalidad de la castración en cerdos es mejorar la calidad de la carne y conseguir un buen manejo animal. Esta posible mejora en la calidad de la carne se basa fundamentalmente en dos factores: el control del olor sexual en machos (Fredriksen *et al.*, 2009); y el incremento del contenido en GIM tanto para machos como hembras (Barton-Gade *et al.*, 1987; Fischer y Weiler, 1994; Neuper *et al.*, 1995). En esta dirección, encontramos en la literatura varios trabajos cuyos objetivos han sido la evaluación del olor sexual en la calidad de carne fresca, carne cocinada y productos curados (jamón), en los cuales se compararon machos enteros frente a machos castrados (Bañón *et al.*, 2003a; Bañón *et al.*, 2003b; Bañón *et al.*, 2004). En dichos estudios podemos observar como el uso de la castración permite obtener canales pesadas (140-160 kg) y sin olor sexual, mejorando la calidad de la carne, ya que esta práctica también favorece el incremento de la GIM en la carne



porcina (Barton-Gade, 1987; Fischer & Weiler, 1994; Neuper *et al.*, 1995). Esta carne de animales castrados, debido a su mayor contenido en GIM, tendrá mejores características tecnológicas para el procesamiento de productos curados, los cuales precisan un largo tiempo de maduración, puesto que dicha grasa evita la excesiva deshidratación de la pieza. Asimismo, la GIM, comúnmente denominada grasa de infiltración, está relacionada directamente con índices de alta calidad de carne en porcino (Ruiz *et al.*, 2000; Ventanas *et al.*, 2005).

Dado que tanto la edad de sacrificio, como el sexo del animal, como su condición reproductora tienen una elevada influencia sobre la calidad de la carne, y dado además el creciente interés de los consumidores por el respeto hacia el bienestar animal, los temas relacionados con la castración de animales de abasto han adquirido un renovado interés

1.2. CASTRACIÓN/ESTERILIZACIÓN

La Real Academia de la Lengua Española (Diccionario de la Lengua Española, 2001) define la castración como la acción y efecto de castrar (extirpar los órganos genitales). La castración quirúrgica se suele realizar a edades tempranas y sin anestesia, atentando contra el bienestar animal. Además de facilitar el manejo de los animales, la castración quirúrgica tiene como finalidad controlar el olor sexual en machos (extremadamente desagradable para algunos consumidores) que repercute de manera muy negativa en la calidad de la carne de cerdo (Prunier *et al.*, 2005, Fredriksen *et al.*, 2009). Este olor se produce debido a la presencia de la androstenona, hormona producida en las gonadas masculinas, al escatol y en menor medida el indol, además de otros compuestos de menor importancia que se acumulan en la grasa. La androstenona es un esteroide testicular asociado con el olor de la orina y el sudor, y sólo es detectable por algunos consumidores, especialmente por las mujeres. (Bonneau *et al.*, 2000; Dijksterhuis *et al.*, 2000; Font-i-Furnols *et al.*, 2000; Gibis *et al.*, 1998; Godt *et al.*, 1996; Van Oeckel *et al.*, 1996; Weiler *et al.*, 2000). El escatol se obtiene como resultado de la degradación del triptófano en el intestino, y está asociado con el olor a heces o naftalina, el cual genera rechazo del producto por parte



del consumidor. Los machos enteros tienen más escatol que las hembras y machos castrados debido a su mayor potencial anabólico, su mayor nivel de exfoliación intestinal y al efecto inhibitor de la testosterona sobre la degradación y absorción del escatol (Babol *et al.*, 1999; Claus *et al.*, 1994; Mortensen *et al.*, 1991). Existen numerosos trabajos sobre la aceptabilidad de la carne en relación al problema del olor sexual. De acuerdo con un amplio estudio realizado en 7 países europeos (Bonneau *et al.*, 2000), más del 6.5 % de los consumidores expresan insatisfacción con la carne de machos enteros en comparación con la carne de hembras. Dicha aceptabilidad está relacionada con los niveles de estos compuestos en la grasa, los cuales dependen de la condición fisiológica en el momento de sacrificio, es decir, edad, actividad sexual, alimentación y genética del cerdo (Bonneau, 1998). La castración de cerdos machos reduce el contenido de androstenona y escatol a niveles similares a los encontrados en hembras porcinas (Gibis *et al.*, 1998; Hansen *et al.*, 1994; Jeremiah *et al.*, 1999).

En la literatura científica están disponibles numerosos artículos relacionados con la castración de cerdos machos y los efectos que produce sobre la calidad de la canal y de la carne. Así, se ha descrito el olor sexual en la calidad de carne fresca, carne cocinada y productos curados (jamón), estableciéndose una comparativa de machos enteros frente a machos castrados (Bañón *et al.*, 2003a; Bañón *et al.*, 2003b; Bañón *et al.*, 2004). Estos autores establecen que el uso de la castración permite obtener canales pesadas (140-160 kg) y sin olor sexual. Además, esta práctica favorece el incremento de la GIM en la carne porcina, mejorando la calidad de la carne (Barton-Gade *et al.*, 1987; Fischer y Weiler, 1994; Neuper *et al.*, 1995). La carne de animales castrados, debido a su mayor contenido en GIM, tendrá mejores características tecnológicas para el procesado industrial de productos curados, los cuales precisan un largo tiempo de maduración. No obstante, esta carne rica en GIM va a ser menos apropiada para un público “*low fat*”, es decir, consumidores que valoran más las carnes magras (Bañón *et al.*, 2004). En esta dirección, los trabajos realizados mostraron que los jamones curados provenientes de machos castrados fueron los más aceptados y preferidos por los consumidores, especialmente por parte de las mujeres y los consumidores habituales de este tipo de productos, puesto que son más sensibles en la percepción del olor sexual. Por tanto, estos estudios demuestran que la



castración de cerdos machos contribuye a una mejora en la calidad final de jamones curados (Bañón *et al.*, 2003b).

Aunque los datos referentes a la influencia de la castración sobre la calidad de la carne de machos son abundantes, no ocurre así con respecto a las hembras. Sin embargo, en la actualidad, la castración de cerdos se ha convertido en una práctica habitual tanto para machos como para hembras. Se pueden encontrar algunas referencias en la literatura que evaluaron la castración, tanto desde un punto de vista productivo como de calidad de carne, enfrentando a machos castrados frente a hembras castradas y enteras (Serrano *et al.*, 2008; Peinado *et al.*, 2012); mientras que en otros estudios se evaluó la castración comparando sólo hembras castradas frente a enteras (Serrano *et al.*, 2009).

Con la castración también se busca la reducción de las agresiones y comportamientos sexuales como las montas naturales, que van en aumento a medida que los animales alcanzan la pubertad (Zamaratskaia *et al.*, 2008a). Estas agresiones y comportamientos sexuales en los cerdos incrementan los riesgos de padecer lesiones de luchas y cojeras (Fabrega *et al.*, 2010; Rydhmer *et al.*, 2010), las cuales conllevan a una reducción del bienestar animal durante su periodo de cría hasta sacrificio en matadero (FVE-Federation of Veterinarians of Europe, 2009). En la misma línea, encontramos varios artículos disponibles donde aparece la castración como un método para reducir el comportamiento sexual y agresivo de los cerdos (Cronin *et al.*, 2003; Baumgartner *et al.*, 2010). Desde el punto de vista productivo, la castración quirúrgica en las hembras se lleva a cabo para reducir el efecto negativo del estro sobre el crecimiento. Con esto se pretende evitar la pérdida de peso de las hembras debida a la disminución del consumo voluntario de pienso que tiene lugar con la aparición del celo (Zeng *et al.*, 2002).

De acuerdo con lo anteriormente expuesto podemos resumir que la finalidad de la castración en cerdos es mejorar la calidad de la carne y conseguir un buen manejo animal. Esta posible mejora en la calidad de la carne se basa fundamentalmente en dos factores: el control del olor sexual en machos (Fredriksen *et*



al., 2009); y el incremento del contenido en GIM tanto para machos como hembras (Barton-Gade *et al.*, 1987; Fischer y Weiler, 1994; Neuper *et al.*, 1995). Dicha GIM, comúnmente denominada grasa de infiltración, está relacionada directamente con índices de alta calidad de carne en porcino (Ruiz *et al.*, 2000; Ventanas *et al.*, 2005).

1.2.1. Legislación/Normativa referente a castración

En la Unión Europea se castran alrededor del 80% de los lechones machos (EFSA, 2004), lo que equivale a unos 100 millones de lechones cada año, en su mayoría sin anestésicos o analgésicos (Fedriksen *et al.*, 2009). La castración de machos se suele realizar a edades tempranas (2 primeras semanas de vida) y con la finalidad fundamental de eliminar el olor sexual.

En el caso del cerdo ibérico se añaden otras razones, la explotación extensiva del cerdo Ibérico precisa de la castración quirúrgica tanto de machos como de hembras debido a los problemas de manejo animal (problemas de comportamientos sexuales) durante el periodo de finalización. Para evitar este ingente problema tanto machos como hembras son gonadectomizados a edades tempranas, sin embargo las nuevas regulaciones en materia de bienestar animal (EU Directive 120/2008/CE y RD 1221/2009) exigen alternativas viables a la gonadectomía de machos, y con mayor urgencia en el caso de las hembras. En esta dirección, la castración de hembras no se suele practicar en los países de la Unión Europea, salvo el caso excepcional de España, donde la castración de hembras Ibéricas sí está permitida debido a sus características únicas en un sistema de producción en extensivo (RD 1221/2009). Todo esto se debe a las condiciones especiales del sistema de explotación del cerdo Ibérico, las cuales implican que los sacrificios de los animales tengan lugar a grandes pesos (> 150 kg), estos suelen ser cerdos de una cierta edad (14-16 meses) que ya han alcanzado la madurez sexual (problemas tecnológicos del olor sexual y problemas de comportamientos sexuales agresivos). Asimismo, tradicionalmente la cría del cerdo Ibérico se lleva a cabo en extensivo, lo cual podría causar gestaciones indeseadas en hembras (Gómez-Fernández *et al.*, 2013) a través de jabalíes durante los meses de duración de la montanera (sistema tradicional de cebo en extensivo). En este sentido,



si por motivos debidamente justificados desde el punto de vista profiláctico o terapéutico debiera realizarse la castración de una hembra, tal operación deberá ser certificada y realizada por un veterinario, con anestesia y analgesia prolongada (RD 1221/2009).

1.2.2. Bienestar animal y castración

En una sociedad desarrollada surgen corrientes de pensamiento en distintas áreas del conocimiento, dando lugar a movimientos que van a modificar sustancialmente nuestros diseños productivos. Actualmente, existen corrientes de pensamiento sobre el medio ambiente, la salud pública o el **bienestar animal**. Estas nuevas corrientes preocupan tanto a nuestra sociedad como a nuestros gobiernos, para lo cual, se están creando constantemente normativas que van a afectar a los ganaderos, los cuales están obligados a modificar sus estrategias de producción en función de las nuevas directrices de la Unión Europea.

La Real Academia de la Lengua Española (Diccionario de la Lengua Española, 2001), define el bienestar, como *la vida holgada o abastecida de cuanto es necesario para pasarlo bien y con tranquilidad, pero también, el conjunto de cosas necesarias para bien vivir*. Asimismo, se entiende por bienestar *el estado o condición de salud y felicidad, y también, el estado o condición de armonía fisiológica entre el organismo y su ambiente*.

Actualmente, hemos empezado a considerar a los animales como algo más que simples objetos de los que somos propietarios o elementos de los cuales extraemos algún beneficio propio.

Es frecuente que se establezca un paralelismo entre bienestar y salud en los animales. Es decir, si el animal está sano tiene bienestar. Esto es una equivocación, puesto que los animales viven en su medio y tienen que hacerlo integrados en él, en completa armonía con él. Cuando se produce una modificación de dicho medio, los animales deben adaptarse a la nueva situación mediante mecanismos fisiológicos que los equilibran y los adaptan, en concreto, son los procesos de estrés los responsables



de esta adaptación, produciéndose una reducción real o potencial de la eficiencia biológica del animal, y en esta situación el animal tendrá déficit de bienestar aunque no sufra un proceso patológico propiamente dicho. Un claro ejemplo lo tenemos en la castración quirúrgica de cerdos que es la práctica más usada para el control del olor sexual (Fredriksen *et al.*, 2009), y se suele realizar a edades tempranas y sin anestesia, atentando contra el bienestar animal.

En la literatura se pueden encontrar numerosos estudios donde se afirma que la castración quirúrgica es dolorosa (Hay *et al.*, 2003; Prunier *et al.*, 2006; Leidig *et al.*, 2009; Von Borell *et al.*, 2009). Los investigadores han demostrado que los lechones responden a la castración quirúrgica con vocalizaciones específicas (Puppe *et al.*, 2005; Leidig *et al.*, 2009; Von Borell *et al.*, 2009) y comportamientos propios (Hay *et al.*, 2003) indicativos de dolor. Esto pone de manifiesto que la castración compromete el bienestar animal (Directiva EEC, 2001), incrementando los riesgos de infección y perjudicando los costes de producción. Por esto, sería importante remarcar el creciente interés europeo en el bienestar animal (EFSA, 2004), y la perspectiva de la legislación en varios países, de la limitación de la actual práctica de castración quirúrgica sin anestesia, que han animado a la industria porcina a reconsiderar su enfoque tradicional para el control del olor sexual y conducta sexual, e investigar alternativas viables (Prunier *et al.*, 2006; Zamaratskaia y Lundström, 2006). De igual manera, se están trazando las directrices de un plan para acabar voluntariamente con la castración quirúrgica antes de finales de 2018, en Europa (FVE, 2009; PIGCAS, 2009). Por todo ello, es necesaria la búsqueda de alternativas a la castración quirúrgica, con especial atención en el bienestar animal.

1.2.3. Alternativas a la castración quirúrgica

En la actualidad se barajan distintas alternativas a la castración quirúrgica, que tienen en cuenta el bienestar animal. Éstas pueden asegurar el bienestar animal de los lechones significativamente (de Roest *et al.*, 2009). Las posibles soluciones complementarias de hoy en día son:



- La cría de cerdos enteros, con la subsiguiente clasificación en función del olor sexual después de su sacrificio en matadero.
- La castración con anestesia local o general.
- La inmunocastración disponible en la Unión Europea desde 2009.

La primera alternativa sería la cría de cerdos machos enteros, que se percibe generalmente como la mejor solución a largo plazo, pero esto supone que el problema del olor sexual no estaría resuelto (Fredriksen *et al.*, 2009). Esta es una cuestión de una importancia considerable ya que el consumidor, generalmente, demanda una alta y persistente calidad de la carne (sin olor sexual). En este sentido, a través de investigación genética intensiva se están realizando estudios cuyo objetivo es la reducción de los niveles de androstenona y escatol en la carne de cerdos enteros (Squires, 2006). Este hecho, junto con distintos métodos utilizados para la detección del olor sexual en la línea de sacrificio, podría ser una buena solución para el futuro. En este sentido, existen varios métodos para detectar el olor sexual en la línea de sacrificio, incluyendo métodos de clasificación sensoriales (humano) y químicos/bioquímicos (a veces automatizados). A pesar de ello en la actualidad no existe un método unánimemente aceptado en la Unión Europea (EFSA, 2004). Asimismo, el sacrificio de los cerdos a edades tempranas puede reducir el problema del olor sexual, ya que su expresión está asociada a la madurez sexual (Babol *et al.*, 2004; Zamaratskaia *et al.*, 2004). No obstante, la investigación ha demostrado que el olor sexual no puede ser evitado completamente de esta forma, ni siquiera con pesos de canales tan bajos como 40 kg (Aldal *et al.*, 2005). También se debería tener en cuenta el aumento de la agresividad y los comportamientos de monta como aspectos negativos y adicionales de la cría de machos enteros.

En segundo lugar estaría la práctica de la castración con anestesia. La anestesia local en cerdos se comenzó a practicar en Noruega desde 2002, como alternativa a la castración quirúrgica sin anestesia realizada de forma generalizada por los granjeros europeos. Esta práctica evita el dolor durante la cirugía (Haga y Ranheim, 2005), sin embargo no elimina el dolor postoperatorio de las siguientes horas y días, a menos



que se administre suficiente analgesia durante ese periodo. El beneficio de esta práctica desde el punto de vista del bienestar animal también está en entredicho, puesto que los animales tienen que ser tratados dos veces (una vez para la anestesia local y una segunda para la analgesia del postoperatorio), y por lo tanto doblemente expuestos a situaciones de estrés. Por otro lado, la anestesia general inducida por gases podría tener un potencial de uso en la castración. No obstante, la anestesia con CO₂ aún está siendo evaluada como alternativa a otros tipos de anestesia, puesto que tiene una importante desventaja debido a que posee unos márgenes de seguridad demasiado estrechos (en relación a la concentración de CO₂ y tiempo). Además, todavía no se ha diseñado un sistema práctico y eficaz para un uso generalizado que evite las pérdidas animales (Cluivers-Poodt *et al.*, 2007). Asimismo el equipo para el uso de anestesia con isoflurano es caro y no es adecuado para pequeños rebaños (Raaflaub *et al.*, 2008).

La tercera alternativa a la castración quirúrgica es la inmunocastración, que ha demostrado ser eficaz en la prevención del olor sexual en numerosos estudios realizados en machos (Dunshea *et al.*, 2001; Zeng *et al.*, 2002; Zamaratskaia *et al.*, 2008b; Bonneau *et al.*, 1994).

1.3. INMUNOCASTRACIÓN

Se ha desarrollado una vacuna contra el factor de liberación de gonadotropina (GnRH) (Improvac[®], Zoetis) que ha sido aprobada para su uso en más de 60 países, entre ellos Australia, Nueva Zelanda, Brasil, México, Suiza y la Unión Europea, y se ha propuesto como una alternativa respetuosa con el bienestar animal frente a la castración quirúrgica (Thun *et al.*, 2006). Improvac[®] consta de un análogo sintético del factor liberador de la gonadotropina (GnRH) acoplado a un toxoide de difteria que actúa como una gran proteína portadora inmunogénica para dicho análogo sintético. Improvac[®] también está formulado con el adyuvante iónico polisacárido DEAE dextrano (McNamara, 2009). Su objetivo es conseguir los mismos efectos que la castración quirúrgica evitando todas las repercusiones negativas asociadas, tanto productivas como de vulneración del bienestar animal.



La inmunocastración en los machos consiste en la producción de anticuerpos contra GnRH y el consiguiente bloqueo del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas con regresión testicular y reducción de la síntesis de hormonas esteroideas (Jaros *et al.*, 2005; McCauley *et al.*, 2003; Oliver *et al.*, 2003; Oonk *et al.*, 1995, 1998; Zamaratskaia *et al.*, 2008a y 2008b) (Figura 1.). De esta manera el análogo sintético de GnRH induce la producción anticuerpos contra la GnRH propia del animal, que desencadenan un bloqueo en la producción de FSH (hormona folículo-estimulante) y LH (hormona luteinizante) de la glándula pituitaria, con la consiguiente reducción del desarrollo y función testicular (Figura 2. a y b), incluyendo la producción de esteroides. En el caso de las hembras la inducción de anticuerpos frente al GnRF provoca una supresión inmunológica temporal de la función ovárica mediante el bloqueo de las hormonas gonadotrópicas LH y FSH, lo cual conlleva a la reducción de la producción y concentración de progesterona (Figura 3.). Por tanto, la inhibición de la GnRH también puede ser utilizada para prevenir los distintos estro y ovulaciones en el caso de las hembras (Hernández-García *et al.*, 2013). En las hembras inmunocastradas se puede observar una evidente regresión tanto del tamaño de los ovarios como de los úteros (estado atrófico inmaduro o infantilizados) (Figura 4. a y b), respecto a los de cerdas enteras (Hernández-García *et al.*, 2013). Consecuentemente, podemos denotar una reducción en la síntesis de hormonas femeninas esteroideas, por lo que los niveles séricos de progesterona y estradiol van a ser inferiores en cerdas inmunocastradas que en las enteras (Hernández-García *et al.*, 2013).

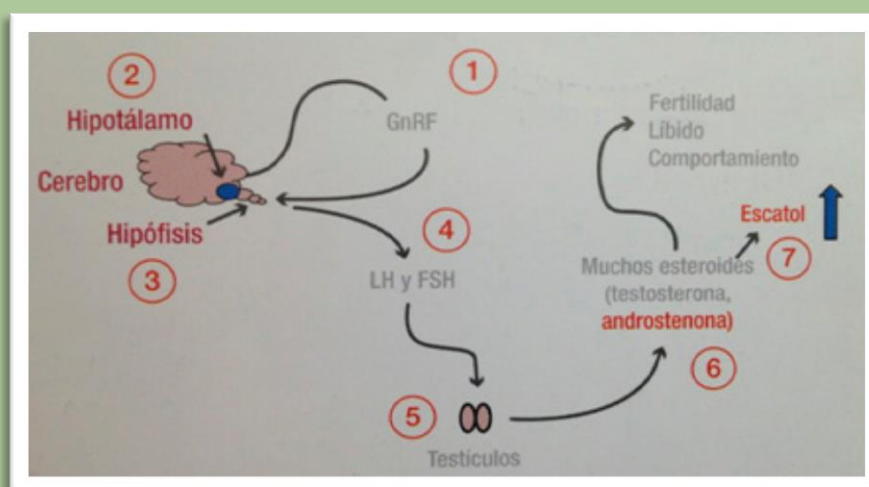


Figura 1. Mecanismo de acción de Improvac® (Zoetis) en cerdos (imágenes cedidas por la compañía Zoetis)

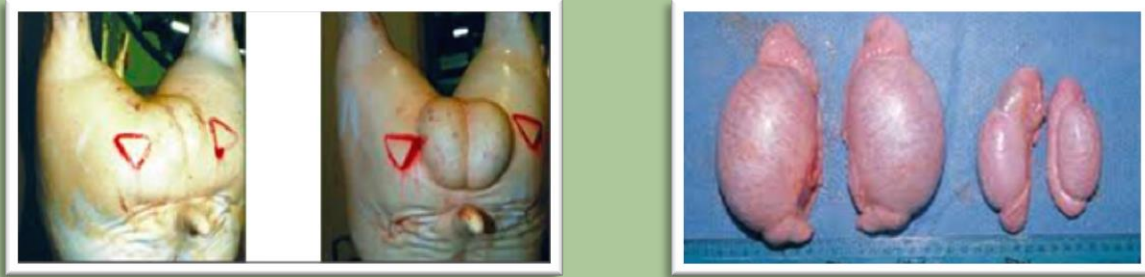


Figura 2. Reducción del desarrollo y función testicular en cerdos (a y b)
(imágenes cedidas por la compañía Zoetis)

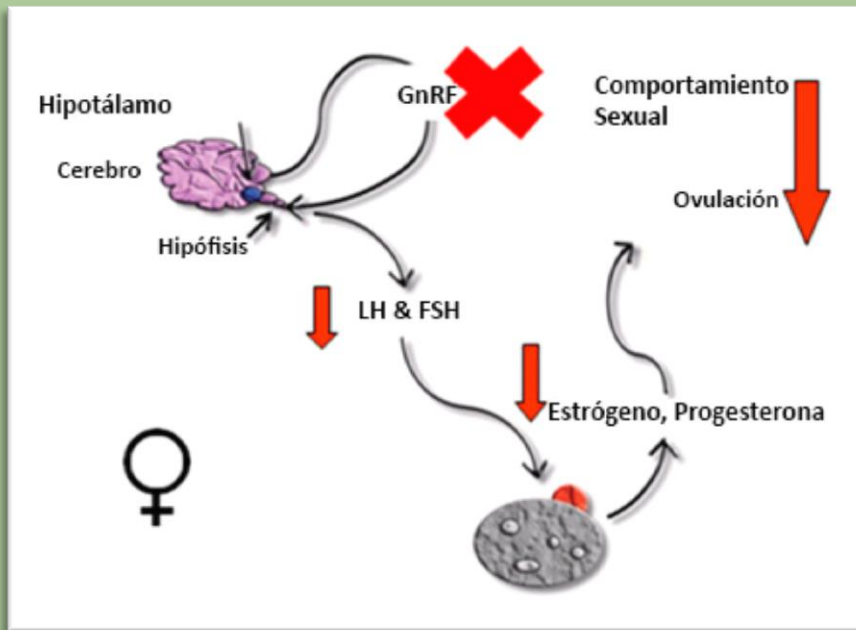


Figura 3. Mecanismo de acción de Vaccinzel® (Zoetis) en cerdas (imágenes cedidas por la compañía Zoetis)



Figura 4. Regresión del tamaño de ovarios y úteros (estado atrófico inmaduro o infantilizados) en cerdas inmunocastradas respecto a hembras enteras (a y b)
(imágenes cedidas por la compañía Zoetis)



Para que la inmunización con Improvac[®] tenga éxito se requieren dos dosis de la vacuna que deben aplicarse por lo menos con 4 semanas de diferencia. La primera dosis vacunal prepara el sistema inmune de los cerdos, sin alterar el tamaño o la función de los testículos. La segunda dosis estimula la respuesta inmune protectora y genera una inhibición de la función de los testículos. Inicialmente, los distintos trabajos realizados sobre inmunocastración se centraron en la respuesta a corto plazo desde la segunda vacunación hasta sacrificio (4-6 semanas) (Dunshea *et al.*, 2001). En el caso de animales sacrificados a una edad avanzada (14-16 meses de vida) retrasar la segunda dosis hasta 4-6 semanas antes del sacrificio genera problemas desde el punto de vista del manejo relacionados con el elevado peso de los animales, así como comportamientos agresivos derivados de la madurez sexual. Dichos problemas se agravan cuando los animales se encuentran encerrados en corrales (Einarsson, 2006). Actualmente, las investigaciones en cerdos intentan conocer la respuesta vacunal a largo plazo. Un mayor plazo de tiempo desde la segunda dosis de la vacuna hasta el sacrificio de los animales es deseable, puesto que permitiría vacunar a cerdos con menos edad y peso, lo que supondría una ventaja para el buen manejo animal. En la literatura científica se pueden encontrar varios artículos donde se han descrito éxitos de vacunación a largo plazo, concretamente con periodos de hasta 22 semanas después de la segunda dosis hasta sacrificio en matadero, en machos (Zamaratskaia *et al.*, 2008a; Einarsson *et al.*, 2009). En esta dirección, se han desarrollado dos protocolos de inmunocastración para cerdas Ibéricas puras criadas en extensivo (Hernández-García *et al.*, 2013) con tres dosis vacunales, uno temprano (prepuberal) y otro tardío (para adultas al principio del acabado), a fin de inhibir la actividad estral hasta el sacrificio, que tiene lugar a altas edades y pesos en los sistemas de explotación extensiva. Las hembras inmunocastradas tardíamente fueron inmunizadas con la versión piloto de Vacsincel[®] (Zoetis) a los 11, 12 y 14 meses de edad y sacrificadas con 16 meses. Mientras que las hembras inmunocastradas prepuberalmente fueron inmunizadas a los 4,5, 5,5 y 9 meses, sacrificándose a los 16 meses, concretamente con periodos de hasta 32 semanas desde la última dosis hasta su sacrificio. En este estudio se observó que los niveles séricos de estradiol y progesterona, así como las medidas y morfología útero-ováricas mostraron ciclicidad en las hembras control (enteras) e



inactividad ovárica en el 100 % de las hembras tratadas. Consecuentemente, ambos protocolos constituyen una eficaz alternativa a la castración quirúrgica de las cerdas Ibéricas criadas en extensivo. Además, el protocolo prepuberal simplifica el manejo al no necesitar separación de sexos pre-tratamiento (Hernández-García *et al.*, 2013). Finalmente, el protocolo descrito para la aplicación del fármaco patentado para hembras y comercializado como Vacsincel[®] (Zoetis), consiste en vacunar a las cerdas a las 18 semanas de edad con 4 dosis de 2 ml con un intervalo de 4 semanas entre las dos primeras y un intervalo de 12 semanas entre la segunda y la tercera dosis. Para mantener la supresión del celo hasta el sacrificio (14 meses) se administra una cuarta dosis 12 semanas después de la tercera. Con esto se pretende inmunizar a las cerdas Ibéricas durante su largo periodo de producción en extensivo.

1.3.1. Ventajas de la inmunocastración

Revisando la literatura científica, se pueden encontrar numerosos artículos donde se evalúa el efecto de la inmunocastración sobre parámetros de calidad de carne fresca, comparando machos inmunocastrados con machos castrados quirúrgicamente y enteros (Pauly *et al.*, 2009; Font i Furnols *et al.*, 2009a; Gispert *et al.*, 2010; Aluwè *et al.*, 2013). Sin embargo, no se encuentran datos científicos acerca del efecto de la inmunocastración de hembras en calidad de carne fresca. Asimismo, el efecto de la inmunocastración en productos curados porcinos ha sido escasamente estudiado (Font i Furnols *et al.*, 2012), y además únicamente evaluado en productos provenientes de machos castrados. Por todo lo descrito, sería de gran interés estudiar el efecto de la inmunocastración en hembras Ibéricas, tanto desde el punto de vista de calidad de carne fresca como de calidad final de productos curados.

Una de las principales ventajas de la inmunocastración es que hasta la segunda dosis vacunal los animales inmunocastrados se suelen comportar como animales enteros, conservando así las ventajas productivas características de animales enteros, tales como: una mejor ganancia de peso, mejores índices de conversión (Morales *et al.*, 2010; Bonneau *et al.*, 1998). Asimismo se ha descrito que la castración quirúrgica de hembras tiene un impacto negativo sobre el bienestar animal y sobre sus índices



productivos, tales como ganancia media diaria, consumo diario e índice de conversión comparados con cerdas inmunocastradas (Oliver *et al.*, 2003; McCauley *et al.*, 2003). Después de la segunda dosis vacunal, los beneficios son similares a los de la cría de animales castrados, es decir, disminución de las agresiones y de los comportamientos sexuales y una reducción en el riesgo de olor sexual (Zamaratskaia *et al.*, 2008a; Baumgartner *et al.*, 2010).

Por otro lado, existen numerosos estudios donde se ha demostrado que los cerdos inmunocastrados muestran un comportamiento menos agresivo (Cronin *et al.*, 2003; Velarde *et al.*, 2007), las montas se reducen (Fabrèga *et al.*, 2010) y se producen casi sin lesiones en la piel comparadas con las de machos enteros (Rydhmer *et al.*, 2010), lo cual es una ventaja desde el punto de vista de bienestar animal. Baumgartner *et al.* (2010) concluyeron en su estudio sobre inmunocastración que "*Desde el punto de vista del bienestar animal la vacunación contra la GnRH de cerdos machos es beneficiosa [...] porque evita el dolor y el estrés " y " no aumenta los problemas de comportamiento durante el periodo de engorde "*".

Desde el punto de vista de calidad de la carne, es importante señalar que aquélla procedente de cerdos inmunocastrados no es diferente a la de la carne de cualquiera de las hembras enteras o machos castrados (Gispert *et al.*, 2010; Morales *et al.*, 2010). Además, la carne de los machos inmunocastrados tiene una mejor aceptación por parte de los consumidores debido a la reducción del olor sexual respecto a machos enteros (Font i Furnols *et al.*, 2008).

En lo que respecta a la seguridad sanitaria, algunos consumidores y productores pueden estar preocupados por los posibles problemas de salud y de seguridad en torno al uso de la vacuna (Van Beirendonck *et al.*, 2010), sin embargo los riesgos reales para la salud y la seguridad humana son mínimos porque:

- La vacuna ha desaparecido casi por completo del cerdo antes de sacrificio.
- Sólo funciona cuando se inyecta en el torrente sanguíneo.



- Una persona tendría que inyectarse intravenosamente dos veces para resultar infértil (Backus *et al.*, 2008).

En este sentido, varios estudios han mostrado como Improvac[®] no tiene actividad intrínseca hormonal o química (Dunshea *et al.*, 2001). Una encuesta reciente de los consumidores belgas encontró que “*inmunocastración no resultó un problema en términos de la aceptación del consumidor*” (Vanhonacker *et al.*, 2009).

A pesar de que en los últimos años se han realizado varios estudios con consumidores sobre la aceptabilidad y las actitudes hacia inmunocastración (Hennesy *et al.*, 2004; Giffin *et al.*, 2008; Allison *et al.*, 2008), todavía existe la necesidad de realizar investigaciones llevadas a cabo con total independencia de los fabricantes de vacunas (Bonneau, 2009).

1.4. PARÁMETROS RELACIONADOS CON LA CALIDAD DE LA CARNE

La composición y estructura de la carne está íntimamente relacionada con su calidad tanto nutritiva como sensorial, de ahí que cada uno de sus componentes tenga un papel fundamental como responsables de la calidad final del producto. Desde el punto de vista nutritivo y en función de la cantidad y calidad de sus componentes químicos, así como en función de su utilización por el organismo, este producto pertenece al grupo básico de “alimentos proteicos”. La carne además es una buena fuente de aminoácidos esenciales, vitaminas (especialmente del grupo B) y minerales, entre los que destaca su alto contenido en hierro (Lucarini *et al.*, 2013). Este mineral tiene una excelente absorción y potencia la asimilación procedente de otras fuentes como las leguminosas o los cereales (Godber, 1994). Otra de las propiedades de la carne es su contenido medio-alto en lípidos, que hace que sea un alimento muy energético.

La composición general de la carne va a presentar variaciones en función de la especie animal de procedencia, lo cual genera cambios en los componentes principales de la misma. En 1991 Lawrie presentó los valores medios para un músculo típico de mamífero adulto, siendo un 75 % de agua, un 19 % de proteína, un 2,5 % de grasa, un



1,65 % de nitrógeno no proteico, un 1,20 % de carbohidratos y un 0,60 % de minerales. Unos años después Gou (1993) se centró en los valores medios de la carne de cerdo, proponiendo un 13,9 % de grasa subcutánea, un 68,2 % de músculo, un 13,8 % de grasa intermuscular y un 8,7 % de hueso.

En 1997 encontramos datos publicados por Belitz y Grosch, donde se presentaba la composición química de la carne para el jamón y la paleta de cerdo (Belitz y Grosch, 1997).

Tabla 1.1. Composición química media de la carne en porcentaje
(g por 100 g totales) (Belitz y Grosch, 1997)

Pieza	Agua	Proteína	Grasa	Cenizas
Paleta	74,9	19,5	4,7	1,1
Jamón	75	20,2	3,6	1,1

1.4.1. pH

En la gran mayoría de mataderos se pueden originar situaciones de estrés previas al sacrificio que provocarán un desarrollo anormal del rigor mortis y la aparición de dos tipos de carnes defectuosas conocidas como carnes DFD y PSE. Las carnes con pHs anómalos serán carnes muy penalizadas tanto sensorial como tecnológicamente y presentarán una calidad final muy reducida. Las carnes DFD ocurren generalmente en vacuno y en menor medida en porcino. Son carnes oscuras, duras y secas (dark, firm and dry). Los animales de los que proceden estas carnes sufren un consumo del glucógeno en los músculos ante situaciones de estrés prolongadas y de carácter moderado, que provocan que la formación de ácido láctico tras el sacrificio sea escasa. Ante esta circunstancia el descenso normal del pH no se produce y el pH final de esta carne será muy elevado, normalmente por encima de 6. Las consecuencias serán el aumento de la capacidad de retención de agua que confiere un color oscuro a la carne. Otras propiedades sensoriales también se ven comprometidas pues a un pH alto aumenta la dureza (Purchas y Aungsupakorn, 1993 y Watanabe *et al.*, 1996) y hay menor desarrollo del aroma (Dransfield 1981, Purchas *et*



al., 1986) e incluso la aparición de sabores anómalos (Fjelkner-Modig y Ruderus, 1983). Las carnes PSE son carnes pálidas, blandas y exudativas y se producen generalmente en cerdos sensibles a las situaciones de estrés y con cierta predisposición genética (Terlouw, 2005). En estas carnes se produce una aceleración del metabolismo con gran acumulación de ácido láctico que provoca un descenso brusco del pH que alcanzará sus valores finales cuando la carne está todavía caliente. La combinación de un pH bajo con una temperatura alta tendrá como consecuencia la desnaturalización de las proteínas musculares que afectará a la calidad de la carne. La alteración proteica afectará a la capacidad de retener agua y a la estructura de la mioglobina (Lawrie, 1998) en los músculos dando carnes pálidas y exudativas.

1.4.2. Agua

El agua en la carne es el componente más abundante, alcanzando entre un 65-75 % dependiendo del tipo de carne. En el caso de la carne de cerdo, el contenido en agua es de aproximadamente 75 % siendo muy similar al de otras especies como pollo y vacuno (Fennema y Grosch, 1992; Primo *et al.*, 1997). A pesar de esto, se encuentra bien integrada formando parte de la estructura cárnica. El agua de la canal se encuentra principalmente en el tejido muscular magro; el tejido adiposo contiene poca agua. Muchas de las propiedades físicas de la carne como el color, la textura y la firmeza dependen en parte de la capacidad que tiene la carne de retener agua libre (Lawrie, 1998), que se conoce como capacidad de retención de agua (CRA), y está muy relacionada con el pH final de la misma. En este sentido, el agua juega un papel fundamental debido a su implicación en las características sensoriales de la carne, lo cual determinará la adquisición final por parte del consumidor. Se ha demostrado que carnes con una baja CRA tienen peores propiedades de aspecto (Kauffman *et al.*, 1978 y Smith y Lesser, 1982), donde se puede observar un detrimento en la frescura y en la textura con grandes pérdidas de agua por exudados, y por tanto la consiguiente pérdida de jugosidad (Wheeler *et al.*, 1990). Como ejemplo de carnes que ven afectada su calidad sensorial por tener un contenido en agua reducido, ya sea por su contenido total o por tener alterada su CRA, son las carnes DFD y PSE mencionadas previamente.



En los productos cárnicos curados, el agua juega un papel muy importante en la calidad, ya que el proceso de curación se basa principalmente en la pérdida gradual de agua hasta alcanzar la merma adecuada en función del producto, ya que no será la misma para jamón, paleta o lomo curado.

1.4.3. Color

El color es una propiedad de la carne que define su aspecto y tiene mucha importancia en la evaluación de su calidad (Klinsman *et al.*, 1994). El aspecto es una propiedad esencial que va a determinar la elección y compra final por parte del consumidor en el mercado (Clydesdale, 1991; Krammer, 1994). El color de la carne depende principalmente de la pigmentación (Forrest *et al.*, 1995). Dentro de los compuestos implicados en la formación del color de la carne, cabe destacar el papel desempeñado por la mioglobina, que forma parte del grupo de proteínas denominadas proteínas solubles. Este pigmento se localiza en el músculo y su importancia no solo radica en ser el principal responsable de la formación del color, sino que, con el deterioro de la carne por envejecimiento o mal almacenamiento se produce un cambio en su estado químico, por lo que se podría considerar como un marcador o índice de calidad. La mioglobina se transforma en metamioglobina (estado oxidado de la mioglobina), lo cual tendrá como consecuencia un cambio en el color de la carne de un rojo brillante a un tono marrón-grisáceo (resultado del aumento de las formas oxidadas). Los consumidores asocian estos tonos con carnes poco frescas que han sido almacenadas durante bastante tiempo y/o en condiciones inadecuadas (Johnson *et al.*, 1990 y Kim *et al.*, 1999). Cuando la metamioglobina alcanza una cantidad superior al 20% de la cantidad total de mioglobina en la superficie de la carne, dos de cada tres consumidores la rechazan (Hood y Riordan, 1973). El pardeamiento de la carne por mal almacenaje provocará su enranciamiento y por lo tanto pérdida de calidad sensorial.

1.4.4. Compuestos nitrogenados

Los compuestos nitrogenados de la carne están constituidos por proteínas, péptidos, aminoácidos libres y otros compuestos. Las proteínas tienen un papel importante en el valor nutritivo pues son uno de los compuestos que se encuentran en



mayor cantidad y por lo tanto pueden ser definidos como macronutrientes. Además, la carne, al poseer una cantidad elevada de proteínas, es una buena fuente de aminoácidos esenciales y portadora de minerales, entre los que destaca el hierro, que formará un complejo proteico con la mioglobina. Este hierro hemínico presenta una mayor absorción que el hierro procedente de otras fuentes alimenticias como los vegetales (Godber, 1994), he aquí la importancia de la carne en nuestra dieta alimenticia.

Las proteínas se pueden clasificar atendiendo a su solubilidad en tres grupos (Primo, 1997; Ordoñez *et al.*, 1998); las proteínas del aparato contráctil (proteínas miofibrilares), las proteínas solubles (proteínas sarcoplasmáticas), y las proteínas insolubles (proteínas del tejido conjuntivo y proteínas de los orgánulos).

Las proteínas van a afectar directamente a las propiedades sensoriales de la carne. Tal es el caso de las proteínas miofibrilares, las cuales son las responsables de la estructura de los músculos y como consecuencia de la carne, por lo que en cierta medida van a definir las características de textura de ésta. Dicha estructura miofibrilar se ve afectada por causa de la disminución del pH post mortem, que provoca la desnaturalización de estas proteínas (Offer, 1991;), lo cual va a desencadenar en una disminución de la capacidad de retención de agua, y por tanto de la jugosidad de la carne. Esta relación entre los cambios post mortem y capacidad de retención de agua ha sido ampliamente estudiado (revisado por Huff-Lonergan and Lonergan, 2005).

Por otro lado tenemos las proteínas solubles, donde podemos destacar la mioglobina. La cantidad de mioglobina muscular se ve afectada por factores genéticos, la alimentación del animal, el tipo de fibra muscular, la especie, el ejercicio, la edad, y además también se ve modificada por el sistema de explotación (intensivo vs extensivo). En cerdos se observa un descenso en el contenido de mioglobina cuando los animales tienen una deficiencia en hierro, también se ha descrito un aumento cuando los animales poseen una deficiencia en vitamina E y por el ejercicio (Belitz y Grosch, 1997). El contenido de mioglobina está relacionado con otro atributo de calidad, el color, ya que es el principal responsable en su formación como se ha



explicado con anterioridad. Este hecho es de suma importancia, puesto que el color es una de las características más valoradas en carne fresca, que va a influenciar en gran medida la elección del producto final por parte del consumidor (Carpenter *et al.*, 2001).

La modificación de la fracción nitrogenada se debe fundamentalmente a la degradación de las proteínas. Las proteínas son degradadas por enzimas proteolíticas, fundamentalmente calpaínas, catepsinas y aminopeptidasas, generándose péptidos y aminoácidos libres (Toldrá *et al.*, 1995, Wood *et al.*, 1996, Goll *et al.*, 1998, Mullen *et al.*, 2000 y Koohmaraie *et al.*, 2002). Dentro de la fracción nitrogenada también se incluyen los aminoácidos y los nucleótidos, compuestos que muchos autores han descrito su relación con el sabor y flavor final de la carne (Aristoy y Toldrá, 1998). Los aminoácidos son generados a partir de la degradación de las proteínas como consecuencia del proceso de curación del jamón, paleta o lomo curado, contribuyendo por lo tanto al desarrollo de su flavor único (Larrea *et al.*, 2006). Las características del sabor de cada aminoácido han sido amplia e individualmente estudiadas. Se ha caracterizado la naturaleza del sabor de los aminoácidos en cinco sabores: dulce, amargo, ácido, salado y umami (Jurado, 2005), cuyo sabor estará determinado por la concentración del aminoácido y por su umbral de reconocimiento (concentración mínima a la que puede ser detectado) (Belitz y Grosch, 1997). Este sabor umami está considerado como la quinta sensación básica de sabor (Conn, 1992).

Además de su implicación en el sabor, los aminoácidos libres también se relacionan con la formación de compuestos volátiles (VOCs) mediante reacciones de Strecker y de Maillard, generándose principalmente compuestos azufrados, nitrogenados y aldehídos ramificados (Mottram, 1998; Jurado *et al.*, 2009). Estos compuestos van a participar activamente en la formación del flavor de la carne (Rossi *et al.*, 1995). En definitiva, el contenido en aminoácidos y nucleótidos en estado libre de la carne podría potenciar su flavor característico.



1.4.5. Fracción lipídica

De entre las características implicadas en la calidad de la carne y los productos cárnicos del cerdo Ibérico, no cabe duda que la cantidad y composición de la grasa es uno de los factores determinantes (Ruiz *et al.*, 2000; Ventanas *et al.*, 2005). La fracción lipídica es la parte más variable en la carne y se encuentra en el tejido adiposo subcutáneo, en el interior de la cavidad corporal o formando parte del tejido intermuscular e intramuscular. Los lípidos están involucrados en diferentes aspectos de calidad de la carne y productos cárnicos, tales como el valor nutricional, características sensoriales y propiedades tecnológicas. Dichos aspectos van a depender de la composición en ácidos grasos de la grasa, que al mismo tiempo se encuentran relacionados con factores como la raza (Barton-Gade *et al.*, 1987; Petró *et al.*, 2004), el sexo (Okrouhla *et al.*, 2006), la edad y el peso (Latorre *et al.*, 2008; Latorre *et al.*, 2009), alimentación (Daza *et al.*, 2010) y la localización anatómica (Kouba y Bonneau, 2009; Fisher *et al.*, 2003).

Durante la fase de crecimiento del animal la grasa se deposita en distintas localizaciones anatómicas, tales como la subcutánea, intermuscular (entre músculos) e intramuscular (dentro del músculo) a distinta velocidad (Fisher *et al.*, 2003; Kouba y Bonneau, 2009). Estos diferentes acúmulos de grasa, no van a tener la misma importancia en todos los productos cárnicos

La grasa subcutánea, también denominada grasa de cobertura, en el cerdo tiene como principal función la de reserva energética, además de participar como aislante térmico. Este tejido se organiza en dos capas, cuya composición en ácidos grasos ha sido ampliamente estudiada desde finales de los 60, donde numerosos autores han puesto de manifiesto las diferencias entre ambas. En este sentido, se ha demostrado que la capa más externa es la más insaturada debido al mayor porcentaje de ácido linoleico (C18:2(ω -6)) principalmente (Monziols *et al.*, 2007). Esta grasa de cobertura va a desempeñar una importante función desde un punto de vista tecnológico, en el caso de algunos productos curados de alta calidad como jamones y



paletas, dado que interviene activamente en los procesos de penetración de sal y de pérdida de agua (López-Bote *et al.*, 1998b).

Por otro lado, merece mención especial la GIM, la cual se acumula entre las fibras musculares constituyendo lo que se conoce como la grasa de infiltración o marmoreado (German, 1990). Esta grasa parece tener una gran relevancia tanto desde un punto de vista nutricional y tecnológico, como desde un punto de vista sensorial. Sería necesario remarcar la repercusión que tiene sobre algunas características sensoriales de los productos curados, tales como la textura, el olor y el flavor, que van a determinar la elección por parte del consumidor final. En este sentido, la GIM juega un papel decisivo tanto en aspectos relacionados con la tecnología del procesado como en las características sensoriales y nutricionales de los productos cárnicos finales (Ventanas y Cava, 2001; Ruiz y López Bote, 2002c; Ventanas *et al.*, 2005).

Desde el punto de vista de la calidad tecnológica, el contenido en GIM es de enorme importancia puesto que determina el grado de penetración al interior del mismo de la sal, aditivos y/o especias empleadas durante el procesado así como el nivel de desecación del producto. De hecho, aquellas piezas que presentan un mayor contenido en GIM necesitan un periodo de maduración más prolongado para conseguir una pérdida de humedad adecuada y una óptima penetración de la sal al interior del producto que garantice la estabilidad microbiológica del mismo. Este efecto se produce como consecuencia del menor coeficiente de difusión tanto de la sal como del agua en la grasa en relación al magro (Palumbo *et al.*, 1977). Además del contenido graso, la consistencia de la grasa va a ser esencial para conseguir una adecuada pérdida de humedad de las piezas durante el procesado (López-Bote *et al.*, 1998b).

Desde el punto de vista sensorial, tanto el contenido como la composición de los lípidos intramusculares están relacionados con atributos sensoriales como la jugosidad (Wood *et al.*, 1986), el aroma y el flavor (Mottram y Edwards, 1983; Cameron *et al.*, 1990; Cameron y Enser, 1991), que son precisamente los de mayor importancia en los productos del cerdo Ibérico (Ruiz *et al.*, 2000; Ruiz *et al.*, 2002b). En



el jamón Ibérico, la GIM visible (veteado o marmoreado) está asociada a la imagen típica de alta calidad del producto (Ventanas *et al.*, 2001), y además se vincula de manera positiva con la jugosidad y el brillo (Ruiz *et al.*, 2000) y negativamente con la fibrosidad, dureza y sequedad (Ruiz *et al.*, 2000). En este contenido de GIM de los cerdos van a influir distintos factores, entre ellos el desarrollo de la canal (Mayoral *et al.*, 1999), la raza del cerdo y su cruzamiento (Berdagué *et al.*, 1993), el sistema de alimentación (Pérez-Palacios *et al.*, 2009), y el estatus o condición reproductiva de los animales, ya que la práctica de la castración también favorece el incremento de la GIM en la carne porcina (Barton-Gade *et al.*, 1987; Fischer y Weiler, 1994; Neuper *et al.*, 1995).

1.4.6. Compuestos volátiles

Los VOCs, generados durante el proceso de secado-maduración (jamones, paletas y lomos), derivan principalmente de la degradación de precursores como los compuestos nitrogenados de bajo peso molecular (aminoácidos y nucleótidos) (Zhao *et al.*, 2005; Mora *et al.*, 2009) y de los ácidos grasos que constituyen la grasa (Elmore *et al.*, 2002; Jurado *et al.*, 2009). Durante el procesado de productos cárnicos curados, la carne adquiere sus propiedades características de aroma y sabor, primeramente debido a cambios ocurridos en proteínas y lípidos (Hernández *et al.*, 1999; Ventanas *et al.*, 2006). Estos cambios se deben a una serie de reacciones bioquímicas (lipólisis) y químicas (oxidación lipídica, reacciones de Maillard y degradación de Strecker de ciertos aminoácidos) (Ruiz *et al.*, 2002a), en las cuales los lípidos juegan un papel fundamental como precursores de un gran número de VOCs, de bajo peso molecular, con importantes repercusiones sobre el flavor único y característico de este tipo de productos (Ruiz *et al.*, 2002a; revisado por Gandemer, 2002). Asimismo, gran parte de los compuestos descritos como olor-activos en jamón Ibérico proceden de las reacciones de oxidación de los ácidos grasos insaturados (Carrapiso *et al.*, 2002). La mayor parte de estos compuestos son liposolubles (Olivares *et al.*, 2009), por lo que se ha encontrado una mayor liberación de volátiles en productos con mayor contenido en lípidos (Guinard *et al.*, 2002; Seuvre *et al.*, 2007). Por lo tanto, sería de gran interés evaluar el posible efecto de la castración en productos cárnicos curados, puesto que la



castración va a generar un incremento del contenido graso en animales castrados respecto a enteros (Serrano *et al.*, 2009), lo cual podría tener consecuencias sobre el perfil de VOCs de las distintas piezas cárnicas en estudio (paletas y lomos). En este sentido, la presencia de algunos VOCs o su concentración están íntimamente relacionados con la calidad sensorial, mediante el aroma y el flavor (Pérez-Palacios *et al.*, 2010; Ventanas *et al.*, 2010). Además, podrían utilizarse como indicadores del tiempo del proceso de curación, y como indicadores del desarrollo del flavor (Jurado *et al.*, 2009).

1.4.7. PTR

A día de hoy se han realizado numerosos estudios sobre el perfil de VOCs del jamón curado, incluyendo jamón Ibérico (García *et al.*, 1991; López *et al.*, 1992; Ruiz *et al.*, 1998a; Ruiz *et al.*, 1999; Timón *et al.*, 2001; Andrés *et al.*, 2002; Ruiz *et al.*, 2002a; Carrapiso *et al.*, 2003; Martín *et al.*, 2006; Jurado *et al.*, 2007; Andrade *et al.*, 2009; Narváez-Rivas *et al.*, 2010). Por el contrario se han llevado a cabo bastantes menos estudios sobre el perfil de VOCs en otro tipo de tipo de productos curados, tales como paletas (Reina *et al.*, 2013) y lomos curados (Muriel *et al.*, 2004b). Además de las técnicas convencionales (cromatografía de gases) de análisis de los VOCs, se han propuesto otras técnicas de análisis que podrían evitar o minimizar los inconvenientes que presentan estas técnicas. En este sentido, se presenta como posible alternativa una técnica basada en la espectrometría de masas por reacción de transferencia de protón (PTR-ToF-MS, del inglés Proton Transfer Reaction Time-of-Flight Mass Spectrometry). La PTR-ToF-MS tiene algunas ventajas en comparación con otras técnicas con una mejor capacidad de identificación (cromatografía de gases - espectrometría de masas), en términos de menor tiempo de análisis (unos pocos segundos), mayor sensibilidad y la inyección directa desde el espacio de cabeza sin etapas de extracción o pre-concentración. Todo esto permite analizar un mayor número de muestras en menos tiempo y reducir los artefactos relacionados con la preparación de muestras. Con todo lo expuesto se podría decir que la PTR-ToF-MS es una técnica rápida, no invasiva y de alta sensibilidad empleada para la detección rápida de compuestos orgánicos volátiles liberados a partir de varias matrices de alimentos.



En esta dirección, podemos encontrar en la literatura numerosos trabajos donde la PTR-MS ha sido aplicada con éxito para la monitorización de los VOCs de distintos sistemas modelo y alimentos, así como para la caracterización de alimentos y sus procesos productivos (Biasioli *et al.*, 2003; Aprea *et al.*, 2006; Biasioli *et al.*, 2006; Aprea *et al.*, 2007a; Gasperi *et al.*, 2009; Fabris *et al.*, 2010; Soukoulis *et al.*, 2010) o la identificación del origen de los alimentos (Aprea *et al.*, 2007b; Araghipour *et al.*, 2008). Asimismo, el estudio realizado por Sánchez del Pulgar *et al.* (2011) fue pionero en la aplicación de la PTR-ToF-MS en el análisis de jamones curados, permitiendo una completa discriminación de las muestras de jamones producidos según diferentes denominaciones de orígenes protegidas (DOP). Después de eso, esta técnica ha sido utilizada para la discriminación de los jamones Ibéricos curados de cerdos engordados con dietas diferentes (Sánchez del Pulgar *et al.*, 2013a), se logró una discriminación casi completa, con mejores resultados que los proporcionados por otras técnicas tales como el análisis mediante nariz electrónica. Además, en un estudio sucesivo la PTR-ToF-MS fue utilizada para evaluar el efecto del factor de crecimiento de tipo insulina II -IGF-II- en las características finales del jamón Ibérico curado (Sánchez del Pulgar *et al.*, 2013b). Otros trabajos analíticos se han dedicado a estudiar el efecto del genotipo de diferentes marcadores genéticos, los cuales están involucrados en el metabolismo de los lípidos (Sánchez del Pulgar *et al.*, 2014). Todos estos resultados indican que la PTR-TOF-MS puede ser utilizada eficazmente como una técnica rápida y un método *fingerprinting* no invasivo, que proporciona una valiosa información analítica. Por lo que, sería interesante evaluar el posible efecto de la castración, sobre el perfil de VOCs en productos cárnicos curados (paletas y lomos), puesto que la castración provoca un incremento del contenido graso en animales castrados en comparación con los enteros (Serrano *et al.*, 2009; Barton-Gade *et al.*, 1987; Fischer y Weiler, 1994; Neuper *et al.*, 1995). La citada PTR-ToF-MS se basa en la espectrometría de masas mediante la ionización química de los de los VOCs presentes en el aire o en el espacio de cabeza de la sustancia a analizar.

La ionización química (IQ) fue introducida por Munson y Field (1966) como un método versátil para la identificación y cuantificación de mezclas de compuestos orgánicos. Al contrario que la ionización electrónica (muy utilizada para la

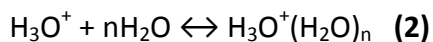


espectrometría de masas de los efluentes cromatográficos –CG-EM–) o la fotoionización, la IQ produce una fragmentación de las moléculas muy baja, por lo que resulta más útil para cuantificar individualmente compuestos que se encuentran formando parte de una mezcla sin separarlos previamente (revisado por Lindinger *et al.*, 1998). La IQ consigue una alta sensibilidad cuando el ratio $i(R^+)/[R]$ (siendo $i(R^+)$ la señal del producto de la ionización y $[R]$ la concentración del compuesto neutro) es alto. Por tanto, en la IQ se consigue una alta sensibilidad cuando el ión primario tiene tiempo suficiente para reaccionar con los compuestos neutros, produciéndose así señales altas de $i(R^+)$ (revisado por Lindinger *et al.*, 1998).

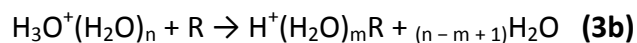
En la PTR-MS se aplica la IQ basada en las reacciones de transferencia de protón, utilizando principalmente H_3O^+ como ión reactivo primario (reacción 1). Para que se produzca la transferencia de protón (TP), la afinidad por los protones (AP) del analito debe ser mayor que la del H_2O (revisado por Lindinger *et al.*, 1998; revisado por Gouw *et al.*, 2003; revisado por Jordan *et al.*, 2009).



El H_2O tiene una AP ($166,5 \text{ kcal mol}^{-1}$) mayor que los constituyentes normales del aire, por lo que el ión H_3O^+ no reacciona con ninguno de ellos. Sin embargo, su AP es menor que la de la mayoría de los compuestos orgánicos volátiles, por lo que la TP ocurre en cada colisión entre el ión primario y el analito. Además de la reacción (1), el ión H_3O^+ (y el ión RH^+) pueden unirse a moléculas de agua presentes en el aire analizado o en el espacio de cabeza:



La presencia de estos iones agrupados podría ser un problema, ya que su presencia dificulta la interpretación de los espectros de masas. No obstante, en PTR-MS su formación se previene aumentando la energía cinética de los iones utilizando un campo eléctrico elevado en el tubo de deriva, donde tiene lugar la reacción. De este modo, dependiendo del campo eléctrico y la presión, podrá haber iones unidos $H_3O^+(H_2O)_n$ y reaccionar así:



Como la AP de los iones agrupados $(\text{H}_2\text{O})_n$ es mayor que la del H_2O , la reacción de transferencia de protón (3a) es más selectiva que (1), por lo que habrá compuestos R que reaccionarán con el ión H_3O^+ pero no con $\text{H}_3\text{O}^+(\text{H}_2\text{O})_n$. Los iones agrupados formados por la reacción (3b) presentan, en la mayoría de los casos, uniones menos fuertes que los iones agrupados $\text{H}_3\text{O}^+(\text{H}_2\text{O})_n$, lo que significa que se disociarán en la cámara de reacción dando lugar a RH^+ y a $\text{RH}^+(\text{H}_2\text{O})$ (revisado por Gouw *et al.*, 2003).

A partir de los datos relativos a la velocidad de reacción de transferencia de protón, la cantidad de iones H_3O^+ y RH^+ que llegan al detector y las condiciones en las que tiene lugar la reacción, se puede calcular la concentración de los compuestos orgánicos volátiles analizados (revisado por Lindinger *et al.*, 1998; revisado por Gouw *et al.*, 2003): en la cámara de reacción (tubo de deriva) la ionización de los VOCs (reacción 1) tiene lugar siguiendo la siguiente ecuación:

$$[\text{RH}^+] = [\text{H}_3\text{O}^+]_0 (1 - e^{-k[\text{R}]t}) \quad (4)$$

que se puede simplificar en:

$$[\text{RH}^+] \approx [\text{H}_3\text{O}^+]_0[\text{R}]kt \quad \text{si} \quad [\text{RH}^+] \ll [\text{H}_3\text{O}^+] \approx [\text{H}_3\text{O}^+]_0 = \text{cte} \quad (5)$$

En (4) y (5) $[\text{RH}^+]$ es la cantidad del analito protonado, $[\text{H}_3\text{O}^+]_0$ es la cantidad de ión primario (en ausencia del analito neutro R), k el coeficiente de velocidad de la reacción y t el tiempo de reacción. Podemos asumir la suposición de (5) porque todas las moléculas con una AP mayor que la del agua reaccionarán con el ión reactivo primario. Los sistemas de detección del aparato de PTR-MS ofrecen velocidades de recuento proporcionales a $[\text{RH}^+]$ y a $[\text{H}_3\text{O}^+]_0$. El tiempo de reacción t puede calcularse en base a los parámetros del aparato (voltaje, presión, temperatura, etc.) y el coeficiente de velocidad de reacción k está disponible en la bibliografía. Conociendo todos los parámetros necesarios en (5), la concentración (en partes por billón por



volumen –ppbv–) de los VOCs en el aire analizado se puede calcular sin la necesidad de utilizar patrones, mediante la ecuación (6), donde C es una constante que incluye k y t:

$$[\text{Concentración}]_{\text{ppbv}} = C \times [\text{RH}^+]/[\text{H}_3\text{O}^+] \quad (6)$$

El aparato de PTR-MS, como se puede ver en la figura 5, consta de 3 partes principales: una fuente de ión primario, una cámara de reacción (llamada tubo de deriva) y un detector de espectro de masas.

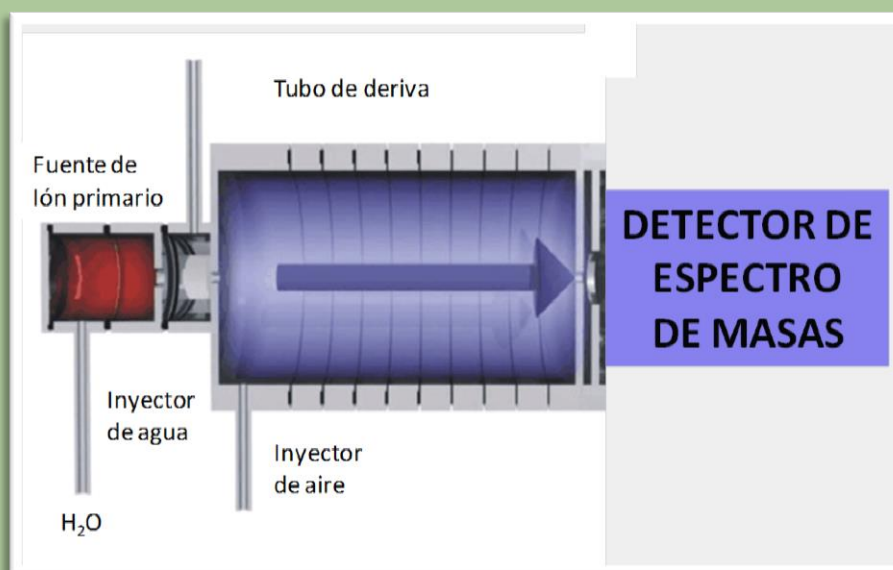


Figura 5. Esquema del aparato de PTR-MS (fuente original: IONICON Analytic, modificada)

En la fuente de ion primario se produce H_3O^+ con alto nivel de pureza (>99%), a partir de vapor de agua, en el cátodo hueco de descarga. Los iones reactivos primarios pasan a continuación a la cámara de reacción (tubo de deriva), a la que también accede el aire a analizar a través del inyector de aire. En este lugar es donde se produce la reacción de transferencia de protón, bajo unas condiciones de presión y campo eléctrico estrictamente controladas (alto voltaje, que puede ser superior a los 600V, y baja presión, controlada entre 2,2 y 2,3 mbar). Los iones formados por las distintas reacciones de transferencia de protón explicadas anteriormente (principalmente mediante la reacción 1) pasan al detector de espectro de masas, que puede ser un detector de cuadrupolo o un detector de alta resolución de tiempo de vuelo (ToF, del inglés *Time of Flight*) (figura 6 a y 6 b respectivamente).

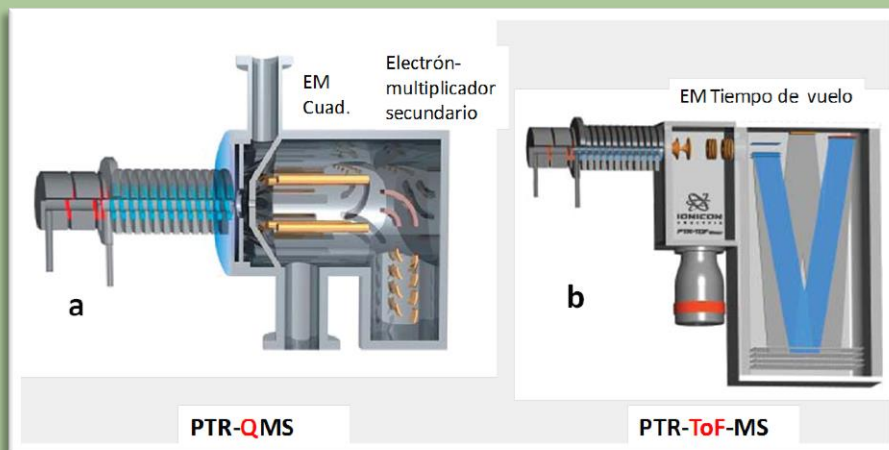


Figura 6. Espectrómetros de masas empleados para detectar los iones producidos en el tubo de deriva (a: EM de cuadrupolo (QMS); b: EM de tiempo de vuelo (ToF-MS)) (fuente original: IONICON Analytic, modificada)

El detector de espectro de masas de cuadrupolo realiza una caracterización de la masa nominal (sin decimales) del ion detectado, mientras que el detector de masas de tiempo de vuelo permite conocer hasta la cuarta cifra decimal de la masa del ion (figura 7). Este último tipo de detector permite una estimación mucho más fiable de la fórmula molecular del ion problema, con lo que la identificación de los compuestos presentes en el gas analizado es más precisa. Como se puede ver en el ejemplo de la figura 7, con un detector de masas de cuadrupolo toda la señal recogida es atribuida al ión de masa 43, mientras que el detector de tiempo de vuelo muestra que la abundancia correspondiente a la masa nominal 43 corresponde al compuesto ionizado de masa 43,018 y al compuesto ionizado de masa 43,055.

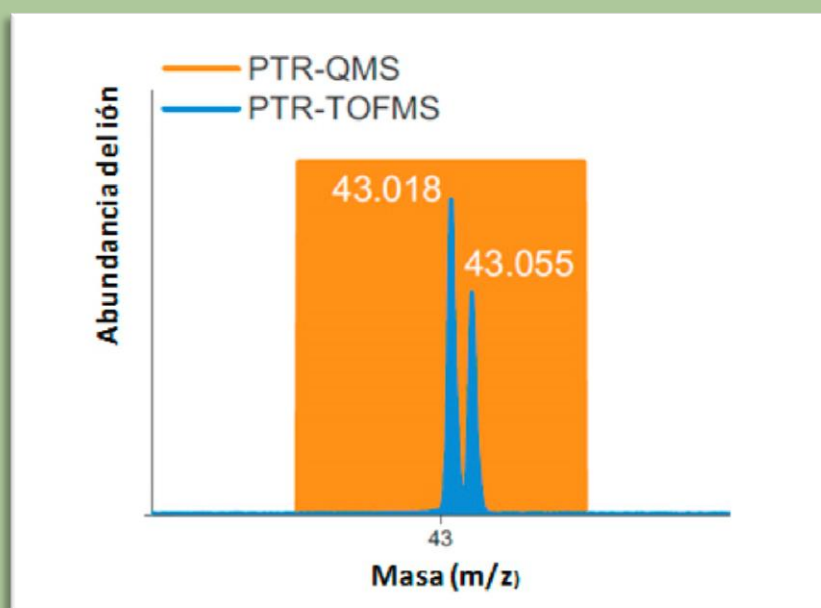


Figura 7. Diferencia en la señal producida por el detector de espectro de masas de cuadrupolo (QMS) y el detector de espectro de masas de tiempo de vuelo (ToF-MS) (fuente original: IONICON Analytic, modificada)



1.4.8. Evaluación sensorial de la calidad de la carne

A día de hoy, la calidad sensorial de los productos cárnicos es la cualidad más destacada, de la cual depende la decisión final del consumidor. En este sentido, el hombre no sólo consume un producto cárnico por su valor nutritivo, sino por las percepciones sensoriales y placenteras que se generan durante su ingesta. Desde hace algunas décadas se ha intentado cuantificar las sensaciones percibidas por los consumidores al degustar un alimento. Para lo cual se ha desarrollado una ciencia que se denomina evaluación sensorial.

En la actualidad, y ante la falta de métodos rápidos analíticos utilizables en la propia industria, la evaluación sensorial se ha convertido en una herramienta fundamental para conocer las características de un producto y cómo serán percibidas y valoradas por el consumidor. La evaluación sensorial permite establecer los aspectos positivos o negativos, de forma que el productor puede adaptar el procesado en función de aquellas características que condicionan la elección por parte del consumidor. Además, el estudio de la calidad sensorial es importante para poder establecer relaciones conjuntas con análisis físico-químicos menos invasivos y laboriosos, permitiéndonos una evaluación rápida y objetiva de un determinado atributo sensorial.

La evaluación sensorial debe englobar los aspectos más relevantes de los diferentes alimentos, siendo estos los que condicionan la aceptación o el rechazo por parte del consumidor. Estas características son las relacionadas con el aspecto, la textura, el olor, el sabor y el flavor, las cuales muestran una relación más o menos marcada con la calidad que el consumidor percibe.

Desde el punto de vista de las características sensoriales, el aspecto de la carne y productos cárnicos en general, y de los distintos derivados del cerdo Ibérico en particular, está en parte condicionado por el contenido, la disposición y el tamaño de las vetas que conforman la GIM o de infiltración. Uno de los atributos sensoriales relacionados con el aspecto, que destaca en los productos derivados del cerdo Ibérico, es el brillo de la superficie de corte, consecuencia de la elevada proporción de GIM y



de la fluidez de la misma (Ruiz *et al.*, 2000). Otro de los atributos sensoriales más característicos de los productos del cerdo Ibérico es el elevado grado de veteadado o marmoreado. Este veteadado ha sido vinculado directamente con el contenido de GIM en productos Ibéricos curados (Muriel *et al.*, 2004a; Ruiz *et al.*, 2000), además es considerado como un índice de alta calidad en este tipo de producto por los consumidores.

La textura es un atributo sensorial muy complejo, que abarca las impresiones que ocurren cuando el alimento contacta con la superficie de los dedos (textura táctil), la lengua y los dientes (textura en boca). Las características de textura de los productos curados (jamón, paleta y lomo) se deben, en parte al proceso de elaboración al que están sometidos, y a las características de la materia prima utilizada para su elaboración. Uno de los principales defectos de textura en los productos curados es la textura blanda y/o pastosa (Morales *et al.*, 2008a; García-Rey *et al.*, 2004). Está relacionado con otras propiedades, como un pH elevado o demasiado bajo de la materia prima (Sánchez, 2005), un bajo contenido de sal, la presencia de GIM e intermuscular que dificulte el salado y secado, o una temperatura de procesado elevada (Morales *et al.*, 2008b). De los atributos sensoriales relacionados con la textura, la jugosidad es el que influye en mayor medida sobre la aceptabilidad de los productos del cerdo Ibérico por los consumidores (Ruiz *et al.*, 2002b). Dos parámetros físico-químicos parecen determinar la jugosidad, uno es el contenido acuoso y el otro es el contenido en GIM del alimento. En los productos curados, es la GIM la que presenta una mayor importancia, puesto que durante el procesado existe una considerable deshidratación de las piezas cárnicas, de forma que al final del mismo el contenido acuoso se ha reducido notablemente. La contribución de la GIM en la percepción de la jugosidad se debe a la estimulación de la secreción de saliva durante la masticación (Ruiz *et al.*, 2002b., Cava *et al.*, 1999, Carrapiso *et al.*, 2002), bien de forma directa o bien como consecuencia de la liberación durante la masticación de gran cantidad de sustancias aromáticas presentes en la grasa. Por otro lado, cuando el contenido en GIM es elevado, existe una mayor persistencia de la sensación de jugosidad en la cavidad oral tras la masticación, al contribuir a la lubricación del alimento (Dikeman, 1987).



Asimismo, un mayor contenido de GIM podría proporcionar mejores características para el procesado de productos cárnicos (Gandemer, 2002). Este contenido elevado de GIM va a dar lugar a productos curados de alta calidad sensorial. Permitiendo largos periodos de maduración y secado, debido a retrasos en las pérdidas del contenido acuoso en las piezas, todo esto va a dar lugar a productos curados tiernos y jugosos, y al desarrollo de un fuerte y peculiar flavor (García *et al.*, 1991 y Antequera *et al.*, 1994), muy apreciado por parte de los consumidores. Por otro lado, la percepción sensorial relacionada con el olor es uno de los atributos sensoriales más influyentes sobre la aceptabilidad de los productos curados de cerdo ibérico (Ruiz *et al.*, 2002b). Por todo esto, y como ya se ha mencionado previamente que la castración produce un incremento en el contenido de GIM de los animales (Barton-Gade *et al.*, 1987; Fischer y Weiler, 1994; Neuper *et al.*, 1995), sería interesante estudiar el efecto de esta en la calidad sensorial de productos cárnicos curados.



21

Planteamiento y Objetivos



2. PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS

Desde sus inicios el grupo de “Tecnología y Calidad de los Alimentos (TECAL)” de la UEX centra su investigación sobre calidad de la carne y productos cárnicos. Dentro de esta línea general se presta especial atención a los diversos factores que afectan al animal y como consecuencia repercuten en la composición y calidad de su carne y derivados. Así durante la trayectoria del grupo se ha estudiado el efecto de la especie, la raza, la alimentación, el manejo, etc.

Está comprobado que la tecnología de los alimentos de origen animal está íntimamente ligada a la producción y el manejo de los animales de abasto. Por esta razón cualquier factor que afecte a la zootecnia tendrá su repercusión más o menos evidente en el producto final. Uno de los objetivos de la zootecnia ha sido siempre el bienestar animal pero, en los últimos tiempos una mayor sensibilidad de los consumidores y una mayor información de los mismos, provoca que estos sean especialmente exigentes con aquellas prácticas productivas que puedan menoscabar este bienestar animal.

En la producción de ganado porcino una de las prácticas más habituales ha sido la castración de los machos para facilitar su manejo y para evitar el “olor sexual”, olor desagradable que presentaban en su carne y que suponía el rechazo por parte de los consumidores. También en el caso de las hembras y por cuestiones de manejo se realizaba la castración o más propiamente dicho la esterilización. En el caso de las hembras de porcino ibérico, esta práctica se generalizaba debido a su particular sistema productivo en régimen de montanera con los animales en libertad con la posibilidad de ser cubiertos por jabalíes. En ambos casos esta práctica se realizaba mediante cirugía con el consiguiente sufrimiento animal.

Actualmente, los avances en la industria farmacéutica han permitido la obtención de “vacunas” que afectan al desarrollo gonadal y a sus productos obteniendo efectos similares a la castración quirúrgica, garantizando al mismo tiempo el bienestar animal. En este sentido, existen ya numerosos estudios que muestran las ventajas de estos tratamientos tanto para el manejo animal como para la calidad de



sus productos. No obstante la inmensa mayoría de estos estudios se han realizado en machos y hay una ausencia prácticamente total de estudios en hembras.

Debido a las connotaciones del sistema productivo del cerdo ibérico tan importante para la región extremeña y a los problemas de manejo que como se ha mencionado antes pueden tener sus hembras, hemos considerado muy interesante realizar un estudio sobre los efectos de su esterilización sobre la calidad de su carne.

Por otra parte, dado que una de las líneas de investigación de nuestro grupo es el estudio de los compuestos volátiles y su influencia sobre el aroma de la carne, una de las características sensoriales más relacionada con la calidad, hemos prestado especial atención al estudio de estos compuestos y a la utilización de nuevas técnicas para el mismo.

Atendiendo a los antecedentes expuestos, esta tesis se planteó con los siguientes

OBJETIVOS:

1. Conocer la influencia de la castración de hembras porcinas sobre la calidad de carne fresca.
2. Conocer la influencia de la castración de hembras porcinas sobre la calidad de productos cárnicos (paletas y lomos).
3. Establecer la utilidad de la técnica PTR-ToF-MS (proton transfer reaction time of flight mass spectrometry) de análisis de compuestos volátiles en la diferenciación de los lotes en estudio.

3

Materiales y Métodos



3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MATERIAL BIOLÓGICO

3.1.1. Naturaleza de las muestras

Para este estudio se utilizaron lomos frescos, lomos curados y paletas curadas procedentes de hembras porcinas Ibéricas × Duroc. Nuestros animales pertenecían a un estudio inicial de producción animal, compuesto por 192 hembras Ibéricas x Duroc (64 hembras castradas quirúrgicamente, 64 hembras inmunocastradas y 64 hembras enteras) (Gómez-Fernández *et al.*, 2013), las cuales entraron a cebo con 110 días de edad y una media de 45 kg. Estos 192 animales experimentales (Gómez-Fernández *et al.*, 2013), se utilizaron para evaluar el efecto de la inmunocastración con Improvac® en el centro de prueba de porcino ITACYL (Hontalbilla, Segovia). Los animales fueron identificados y clasificados en tres grupos con la misma media de peso: hembras inmunocastradas (IF), hembras castradas quirúrgicamente (SF) y hembras enteras (EF). La alimentación recibida fue la misma para todas las hembras desde el inicio al final del periodo de cebo (Gómez-Fernández *et al.*, 2013). La inmunocastración en las hembras experimentales se realizó mediante dos dosis vacunales, con 4 semanas de diferencia entre ambas siguiendo las instrucciones establecidas por el fabricante (Zoetis). Dicho protocolo vacunal fue similar al utilizado previamente con éxito en machos (Zamaratskaia *et al.*, 2008a & Einarsson *et al.*, 2009), ya que los nuevos protocolos descritos para hembras en la introducción de esta tesis doctoral (Hernandez *et al.*, 2013) no estaban aún disponibles al inicio del presente estudio. Las dosis de las hembras inmunocastradas fueron inyectadas a los 60 kg (18 semanas de edad) y a los 82,4 kg (22 semanas de edad), mientras que la castración quirúrgica de las hembras se llevó a cabo cercana al destete. El tiempo transcurrido desde la segunda dosis con Improvac® hasta sacrificio fue de 14,5 semanas (Gómez-Fernández *et al.*, 2013), puesto que previamente se habían descrito éxitos vacunales en machos de hasta 22 semanas (long-term) desde la última dosis vacunal (Zamaratskaia *et al.*, 2008a & Einarsson *et al.*, 2009). Los 192 animales experimentales (64 SF, 64 IF, 64 EF) fueron sacrificados en



el matadero de MAZAFRA (Zafra, España) (Figura 1), mediante aturdimiento con CO₂ y desangramiento con un peso vivo de 160-170 kg a los 8,2 meses de edad.



Figura 1. Canales de los animales sacrificados en el matadero

3.1.2. Tratamiento de las muestras: lomo fresco

La toma de muestra en el caso del lomo fresco (*Longissimus dorsi*) fue realizada aleatoriamente de cada uno de los lotes descritos (64 SF, 64 IF, 64 EF) (Gómez-Fernández *et al.*, 2013), en la sala de despiece de Argal S.A. (Fregenal de la Sierra, España) (Figura 2). Específicamente la toma de muestras consistió en la recepción de 36 lomos frescos (*Longissimus dorsi*) de la parte derecha de cada canal de las hembras en estudio, seleccionados aleatoriamente de 36 animales diferentes; 12 muestras pertenecientes a cada uno de los tres lotes descritos previamente (n = 12) (Gómez-Fernández *et al.*, 2013). Los lomos frescos fueron debidamente identificados y monitorizados para su trazabilidad. Además se seleccionó la muestra analítica de la región central del músculo *Longissimus dorsi*, en base a estudios previos en los que se demuestra que es la zona de mayor homogeneidad muscular e infiltración grasa (Ventanas, 2006). La muestra se almacenó envasada al vacío y congelada a -80°C.



Figura 2. Lomos frescos en la sala de despiece

3.1.3. Tratamiento de las muestras: lomo curado

El muestreo de lomos curados se realizó usando 18 animales, tomados aleatoriamente de los tres lotes experimentales iniciales (64 SF, 64 IF, 64 EF) (Gómez-Fernández *et al.*, 2013), en la sala de despiece de Argal S.A. (Fregenal de la Sierra, España): 6 hembras inmunocastradas (IF) (n = 6), 6 hembras castradas (SC) (n = 6), y 6 hembras enteras (EF) (n = 6). El procesado de los 18 lomos frescos de la parte derecha de las canales de las hembras en estudio, tomados de cada uno de los 18 animales experimentales, fue llevado a cabo en la planta comercial La Teresina (Guijuelo, España). Estos 18 lomos curados se hicieron usando la mitad craneal del músculo *Longissimus dorsi*, denominada *Longissimus thoracis* (Kauffman *et al.*, 1990) (Figura 3). El proceso de maduración fue de 65 días bajo las condiciones habituales de procesado en este tipo de producto. Los lomos curados fueron debidamente identificados y monitorizados para su trazabilidad. Las muestras analíticas fueron seleccionadas de la región craneal de cada lomo. Posteriormente se almacenó en refrigeración hasta su posterior análisis.



Figura 3. Lomos curados, mitad craneal (*Longissimus thoracis*)



3.1.4. Tratamiento de las muestras: paleta curada

La toma de muestras de paletas curadas se realizó usando 18 animales, tomados aleatoriamente de los tres lotes experimentales iniciales (64 SF, 64 IF, 64 EF) (Gómez-Fernández *et al.*, 2013), en la sala de despiece de Argal S.A. (Fregenal de la Sierra, España): 6 hembras inmunocastradas (IF) (n = 6), 6 hembras castradas (SC) (n = 6), y 6 hembras enteras (EF) (n = 6). El procesado de las 18 paletas curadas de la parte derecha de las canales de las hembras en estudio, tomadas de cada uno de los 18 animales, fue llevado a cabo en la industria Argal S.A. (Fregenal de la Sierra, España). El proceso de maduración fue de 14 meses bajo las condiciones habituales de procesado en este tipo de producto. Las paletas curadas fueron debidamente identificadas y monitorizadas para su trazabilidad. Antes de la toma de muestras las paletas curadas fueron deshuesadas y empaquetadas al vacío en la empresa Argal S.A. (Fregenal de la Sierra, España), posteriormente fueron loncheadas mediante una loncheadora industrial en la empresa Lony-pack S.A. (Guijuelo, España) y empaquetadas al vacío en bandejas de plástico de 100 g (Figura 4). Las muestras se almacenaron en refrigeración hasta su posterior análisis.



Figura 4. Paletas curadas loncheadas y envasadas al vacío

3.2. MÉTODOS DE ANÁLISIS

Los métodos utilizados se describirán en orden en el que se realizaron sobre las muestras.



3.2.1. Características de la canal

Los pesos de jamones, paletas y lomos se tomaron 5 horas post-mortem mediante procedimientos rutinarios de mataderos. El espesor de la grasa dorsal (BFT) se midió en la grasa subcutánea de la canal a la altura de la 3^a- 4^a costilla, mientras que el espesor de la grasa de cobertura del jamón (HFT) se midió en la grasa subcutánea del jamón a la altura del músculo *Gluteus medius*. Los rendimientos de jamones, paletas y lomos se calcularon con respecto al peso de la canal.

3.2.2. Contenido de humedad

La humedad se determinó utilizando el método oficial de la AOAC, 2000 (Association of Official Analytical Chemists). Para ello se mezcló una cantidad de muestra conocida (5 g) con arena de mar previamente desecada y etanol sobre una cápsula de porcelana. La mezcla pesada se introdujo en una estufa a 102 °C hasta alcanzar un peso constante (4-5 horas). Finalmente las cápsulas se introdujeron en un desecador con gel de sílice hasta alcanzar la temperatura ambiente. El porcentaje de humedad se determinó por diferencia de pesada y se expresó en porcentaje de humedad sobre el peso total de la muestra. Los análisis de cada muestra se realizaron por duplicado.

3.2.3. Capacidad de retención de agua

La capacidad de retención de agua fue medida como el porcentaje de agua libre siguiendo el método propuesto por Irie & Swatland (1992). Los análisis de cada muestra se realizaron por duplicado.

3.2.4. Contenido de proteínas

El análisis del contenido de proteínas se llevó a cabo según el método de Kjeldahl (AOAC, 2000) que se basa en la determinación de nitrógeno total. Para ello, utilizando un digestor Büchi (MOD II-425), se sometió a digestión 1 g de muestra con 25 ml de ácido sulfúrico y 15 g de catalizador Kjeldahl. El resultado de la digestión se destiló con un destilador Büchi (MOD 426) utilizando 100 ml de NaOH al 30 % y 100 ml de agua destilada y recogiendo sobre 100 ml de ácido bórico al 2 %. Finalmente el



contenido de nitrógeno total se valoró por titulación con HCl 0,1 N utilizando como indicador el rojo de metilo-azul de metileno. Para conocer la cantidad de proteínas a partir del contenido de nitrógeno total se multiplicó el resultado por un factor (6.25). El contenido final en proteínas fue calculado en porcentaje sobre el peso total de la muestra. Los análisis de cada muestra se realizaron por duplicado.

3.2.5. Contenido en grasa intramuscular

La extracción y cuantificación de la GIM se realizó utilizando el método descrito por Folch, Lees, & Stanley (1957). Se homogeneizaron 5 g de muestra con 100 ml de una mezcla de cloroformo:metanol (2:1) en un Sorvall Omnimixer (MOD. 17106) durante 2 min. La mezcla se centrifugó durante 10 min a 3000 rpm (revoluciones por minuto) y el sobrenadante se filtró sobre un embudo de decantación. Posteriormente, se le añadieron 25 ml de agua destilada al filtrado, la nueva mezcla se agitó vigorosamente y se volvió a homogeneizar durante 2 min para que todas las fases se mezclaran bien. Después se procedió a la separación del sistema bifásico (agua-grasa) mediante una nueva centrifugación durante 10 min a 3000 rpm. Se retiró la fase acuosa (sobrenadante) con una pipeta Pasteur, y el extracto lipídico se filtró a matraces Erlenmeyer de 250 ml, previamente desecados y pesados, a través de sulfato sódico anhidro para eliminar los restos de agua. El disolvente se evaporó en un rotavapor a 45 °C y se completó su eliminación con corriente de nitrógeno. Una vez evaporado el cloroformo, los matraces se introdujeron en un desecador con gel de sílice a temperatura ambiente hasta obtener un peso constante y se calculó el contenido en grasa por diferencia de pesadas. El contenido de GIM se expresó en porcentaje sobre el peso total de la muestra. Los análisis de cada muestra se realizaron por duplicado.

3.2.6. Color instrumental

Para realizar las medidas del color instrumental se utilizó un colorímetro portátil Chroma Meter CR-300 (Minolta Camera Co., Japón), con un área de medición de 8 mm de diámetro, una lámpara de xenón para la iluminación difusa de la muestra y un iluminante CIE tipo D65. Las medidas de reflectancia se recogieron en un ángulo de visión de 0°. El equipo fue calibrado mediante un patrón de calibración. Las



mediciones se hicieron en el espacio de color CIE $L^*a^*b^*$, obteniéndose las coordenadas de cromaticidad L^* (luminosidad), a^* (eje rojo-verde) y b^* (eje amarillo-azul). Se realizaron 2 medidas sobre distintos puntos de la superficie de cada muestra.

3.2.7. Color químico. Determinación de pigmentos relacionados con el color: mioglobina

Para la extracción y cuantificación del contenido de mioglobina y hierro hemínico se empleó el método descrito por Hornsey (1956) y modificado por Gorospe *et al.*, (1986).

Se partió de 10 g de muestra previamente picada que se introdujo en un matraz erlenmeyer de boca esmerilada, al que se añadieron 40 ml de acetona, 4 ml de agua (2 ml para un 80 % de humedad) y 1 ml de ácido clorhídrico al 35 %. La mezcla se homogeneizó en un Sorvall Omnimixer (MOD. 17106) durante dos minutos aproximadamente, se tapó y se mantuvo en oscuridad durante 12 horas a temperatura de refrigeración.

Transcurrido ese tiempo, la mezcla se filtró sobre papel Whatman nº 5 y la disolución restante se introdujo en cubetas de cuarzo de 1 cm de lado y se midió el contenido de pigmentos con un espectrofotómetro U-2000 (UV VIS SCANNING SPECTROPHOTOMETER, HITACHI, JAPÓN) a una longitud de onda de 640 nm.

Para realizar la calibración del equipo y restar la absorbancia de los reactivos utilizados se utilizó un blanco que se preparó con las mismas proporciones de reactivos pero sin añadir la muestra. Los análisis de cada muestra se realizaron por duplicado.

3.2.8. Determinación del contenido de cloruros

Para la preparación del extracto se pesaron 10 g de muestra sobre un erlenmeyer de boca esmerilada de 250 ml, se añadieron 150 ml de etanol al 40 % y se tuvieron en agitación durante una hora a 100° C aproximadamente. La mezcla se filtró sobre un matraz aforado de 250 ml y se añadieron consecutivamente 5 ml de cada uno de los reactivos Carrez (solución acuosa de ferrocianuro potásico al 15 % y solución acuosa de acetato de zinc al 30 %). La mezcla se enrasó con etanol al 40 % y se dejó en



reposo durante 10 min. Pasado el tiempo se centrifugó a 3000 rpm durante 5 min y se filtró sobre otro matraz aforado de 200 ml, enrasando con agua destilada. El contenido del matraz se trasvasó a un vaso de precipitados de 500 ml, se colocó en una placa calefactora y se evaporó hasta que quedaron unos 100 ml del contenido. Se dejó enfriar y se enrasó con agua destilada sobre un matraz aforado de 200 ml.

El contenido en cloruro sódico del extracto se determinó mediante el método Volhard (AOAC, 2000). Para ello se introdujeron 10 ml del extracto en un erlenmeyer de 250 ml y se le añadió 10 ml de solución de nitrato de plata 0,1 N, 1 ml de solución de ácido nítrico concentrado, 1 ml de solución de sulfato férrico al 4 % y 50 ml de agua destilada. La mezcla se dejó en reposo durante 10 min en oscuridad. El exceso de plata se valoró con una solución de sulfocianuro potásico 0,1 N.

Los extractos se prepararon por duplicado para cada muestra y se realizaron dos valoraciones por extracto.

3.2.9. Cuantificación de productos derivados de la oxidación lipídica

La cuantificación de los productos derivados de la oxidación lipídica se llevó a cabo mediante la técnica de extracción de sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico (TBA) y posterior análisis mediante espectrofotometría de acuerdo con el método de Salih *et al.*, (1987).

Para ello se homogeneizaron 2,5 g de muestra previamente picada con 7,5 ml de ácido perclórico y 0,25 ml de BHT (Butilato hidroxitolueno) con un politrón (A/3.440 FUNGILAB). La mezcla resultante se centrifugó durante 10 min a 3000 rpm, se filtró sobre un matraz aforado de 10 ml y se enrasó con agua destilada. Se tomaron 2 ml del extracto y se mezclaron con 2 ml de una disolución de TBA 0,02 M sobre tubos de ensayo con tapón de rosca. Los tubos se cerraron y se introdujeron en un baño previamente calentado a 90 °C durante 30 min. Finalmente los tubos se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se centrifugaron durante 5 min a 3000 rpm. Los extractos se introdujeron en cubetas de plástico de 1 cm de lado y se midieron con un espectrofotómetro U-2000 (UV VIS SCANNING SPECTROPHOTOMETER, HITACHI, JAPÓN) a una longitud de onda de 532 nm.



Para la cuantificación se preparó una curva de calibrado utilizando distintas concentraciones de una solución de 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP) (0.2268 g) en 1 litro preparada con ácido perclórico al 3,86 %, sometida a las mismas condiciones que la muestra. Los valores de TBA se calcularon a partir de la curva de calibrado y se expresaron como mg de malondialdehído por kg de muestra. Los análisis de cada muestra se realizaron por duplicado.

3.2.10. Determinación de pH

El pH se determinó mediante electrometría de electrodo selectivo (pH metro). El valor del pH fue medido a las 24 h post-mortem en el músculo *Longissimus dorsi*, para ello se utilizó un pH-metro CRISON mod. 507 (Crison Instruments, Barcelona, España), el cual fue calibrado previamente con dos disoluciones tampón, una de pH 4 y otra de pH 7. Se realizaron 2 medidas de pH por muestra.

3.2.11. Determinación del perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular

3.2.11.1. Metilación de los ácidos grasos

Para la preparación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos se utilizó el método descrito por Sandler y Karo, (1992). Tras la evaporación se añadió 1 ml de metilato sódico, la mezcla se agitó y se introdujo en la estufa a 80 °C durante 30 min. Después se dejó enfriar, se añadió 1 ml de sulfúrico en metanol al 5 % y se volvió a introducir en la estufa a 80 °C durante 30 minutos más. Se dejó la mezcla enfriar y se añadieron 1 ml de hexano y 1 ml de cloruro sódico sobresaturado agitando manualmente entre cada adición. La mezcla se centrifugó 2 min a 4000 rpm y se extrajo la capa más externa (hexano) con ayuda de una pipeta pasteur sobre un vial de 1,5 ml, se evaporó el disolvente con corriente de nitrógeno y se rediluyó con hexano hasta un volumen conocido de 1 ml.

3.2.11.2. Análisis cromatográfico

La separación y cuantificación de los ácidos grasos de cada una de las fracciones se realizó mediante un cromatógrafo de gases HP 6890N, equipado con un detector on-column y una columna capilar de polietilenglicol (60 m x 0,32 mm x 0,25 µl)



Supelcowax 10 (Supelco, EEUU). La detección de los compuestos se realizó mediante un detector de ionización de llama (FID). Las condiciones cromatográficas fueron:

- Flujo de gas portador (N₂) 0,7 ml/min.
- Temperatura del horno (isoterma) 180 °C.
- Temperatura del inyector 250 °C.
- Temperatura del detector 250 °C.

La identificación de los ácidos grasos se llevó a cabo por comparación de los tiempos de retención de las muestras con patrones sometidos a las mismas condiciones cromatográficas.

El contenido total de cada ácido graso se expresó en g por 100 g de grasa, y fue calculado como porcentaje de área cromatográfica con respecto a la suma del área del total de ácidos grasos detectados.

3.2.12. Análisis de compuestos volátiles mediante PTR-ToF-MS

3.2.12.1. Preparación de las muestras para PTR-ToF-MS

Las muestras se prepararon siguiendo el procedimiento descrito por Sánchez del Pulgar *et al.* (2011) con ligeras modificaciones. Después de la eliminación de la grasa subcutánea, se cortó un cubo de 1cm³ de carne (1,2 g aprox.) de 3 lonchas del músculo *Biceps brachii* de cada una de las muestras de paletas curadas. Este procedimiento se repitió tres veces a partir de tres bandejas diferentes de cada una de las paletas curadas. En el caso del lomo curado se desechó la primera loncha (aproximadamente 1,5 cm) y luego se cortó una segunda loncha de 1 cm, de la cual se obtuvieron tres cubos de carne de 1cm³ (3 repeticiones) y 1,2 g aproximadamente, tomadas de la región central. Cada muestra individual se introdujo en viales de vidrio de 20 ml (GERSTEL, Alemania) con tapón de rosca con septo de silicona / PTFE (Gerstel, Alemania).



3.2.12.2. Espectrometría de masas por reacción de transferencia de protón con detector de tiempo de vuelo (PTR-ToF-MS)

Las mediciones con la PTR-TOF-MS se llevaron a cabo usando un inyector automático (MPS MultiPurposeSample, Gerstel, Alemania). Para estandarizar los análisis tras introducir la muestra en el vial se sustituyó el aire del espacio de cabeza mediante la aplicación de un flujo de 200 sccm (centímetros cúbicos estándar por minuto) de aire purificado producido por una unidad de gas de calibración (GCU, Ionimed Analytik, Austria) durante 1 min. Inmediatamente después cada vial se atemperó a 37 °C durante 30 min. A continuación, el espacio de cabeza de cada una de las muestras se analizó durante 30 s permitiendo la adquisición de 30 espectros de masas.

(Fabris *et al.*, 2010). El análisis se realizó mediante inyección directa a través de un tubo de PEEK a temperatura de 110 °C en el aparato de PTR-ToF-MS 8000 (Ionicon Analytik GmbH, Innsbruck, Austria) en su configuración estándar (modo V). La velocidad de flujo de inyección durante el análisis fue de 40 sccm, y el espacio de cabeza extraído durante el análisis se reemplazó continuamente con aire limpio producido en la CGU.

3.2.12.3. Análisis del espectro de masas

La calibración interna de los espectros del TOF se realizó off-line (Cappellin *et al.*, 2011a) después de la corrección de tiempo muerto (Cappellin *et al.*, 2011b). La eliminación de la línea de base, detección de picos y la extracción del área se realizaron de acuerdo con el procedimiento descrito por Cappellin *et al.* (2011a). La concentración correspondiente a cada pico detectado se expresó en ppbv (partes por billón inglés en volumen) y se calculó a partir del área de acuerdo con la fórmula descrita por Lindinger *et al.* (1998). Se empleó un coeficiente de velocidad de reacción constante de $2 \times 10^{-9} \text{ cm}^3/\text{s}$ en los cálculos.

3.2.13. Análisis de compuestos volátiles mediante SPME-CG-MS



3.2.13.1. Extracción de los compuestos volátiles

Para la extracción de los VOCs se pesó 1 g de muestra, previamente picada, sobre un vial de vidrio y se selló con un tapón de plástico con septum de teflón/silicona. Para este ensayo se utilizó una fibra de SPME (Solid Phase Microextraction) de carboxen/polidimetilsiloxano (CARB/PDMS) (75 μm de grosor). Para la activación de la fibra se empleó el mismo método que se utilizaría posteriormente para la muestra durante 50 minutos, con el fin de desorber los posibles contaminantes. Durante este tiempo, incubamos la muestra picada en el vial en un baño de metacrilato con un sistema calefactor de la casa Selecta (Barcelona) a 37 $^{\circ}\text{C}$ durante 30 minutos. Posteriormente se introdujo la fibra a través del septum del tapón y se mantuvo el vial con la fibra en el baño durante 30 minutos más. Transcurrido el tiempo de extracción, la fibra de SPME se transfirió de forma inmediata al inyector de un cromatógrafo de gases (modo splitless, 250 $^{\circ}\text{C}$) para la desorción de los compuestos capturados por la fibra de SPME y su posterior separación, detección e identificación mediante CG-EM (Cromatografía de gases/Espectrometría de masas).

3.2.13.2. Análisis cromatográfico (CG/EM)

El análisis se llevó a cabo en un cromatógrafo HP-6890 serie II acoplado a un espectrómetro de masas Agilent 5973. La separación de los VOCs se realizó en una columna capilar de sílice fundido con una fase estacionaria apolar de tipo HP-5 (5% fenil-metil silicona, Hewlet-Packard, 50m x 0,32 μm x 1,05 μm), operando a 6,5 psi de presión de cabeza de columna, resultando un flujo de 1,3 mL min⁻¹ de Helio.

El programa del horno utilizado para la separación de los VOCs fue el siguiente: temperatura inicial de 40 $^{\circ}\text{C}$ durante 10 minutos, posteriormente la temperatura subió hasta 200 $^{\circ}\text{C}$ a razón de 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$, después tuvo otra subida de temperatura hasta 250 $^{\circ}\text{C}$ a razón de 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$, permaneciendo en isoterma a 250 $^{\circ}\text{C}$ durante 5 minutos más (tiempo total de la carrera cromatográfica 50 minutos aproximadamente). La línea de transferencia del espectrómetro de masas se mantuvo a 280 $^{\circ}\text{C}$. El espectro de masas se obtuvo mediante impacto electrónico a 70 eV, con un electrón multiplicador voltio de 1756 V y la recogida de datos se realizó a una velocidad de 1 scan/s en un rango de masas de 30 a 500 m/z.



3.2.13.3. Identificación de los compuestos volátiles

Parte de los compuestos volátiles detectados fueron identificados comparando sus espectros de masas e índices de retención lineal (IRL) con los patrones de referencia analizados en las mismas condiciones cromatográficas. El resto de los compuestos fueron tentativamente identificados, comparando sus espectros de masas con los existentes en la librería Wiley y en la base de datos del NIST (<http://webbook.nist.gov>), y por comparación de sus IRL con los existentes en la bibliografía (NIST <http://webbook.nist.gov>).

El contenido de VOCs se expresó en UAA (Unidades Arbitrarias de Área), realizándose un análisis por cada muestra.

3.2.14. Evaluación sensorial

Para la evaluación sensorial se realizó un análisis cuantitativo-descriptivo (AQD) (Ruiz *et al.*, 1998b) utilizando un panel entrenado compuesto por 12 jueces que analizaron 3 muestras en cada sesión diaria, en orden aleatorio y siempre comparando el mismo tipo de producto. Se analizaron 3 lomos o 3 paletas diariamente realizándose un total de 12 sesiones, 6 sesiones para cada tipo de producto. Se evaluaron 19 atributos sensoriales diferentes, tanto para la paleta curada como para el lomo curado. Las preguntas se presentaron a los distintos panelistas entrenados en el orden normal de percepción: apariencia, olor, textura táctil, textura en boca y flavor.

La evaluación sensorial de los productos curados se llevó a cabo utilizando los siguientes descriptores:

3.2.14.1. Apariencia

- **Color:** Intensidad del color rojo en el magro (rosa pálido al rojo oscuro).
- **Brillo:** Intensidad de brillo en la superficie del magro (mate al brillante).
- **Veteado:** Medida de la cantidad de grasa infiltrada (intramuscular) en el tejido muscular. Nivel de la GIM visible (muy magro a más veteado).



- **Tamaño de veteado:** Describe el aspecto de las vetas de GIM (muy pequeñas a muy grandes).

3.2.14.2. Olor

- **Intensidad:** Nivel del olor general de cada muestra antes de ser ingerida (sin olor a intenso olor).
- **Curado:** Intensidad del olor típico en productos curados antes de ser ingerida cada muestra (muy bajo a muy alto).
- **Anómalo:** Nivel de percepción de cualquier tipo de olor extraño en este tipo de productos curados (muy bajo a muy alto).
- **Adobo** (en el caso del lomo): Nivel de percepción del olor a adobo de cada muestra antes de ser ingerida (sin olor a intenso olor).

3.2.14.3. Textura táctil

- **Dureza:** Nivel de dureza de cada muestra ante una presión digital (muy blanda a muy dura).
- **Fluidez de la grasa:** Tendencia de la grasa a licuarse y deslizarse sobre la superficie ante una presión digital (poco fluida a muy fluida).

3.2.14.4. Textura en boca

- **Dureza:** Fuerza requerida para deformar el alimento durante la masticación (muy blando a muy duro).
- **Masticabilidad:** Tiempo necesario o número de masticaciones requeridas para dejar un producto sólido en las condiciones adecuadas para su deglución (poco masticable a muy masticable).
- **Jugosidad:** Sensación asociada a la liberación de agua y grasa por la masticación así como por la secreción de jugos bucales provocados por la carne durante la masticación (poco jugoso a muy jugoso).



- **Fibrosidad:** Distintos niveles de percepción de las fibras musculares durante la masticación (poco fibroso a muy fibroso).

3.2.14.5. Flavor

- **General:** Describe la percepción del flavor general en este tipo de productos curados tras la deglución de la muestra (poco intenso a muy intenso).
- **Salado:** Describe el sabor elemental producido por soluciones acuosas tales como el cloruro sódico (poco salado a muy salado).
- **Curado:** Intensidad del flavor típico en productos curados después de ser deglutidos (muy bajo a muy alto).
- **Anómalo:** Nivel de percepción de cualquier tipo de flavor extraño en este tipo de productos curados después de la deglución de la muestra (muy bajo a muy alto).
- **Adobo** (en el caso del lomo): Nivel de percepción del flavor a adobo tras la deglución de la muestra (poco intenso a muy intenso).
- **Rancio:** Intensidad de sabores rancios percibidos después de la deglución de la muestra (poco rancio a muy rancio).
- **Persistencia:** Intensidad y duración de los sabores en este tipo de productos tras la deglución de la muestra (muy baja a muy alta).

Para el desarrollo de las sesiones de catas se utilizó el programa informático FIZZ versión 2.20 (Biosistemas, Francia). Las escalas utilizadas para las fichas fueron no estructuradas de 10 cm de longitud siendo los extremos para los valores “poco” y “mucho” para cada descriptor. A cada catador se le proporcionaron dos lonchas de lomo de un espesor de 1,5-2 mm cortadas con una máquina loncheadora (O.M.S. TGI-300), mientras que las paletas se lonchearon y empaquetaron en bandejas de 100 gramos de plástico al vacío (1,5 mm de espesor) con una loncheadora industrial en la empresa Lony-pack S.A. (Guijuelo, España). Ambos productos curados se presentaron



en platos transparentes y en orden aleatorio. Las sesiones de cata se realizaron en una sala de catas estandarizada con seis cabinas con dotación informática (donde se presentaban las fichas con los atributos), tornos para la presentación de las muestras, luz fluorescente y totalmente independientes unas de otras.

3.2.15. Análisis estadístico

Los datos fueron analizados estadísticamente con ayuda del programa informático SPSS version 15.0. Para conocer el efecto de la castración en los distintos productos cárnicos estudiados (lomos frescos, lomos curados y paletas curadas) en los diferentes parámetros físico-químicos, instrumentales y sensoriales se empleó un análisis multivariante de la varianza mediante un modelo lineal general y el test de Tukey para comparar las medias de los grupos con un nivel de significación $p \leq 0,05$. Se realizaron correlaciones de Pearson entre la GIM y los ácidos grasos de los lomos curados, también entre la GIM y las características sensoriales de los productos curados (paletas y lomos). Asimismo, los datos de VOC de paletas y lomos curados fueron evaluados mediante un Análisis de Componentes Principales (PCA), una técnica multivariable que se usa frecuentemente para valorar gráficamente los datos en estudio (Jolliffe, 2002).

4



Resultados Generales





4. RESULTADOS GENERALES

Dado que esta tesis doctoral es el resultado de un compendio de artículos ya publicados o en fase de revisión. Presentamos a continuación, de forma muy esquemática, los resultados obtenidos con el fin de dar una visión global de todo el trabajo.

4.1. TABLAS

Tabla 1. Efecto de la inmunocastración de hembras en las características de las canales (media \pm desviación estándar)

	SF (N = 12)	IF (N = 12)	EF (N = 12)	Sig.
Peso a canal (kg)	130,9 \pm 4,3	136,5 \pm 4,6	132,3 \pm 7,3	ns
Rdto, Canal (g/kg PV)	79,45 \pm 1,36	78,68 \pm 1,37	79,37 \pm 1,84	ns
Grasa dorsal (mm)	68,7 \pm 5,7	65 \pm 14,4	63,3 \pm 8,9	ns
Grasa punta del jamón (mm)	62 \pm 2,5 ^a	57 \pm 9,5 ^a	51 \pm 10,1 ^b	*
Rdto, Jamón (g/kg)	9,69 \pm 0,65	9,90 \pm 0,45	9,84 \pm 1,22	ns
Rdto, Paleta (g/kg)	5,95 \pm 0,35 ^b	5,93 \pm 0,40 ^b	6,50 \pm 0,50 ^a	**
Rdto, Lomo (g/kg)	2,13 \pm 0,19 ^b	2,11 \pm 0,17 ^b	2,41 \pm 0,13 ^a	**

SF: hembras castradas quirúrgicamente; **IF:** hembras inmunocastradas; **EF:** hembras enteras.

PV: peso vivo. **Sig.:** Nivel de significación. ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$; ns: no significativo.

**Tabla 2.** Efecto de la inmunocastración de hembras en la composición química y color del músculo *Longissimus dorsi* (media \pm desviación estándar)

	SF (N = 12)	IF (N = 12)	EF (N = 12)	Sig.
Humedad (g/100 g)	70,77 \pm 2,40	71,45 \pm 2,56	70,86 \pm 3,42	ns
pH	5,87 \pm 0,19	5,85 \pm 0,21	5,76 \pm 0,26	ns
Color L*	48,71 \pm 2,65	49,38 \pm 2,40	50,97 \pm 2,61	ns
Color a*	8,30 \pm 0,76	9,37 \pm 1,37	9,25 \pm 1,41	ns
Color b*	2,27 \pm 0,81	2,74 \pm 0,73	3,14 \pm 0,80	ns
GIM (g/100 g) ¹	10,67 \pm 5,58	12,89 \pm 2,15	11,32 \pm 3,09	ns
CRA	93,9 \pm 0,75	92,7 \pm 1,77	93,3 \pm 1,73	ns
Proteínas (g/100 g) ¹	86,5 \pm 12,7	87,1 \pm 12,3	89,4 \pm 11,0	ns
MDA (mg/Kg)	0,06 \pm 0,01	0,07 \pm 0,03	0,07 \pm 0,02	ns
Pigmentos hemínicos (mg/kg)	111,3 \pm 19,2	119,2 \pm 12,1	107,4 \pm 12,3	ns

SF: hembras castradas quirúrgicamente; IF: hembras inmunocastradas; EF: hembras enteras.

GIM: grasa intramuscular; CRA: capacidad de retención de agua; MDA: malonaldehído.

Sig.: Nivel de significación. * $p < 0,05$; ns: no significativo. ¹ Expresado en porcentaje de materia seca.

Tabla 3. Efecto de la inmunocastración de hembras en peso fresco, composición química y color de paletas curadas (media \pm desviación standard)

	CF (N = 6)	IF (N = 6)	EF (N = 6)	Sig.
Peso fresco (kg)	8,05 \pm 0,42	7,93 \pm 0,52	8,12 \pm 0,17	ns
Humedad (g/100 g)	44,57 \pm 2,32	47,09 \pm 3,38	48,91 \pm 4,66	ns
Color L*	42,77 \pm 2,23	42,32 \pm 2,69	41,77 \pm 3,97	ns
Color a*	26,87 \pm 1,95	28,02 \pm 1,99	25,65 \pm 2,87	ns
Color b*	13,15 \pm 1,36	13,37 \pm 3,01	11,54 \pm 3,02	ns
GIM (g/100 g) ¹	18,68 \pm 3,13	19,17 \pm 2,95	15,44 \pm 2,92	ns
Proteínas (g/100 g) ¹	59,78 \pm 4,60	59,32 \pm 4,19	62,61 \pm 5,41	ns
Cloruros (g/100 g) ¹	8,64 \pm 0,73	8,47 \pm 0,64	10,26 \pm 1,94	ns
MDA (mg/Kg)	0,33 \pm 0,09	0,29 \pm 0,08	0,23 \pm 0,03	ns
Pigmentos hemínicos (mg/kg)	467,65 \pm 35,75	443,67 \pm 80,26	407,90 \pm 81,19	ns

CF: hembras castradas quirúrgicamente; IF: hembras inmunocastradas; EF: hembras enteras.

GIM: grasa intramuscular; MDA: malonaldehído.

Sig.: Nivel de significación. * $p < 0,05$; ns: no significativo. ¹ Expresado en porcentaje de materia seca.



Tabla 4. Efecto de la inmunocastración de hembras en peso fresco, composición química y color de lomos curados (media \pm desviación standard)

	CF (N = 6)	IF (N = 6)	EF (N = 6)	Sig.
Peso fresco (kg)	2,79 \pm 0,16 ^a	2,83 \pm 0,22 ^a	3,17 \pm 0,25 ^b	*
Humedad (g/100 g)	38,84 \pm 3,29	37,96 \pm 3,81	41,39 \pm 2,99	ns
Color L*	42,18 \pm 2,42	44,61 \pm 2,67	43,26 \pm 3,48	ns
Color a*	12,79 \pm 1,81	13,29 \pm 1,97	12,68 \pm 1,57	ns
Color b*	6,66 \pm 1,40	7,05 \pm 0,98	5,95 \pm 1,09	ns
GIM (g/100 g) ¹	12,64 \pm 4,19 ^{ab}	14,77 \pm 2,82 ^b	9,68 \pm 2,90 ^a	*
Proteínas (g/100 g) ¹	61,42 \pm 6,11	62,54 \pm 5,94	68,85 \pm 8,56	ns
Cloruros (g/100 g) ¹	3,14 \pm 0,60	3,49 \pm 0,43	3,54 \pm 0,35	ns
MDA (mg/Kg)	0,09 \pm 0,03	0,10 \pm 0,04	0,09 \pm 0,05	ns
Pigmentos hemínicos (mg/kg)	218,36 \pm 23,13	216,35 \pm 49,87	212,44 \pm 46,30	ns

CF: hembras castradas quirúrgicamente; IF: hembras inmunocastradas; EF: hembras enteras.

GIM: grasa intramuscular; MDA: malonaldehído.

Sig.: Nivel de significación. * $p < 0,05$; ns: no significativo. ¹ Expresado en porcentaje de materia seca.

^{a, b} Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre grupos ($p < 0,05$).



Tabla 5. Efecto de la inmunocastración de hembras en el perfil de ácidos grasos de la grasa dorsal (g/100 g de grasa; media \pm desviación estándar)

	SF (N = 12)	IF (N = 12)	EF (N = 12)	Sig.
C12	0,24 \pm 0,12	0,17 \pm 0,04	0,19 \pm 0,10	ns
C14	1,88 \pm 0,18	1,66 \pm 0,35	1,52 \pm 0,22	ns
C15	0,13 \pm 0,07	0,08 \pm 0,03	0,08 \pm 0,03	ns
C16	25,7 \pm 1,24	27,1 \pm 2,50	23,8 \pm 1,61	ns
C16:1	2,42 \pm 0,26 ^a	2,12 \pm 0,25 ^b	2,10 \pm 0,20 ^b	*
C17	0,23 \pm 0,03	0,24 \pm 0,03	0,24 \pm 0,03	ns
C17:1	0,23 \pm 0,03	0,23 \pm 0,03	0,22 \pm 0,04	ns
C18	8,57 \pm 0,57	9,42 \pm 0,99	9,03 \pm 0,90	ns
C18:1	46,29 \pm 1,07	46,19 \pm 2,94	48,01 \pm 1,90	ns
C18:2	8,88 \pm 0,59	9,46 \pm 1,05	9,72 \pm 0,77	ns
C18:3	0,65 \pm 0,07	0,71 \pm 0,08	0,73 \pm 0,07	ns
C20:1	0,68 \pm 0,12	0,70 \pm 0,18	0,76 \pm 0,16	ns
C20:2	0,26 \pm 0,05	0,27 \pm 0,08	0,31 \pm 0,07	ns
C20:4	0,12 \pm 0,08	0,11 \pm 0,04	0,09 \pm 0,03	ns
SFA	40,04 \pm 1,17	39,38 \pm 4,62	38,08 \pm 2,68	ns
MUFA	49,62 \pm 1,11	49,94 \pm 3,57	51,17 \pm 1,95	ns
PUFA	9,92 \pm 0,77	10,60 \pm 1,10	10,85 \pm 0,88	ns

CF: hembras castradas quirúrgicamente; IF: hembras inmunocastradas; EF: hembras enteras.

SFA: ácidos grasos saturados; MUFA: ácidos grasos monoinsaturados; PUFA: ácidos grasos poliinsaturados.

Sig.: Nivel de significación. * $p < 0,05$; ns: no significativo.



Tabla 6. Efecto de la inmunocastración de hembras en el perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular del músculo *Longissimus dorsi* (g/100 g de grasa; media \pm desviación estándar)

	SF (N = 12)	IF (N = 12)	EF (N = 12)	Sig.
C12	0,28 \pm 0,13	0,22 \pm 0,05	0,29 \pm 0,15	ns
C14	2,05 \pm 0,29	2,02 \pm 0,27	1,94 \pm 0,29	ns
C14:1	0,22 \pm 0,07	0,18 \pm 0,06	0,21 \pm 0,08	ns
C16	26,8 \pm 0,88	27,6 \pm 1,48	27,0 \pm 1,77	ns
C16:1	4,71 \pm 0,53	4,53 \pm 0,60	4,43 \pm 0,50	ns
C17	0,18 \pm 0,07	0,17 \pm 0,08	0,16 \pm 0,05	ns
C17:1	0,20 \pm 0,05	0,91 \pm 0,82	0,22 \pm 0,09	ns
C18	8,94 \pm 0,60	9,37 \pm 1,29	8,95 \pm 0,57	ns
C18:1	43,27 \pm 1,50	42,66 \pm 3,30	42,92 \pm 2,02	ns
C18:2	5,02 \pm 0,87	4,35 \pm 0,95	4,92 \pm 0,90	ns
C18:3	0,25 \pm 0,07	0,23 \pm 0,06	0,25 \pm 0,04	ns
C20:1	0,48 \pm 0,12	0,40 \pm 0,12	0,39 \pm 0,12	ns
C20:4	0,61 \pm 0,25	0,51 \pm 0,16	0,59 \pm 0,24	ns
SFA	45,27 \pm 1,82	47,02 \pm 3,90	46,06 \pm 2,52	ns
MUFA	48,87 \pm 1,58	48,69 \pm 3,66	48,16 \pm 2,22	ns
PUFA	5,87 \pm 1,09	5,09 \pm 1,11	5,75 \pm 1,12	ns

CF: hembras castradas quirúrgicamente; **IF:** hembras inmunocastradas; **EF:** hembras enteras.

SFA: ácidos grasos saturados; **MUFA:** ácidos grasos monoinsaturados; **PUFA:** ácidos grasos poliinsaturados.

Sig.: Nivel de significación. * $p < 0,05$; ns: no significativo.



Tabla 7. Efecto de la inmunocastración de hembras en el perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular de paletas curadas (g/100 g de grasa; media \pm desviación standard)

	CF (N = 6)	IF (N = 6)	EF (N = 6)	Sig.
C12	0,09 \pm 0,02 ^b	0,07 \pm 0,01 ^{ab}	0,06 \pm 0,01 ^a	**
C14	1,24 \pm 0,10	1,23 \pm 0,09	1,12 \pm 0,10	ns
C16	22,83 \pm 0,62	23,84 \pm 0,92	22,62 \pm 1,20	ns
C16:1	3,24 \pm 0,20	3,23 \pm 0,47	3,10 \pm 0,36	ns
C17	0,15 \pm 0,02	0,15 \pm 0,01	0,16 \pm 0,01	ns
C17:1	0,19 \pm 0,03	0,18 \pm 0,02	0,19 \pm 0,02	ns
C18	9,82 \pm 0,75	11,40 \pm 1,65	10,89 \pm 1,45	ns
C18:1	51,66 \pm 1,11	50,66 \pm 1,66	51,29 \pm 2,19	ns
C18:2	8,42 \pm 0,90 ^b	7,05 \pm 0,90 ^a	8,10 \pm 0,78 ^{ab}	*
C18:3	0,55 \pm 0,07 ^b	0,43 \pm 0,07 ^a	0,47 \pm 0,04 ^{ab}	*
C20:1	0,71 \pm 0,04 ^a	0,82 \pm 0,05 ^b	0,79 \pm 0,09 ^{ab}	*
C20:2	0,30 \pm 0,02	0,30 \pm 0,05	0,33 \pm 0,04	ns
C20:3	0,07 \pm 0,01	0,07 \pm 0,01	0,07 \pm 0,01	ns
C20:4	0,61 \pm 0,08 ^{ab}	0,47 \pm 0,08 ^a	0,69 \pm 0,16 ^b	*
C21	0,11 \pm 0,01	0,09 \pm 0,01	0,11 \pm 0,02	ns
SFA	34,25 \pm 1,17	36,79 \pm 2,48	34,97 \pm 2,42	ns
MUFA	55,81 \pm 1,15	54,88 \pm 2,07	55,37 \pm 2,49	ns
PUFA	9,95 \pm 1,06 ^b	8,33 \pm 1,06 ^a	9,66 \pm 0,97 ^{ab}	*

CF: hembras castradas quirúrgicamente; IF: hembras inmunocastradas; EF: hembras enteras.

Sig.: Nivel de significación. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; ns: no significativo.

^{a, b} Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre grupos ($p < 0,05$).



Tabla 8. Efecto de la inmunocastración de hembras en el perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular de lomos curados (g/100 g de grasa; media \pm desviación standard)

	CF (N = 6)	IF (N = 6)	EF (N = 6)	Sig.
C 12	0,01 \pm 0,01	0,01 \pm 0,00	0,01 \pm 0,01	ns
C 14	1,26 \pm 0,11 ^a	1,53 \pm 0,40 ^b	1,18 \pm 0,20 ^a	**
C 14:1	0,08 \pm 0,01 ^{ab}	0,09 \pm 0,02 ^b	0,07 \pm 0,02 ^a	*
C 15	0,05 \pm 0,03 ^{ab}	0,05 \pm 0,02 ^a	0,10 \pm 0,09 ^b	*
C 15:1	0,09 \pm 0,02	0,09 \pm 0,03	0,09 \pm 0,05	ns
C 16	26,73 \pm 1,61 ^{ab}	28,27 \pm 2,79 ^b	25,69 \pm 2,64 ^a	*
C 16:1	3,71 \pm 0,37	4,09 \pm 0,63	3,69 \pm 0,33	ns
C 17	0,15 \pm 0,02	0,14 \pm 0,02	0,14 \pm 0,02	ns
C 17:1	0,14 \pm 0,02	0,13 \pm 0,01	0,14 \pm 0,02	ns
C 18	11,04 \pm 1,00	11,14 \pm 1,50	10,60 \pm 0,47	ns
C 18:1	50,50 \pm 1,31 ^{ab}	48,72 \pm 3,56 ^a	51,35 \pm 2,44 ^b	*
C 18:2	4,75 \pm 0,57 ^a	4,40 \pm 0,75 ^a	5,42 \pm 0,64 ^b	**
C 18:3	0,43 \pm 0,10	0,44 \pm 0,13	0,45 \pm 0,12	ns
C 20	0,09 \pm 0,03	0,09 \pm 0,03	0,08 \pm 0,01	ns
C 20:1	0,53 \pm 0,09	0,44 \pm 0,09	0,45 \pm 0,08	ns
C 20:2	0,13 \pm 0,03	0,10 \pm 0,03	0,11 \pm 0,03	ns
C 20:4	0,32 \pm 0,14 ^{ab}	0,24 \pm 0,07 ^a	0,41 \pm 0,15 ^b	**
SFA	39,09 \pm 1,84 ^{ab}	41,24 \pm 4,04 ^b	37,81 \pm 2,89 ^a	*
MUFA	55,14 \pm 1,32	53,48 \pm 3,77	54,78 \pm 2,77	ns
PUFA	5,69 \pm 0,74 ^{ab}	5,19 \pm 0,92 ^a	6,40 \pm 0,83 ^b	**

CF: hembras castradas quirúrgicamente; **IF:** hembras inmunocastradas; **EF:** hembras enteras.

Sig.: Nivel de significación. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; ns: no significativo.

^{a, b} Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre grupos ($p < 0,05$).



Tabla 9. Correlaciones de Pearson entre la grasa intramuscular y los ácidos grasos de lomos curados

Ácidos grasos	Correlaciones de Pearson	Sig.
C 12	0,010	ns
C 14	0,430	**
C 15	-0,572	***
C 16	0,371	*
C 17	0,156	ns
C 18	0,382	*
C 20	0,187	ns
C 14:1	0,049	ns
C 15:1	-0,002	ns
C 16:1	0,253	ns
C 17:1	0,039	ns
C 18:1	-0,343	*
C 20:1	0,131	ns
C 18:2	-0,705	***
C 18:3	-0,208	ns
C 20:2	-0,248	ns
C 20:4	-0,631	***
SFA	0,445	**
MUFA	-0,293	ns
PUFA	-0,689	***

Sig.: Nivel de significación. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; ns: no significativo.



Tabla 10. Picos de masas con concentración (ppbv, media \pm error estándar) significativamente diferente entre lomos curados de diferentes grupos de tratamiento ($p < 0,01$) y tentativamente identificados a partir de la fórmula química calculada

Masa medida	Masa teórica	Fórmula	Identificación tentativa ¹	SF	IF	EF	Sig.
27,025	27,0229	C ₂ H ₃ ⁺	Fragmento alquilo ²	3,1 \pm 0,1 ^a	7,2 \pm 0,7 ^c	5,0 \pm 0,5 ^b	***
29,040	29,0386	C ₂ H ₅ ⁺	Fragmento etanol	364 \pm 19 ^a	1228 \pm 186 ^b	724 \pm 97 ^a	***
34,038	34,0368	[¹³ C]CH ₅ O ⁺	Metanol	44 \pm 2 ^b	30 \pm 2 ^a	33 \pm 2 ^a	***
43,018	43,0178	C ₂ H ₃ O ⁺	Fragmento ácido acético	404 \pm 27 ^a	683 \pm 54 ^b	478 \pm 31 ^a	***
46,037	46,0368	C[¹³]CH ₅ O ⁺	Acetaldehído	71 \pm 3 ^a	137 \pm 12 ^b	109 \pm 8 ^b	***
48,053	48,0525	C[¹³]CH ₇ O ⁺	Etanol	122 \pm 6 ^a	364 \pm 48 ^b	227 \pm 27 ^a	***
57,034	57,0335	C ₃ H ₅ O ⁺	Fragmento ácido propanoico	5,0 \pm 0,1 ^a	8,3 \pm 0,6 ^b	6,9 \pm 0,7 ^b	**
61,062	61,0648	C ₃ H ₉ O ⁺	Propanol	5,1 \pm 0,2 ^a	7,9 \pm 0,4 ^b	6,2 \pm 0,5 ^a	***
63,045	63,0441	C ₂ H ₄ O·H ₃ O ⁺	Cluster acetaldehído	6,3 \pm 0,3 ^a	14,4 \pm 1,4 ^c	10,9 \pm 0,9 ^b	***
67,057	67,0542	C ₅ H ₇ ⁺	Fragmento 2-pental	1,9 \pm 0,05 ^a	3,3 \pm 0,3 ^b	2,7 \pm 0,2 ^b	***
69,070	69,0699	C ₅ H ₉ ⁺	Fragmento 3-metilbutanal + fragmento pentanal	24 \pm 1 ^a	36 \pm 4 ^b	32 \pm 2 ^{ab}	*
71,050	71,0491	C ₄ H ₇ O ⁺	Fragmento ácido butanoico + fragmento ácido 2-metilpropanoico	17 \pm 3 ^a	61 \pm 15 ^b	17 \pm 5 ^a	*
75,081	75,0804	C ₄ H ₁₁ O ⁺	Butanol	3,3 \pm 0,2 ^a	39 \pm 12 ^b	14 \pm 3 ^a	*
82,068	82,0651	C ₅ H ₈ N ⁺	1-metilpirrol	2,0 \pm 0,1 ^b	2,2 \pm 0,2 ^b	1,4 \pm 0,1 ^a	*
85,067	85,0648	C ₅ H ₉ O ⁺	Fragmento ácido 3-metilbutanoico	1,0 \pm 0,1 ^a	1,8 \pm 0,2 ^b	1,2 \pm 0,1 ^a	**
87,046	87,0441	C ₄ H ₇ O ₂ ⁺	2,3-butanodiona	6,3 \pm 0,4 ^a	10,7 \pm 1,6 ^b	6,7 \pm 0,5 ^a	*
89,063	89,0597	C ₄ H ₉ O ₂ ⁺	Ácido butanoico + ácido 2-metilpropanoico	27 \pm 4 ^a	120 \pm 21 ^b	48 \pm 10 ^a	***
91,079	91,0754	C ₄ H ₁₁ O ₂ ⁺	2,3-butanodiol	0,65 \pm 0,09 ^a	5,9 \pm 0,7 ^c	2,8 \pm 0,7 ^b	***
115,115	115,1117	C ₇ H ₁₅ O ⁺	Heptanal + 2-heptanona	6,9 \pm 0,9 ^b	2,5 \pm 0,3 ^a	3,2 \pm 0,3 ^a	***
117,091	117,0910	C ₆ H ₁₃ O ₂ ⁺	Ácido hexanoico + ácido butanoico, etil ester	3,4 \pm 0,2 ^a	8,0 \pm 1,0 ^b	4,9 \pm 0,7 ^a	**

CF: hembras castradas quirúrgicamente; **IF:** hembras inmunocastradas; **EF:** hembras enteras.

Sig.: Nivel de significación. * $p < 0,01$; ** $p < 0,001$; *** $p < 0,0001$.

¹ Según Muriel *et al.* (2004b), Soto *et al.* (2008) y Ventanas *et al.* (2008).

² Fragmentación molecular según Aprea *et al.* (2007c).

^{a, b, c} Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre grupos de tratamiento.

**Tabla 11.** Efecto de la inmunocastración de hembras en las características sensoriales de paletas Ibéricas curadas (media \pm desviación estándar)

	CF (N = 6)	IF (N = 6)	EF (N = 6)	Sig.
Apariencia				
Color	4,75 \pm 0,92	4,94 \pm 1,36	5,24 \pm 1,56	ns
Brillo	4,02 \pm 0,94	3,81 \pm 0,80	3,63 \pm 0,74	ns
Veteado	3,79 \pm 1,95	3,93 \pm 1,41	2,89 \pm 0,68	ns
Tamaño de veteado	2,97 \pm 1,03	3,16 \pm 0,52	2,88 \pm 0,35	ns
Olor				
Intensidad	5,47 \pm 0,75	5,33 \pm 0,55	5,24 \pm 0,88	ns
Curado	4,81 \pm 0,76	4,67 \pm 0,38	4,88 \pm 0,52	ns
Anomalo	0,15 \pm 0,10	0,38 \pm 0,60	0,23 \pm 0,33	ns
Textura táctil				
Dureza	3,18 \pm 0,62	2,89 \pm 0,70	3,56 \pm 0,74	ns
Fluidez de la grasa	6,53 \pm 0,54	6,12 \pm 0,70	5,69 \pm 0,84	ns
Textura en boca				
Dureza	2,75 \pm 0,71	2,33 \pm 0,91	3,41 \pm 1,09	ns
Masticabilidad	2,99 \pm 0,85	2,58 \pm 0,49	3,55 \pm 0,85	ns
Jugosidad	5,47 \pm 0,45	5,27 \pm 0,52	5,19 \pm 0,55	ns
Fibrosidad	2,44 \pm 1,08	2,15 \pm 0,57	2,51 \pm 0,74	ns
Flavor				
General	6,29 \pm 0,42	5,99 \pm 0,43	6,30 \pm 0,61	ns
Salado	5,46 \pm 1,00	5,42 \pm 0,92	6,07 \pm 0,78	ns
Curado	5,04 \pm 0,49	4,82 \pm 0,33	4,99 \pm 0,55	ns
Anomalo	0,25 \pm 0,20	0,34 \pm 0,62	0,17 \pm 0,12	ns
Rancio	1,96 \pm 1,01	1,89 \pm 0,27	2,12 \pm 0,49	ns
Persistencia	5,60 \pm 0,64	5,38 \pm 0,47	5,90 \pm 0,67	ns

CF: hembras castradas quirúrgicamente; IF: hembras inmunocastradas; EF: hembras enteras.

Sig.: Nivel de significación. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; ns: no significativo.



Tabla 12. Efecto de la inmunocastración de hembras en las características sensoriales de lomos Ibéricos curados (media \pm desviación estándar)

	CF (N = 6)	IF (N = 6)	EF (N = 6)	Sig.
Apariencia				
Color	5,63 \pm 0,83	5,90 \pm 0,74	6,31 \pm 0,92	ns
Brillo	3,36 \pm 0,17 ^{a,b}	3,92 \pm 0,67 ^a	2,55 \pm 0,91 ^b	**
Veteado	3,67 \pm 1,40 ^b	5,56 \pm 1,17 ^a	4,55 \pm 1,03 ^{a,b}	*
Tamaño de veteado	2,45 \pm 0,64	3,45 \pm 0,95	3,21 \pm 1,08	ns
Olor				
Intensidad	5,93 \pm 0,72	6,33 \pm 0,38	5,98 \pm 0,69	ns
Curado	4,70 \pm 0,49	5,12 \pm 0,58	5,15 \pm 0,57	ns
Adobo	5,43 \pm 0,61	5,96 \pm 0,49	5,34 \pm 0,52	ns
Textura táctil				
Dureza	4,32 \pm 1,14	4,50 \pm 0,75	4,52 \pm 0,97	ns
Fluidez de la grasa	2,73 \pm 0,70	3,25 \pm 1,02	2,50 \pm 0,62	ns
Texture en boca				
Dureza	4,96 \pm 1,02	4,56 \pm 0,70	4,95 \pm 1,04	ns
Masticabilidad	5,27 \pm 1,08	4,61 \pm 0,70	5,33 \pm 0,78	ns
Jugosidad	4,19 \pm 0,73	4,62 \pm 0,32	3,90 \pm 0,47	ns
Fibrosidad	4,56 \pm 0,69	4,22 \pm 0,70	4,59 \pm 0,41	ns
Flavor				
General	5,64 \pm 0,76	5,64 \pm 0,36	5,46 \pm 0,48	ns
Salado	1,97 \pm 0,60	2,12 \pm 0,46	1,99 \pm 0,38	ns
Curado	4,39 \pm 0,62	4,96 \pm 0,68	4,51 \pm 0,62	ns
Adobo	4,32 \pm 0,47	4,54 \pm 0,46	4,41 \pm 0,62	ns
Rancio	0,78 \pm 0,47	0,75 \pm 0,26	0,79 \pm 0,43	ns
Persistencia	4,37 \pm 1,32	4,15 \pm 0,61	4,23 \pm 0,50	ns

CF: hembras castradas quirúrgicamente; IF: hembras inmunocastradas; EF: hembras enteras.

Sig.: Nivel de significación. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; ns: no significativo.

^{a, b} Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre grupos ($p < 0,05$).



Tabla 13. Correlaciones de Pearson entre la grasa intramuscular y las características sensoriales de lomos curados

Atributos sensoriales	Correlaciones de Pearson	Sig.
Apariencia		
Color	-0,2	ns
Brillo	0,47	*
Vteado	0,45	ns
Tamaño de veteado	0,15	ns
Olor		
Intensidad	0,49	*
Curado	0,18	ns
Adobo	0,58	*
Textura táctil		
Dureza	0,02	ns
Fluidez de la grasa	0,43	ns
Textura en boca		
Dureza	-0,3	ns
Masticabilidad	-0,48	*
Jugosidad	0,57	*
Fibrosidad	-0,4	ns
Flavor		
General	0,35	ns
Salado	0,08	ns
Curado	0,41	ns
Adobo	0,34	ns
Rancio	0,12	ns
Persistencia	0,33	ns

Sig.: Nivel de significación. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; ns: no significativo.



4.2. FIGURAS

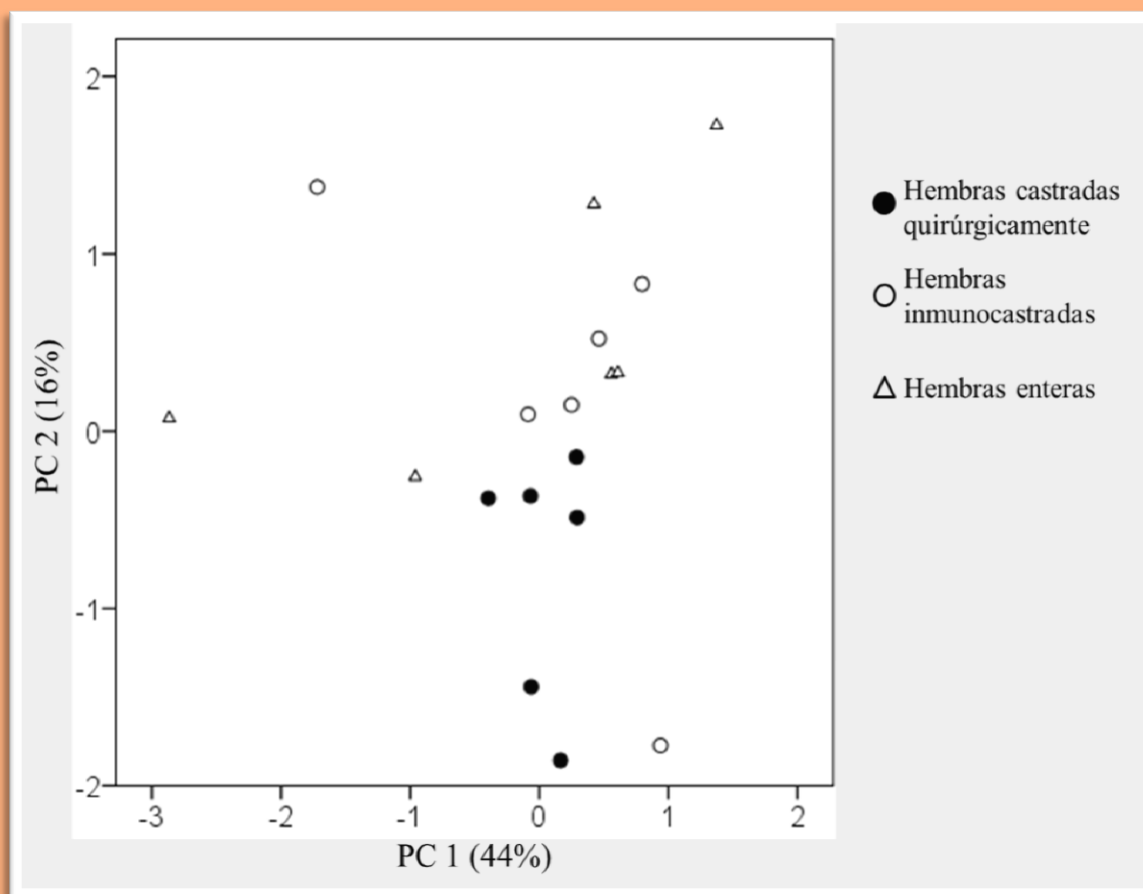


Figura 3. Representación de las muestras en el espacio definido por los componentes principales 1 y 2 (PC1 vs PC2) del PCA de la “huella dactilar” de PTR-ToF-MS de paletas curadas procedentes de hembras castradas quirúrgicamente, hembras inmunocastradas y hembras enteras

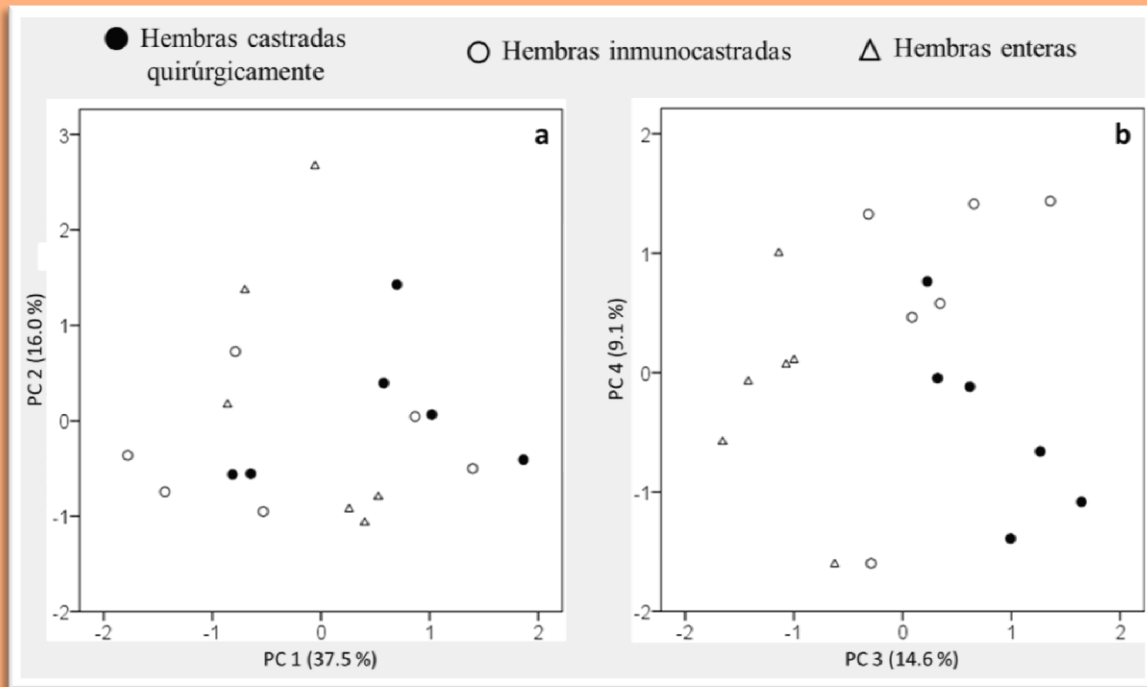


Figura 4. Representación de las muestras en el espacio definido por los componentes principales 1 y 2 (a: PC1 vs PC2), 3 y 4 (b: PC3 vs PC4) del PCA del análisis de SPME-GC-MS de paletas curadas procedentes de hembras castradas quirúrgicamente, hembras inmunocastradas y hembras enteras

5

Discusión General



5. DISCUSIÓN GENERAL

El **objetivo** del presente trabajo fue evaluar el **efecto de la inmunocastración en hembras Ibéricas** (IB x D) sobre la **calidad de la carne**. Para ello se estudiaron las **características de las canales**, la calidad de la **carne fresca** (lomos frescos) y la **calidad de los productos curados** (paletas y lomos curados) en cerdas inmunocastradas, castradas quirúrgicamente y enteras, prestando especial atención **al papel de la grasa intramuscular**. En el estudio previo de Gómez-Fernández *et al.* (2013), donde se evaluaron los distintos parámetros productivos de los animales del presente estudio, se observó un incremento significativo en la eficiencia productiva en hembras del grupo de inmunocastradas respecto a castradas y enteras a partir de la segunda dosis vacunal, traducido en un mayor peso vivo. En este sentido, varios autores han encontrado que un mayor consumo de alimento en animales inmunocastrados, entre el periodo de tiempo comprendido entre la segunda vacunación y matadero, podría dar lugar a mejores índices de crecimiento en estos animales (Dunshea *et al.*, 2001, Cronin *et al.*, 2003, Oliver *et al.*, 2003). A pesar de ello, desde el punto de vista de **los pesos y rendimientos de las canales** no se observaron diferencias significativas entre las hembras inmunocastradas, castradas y enteras (Tabla 1). Esto se encuentra en concordancia con varios estudios, tales como McCauley *et al.* (2003) quien estudió los efectos de la inmunocastración tanto en machos enteros como en hembras jóvenes inmunocastradas; también con investigaciones previas sobre castración, donde se compararon animales Ibéricos (IB x D), machos castrados, hembras castradas y hembras enteras (Serrano *et al.*, 2008), y animales híbridos de razas comerciales (Landrace x Large White dams x Duroc sires) (Peinado *et al.*, 2012). Sin embargo, Oliver *et al.* (2003), en su estudio sobre los efectos de la inmunocastración en machos y hembras jóvenes, encontró un incremento en los pesos de las canales de hembras inmunocastradas (Large White x Landrace) comparadas con las hembras enteras. Esto podría deberse a que los animales de este trabajo eran de **raza distinta** y además se sacrificaron a una **edad inferior a la de nuestro estudio** (8,2 vs 5 meses). En este sentido, las últimas revisiones sobre los efectos de la inmunocastración en canales porcinas (Dunshea, 2010; Millet *et al.*, 2011; Batorek *et al.*, 2012) hacen alusión a la



heterogeneidad de los resultados encontrados entre los distintos artículos, debido a **diferentes protocolos de vacunación y a diferentes edades de sacrificio**. Además de esto, casi todos los artículos publicados son referentes a machos y de distintas razas comerciales. Por todo ello se hace muy difícil establecer una comparativa de resultados en hembras inmunocastradas Ibéricas (IB x D). Debido a la **carencia de estudios en inmunocastración** llevados a cabo en **hembras** se comparan los resultados del presente trabajo con los de Serrano *et al.* (2009) en cerdos Ibéricos (IB x D), donde las hembras castradas tuvieron mayores pesos y rendimientos de canales que las hembras enteras, y donde además solo se aborda la castración en lugar de la inmunocastración. Asimismo, en nuestro estudio, no se observó diferencia significativa alguna **desde el punto de vista de la grasa dorsal**, entre los grupos de hembras castradas y las enteras (Tabla 1), lo cual coincide con los resultados publicados por McCauley *et al.* (2003). Contrariamente, Oliver *et al.* (2003) encontró mayores cantidades de grasa dorsal en las hembras inmunocastradas comparadas con las enteras, lo cual coincide con los mayores pesos vivos encontrados en cerdas inmunocastradas. Además, estos resultados van en la línea de estudios previos donde se demuestra como Improvac® disminuye la grasa dorsal en machos inmunocastrados frente a castrados; sin embargo, machos inmunocastrados presentaron mayores espesores de grasa dorsal que los machos enteros (Dunshea, 2010). En este sentido, también Serrano *et al.* (2008) y Peinado *et al.* (2012) observaron mayores proporciones de grasa dorsal en hembras castradas quirúrgicamente respecto a las enteras, debido a la **tendencia natural de los animales castrados a depositar grasa** respecto a aquellos enteros (Barton-Gade *et al.*, 1987).

A pesar de la ausencia de diferencias en las **canales**, sí se encontraron diferencias significativas en la **grasa de la punta del jamón** medida junto al músculo *Gluteus medius*, donde los grupos de hembras inmunocastradas y castradas mostraron los mayores valores, en contraposición a las hembras enteras (Tabla 1). Esto podría deberse a que la castración de cerdos favorece una mayor deposición de grasa en comparación con animales enteros (Fischer y Weiler, 1994; Neuper *et al.*, 1995). Además, estos resultados van en la misma línea del estudio previo de Gómez-Fernández *et al.* (2013). Con los mismos animales estos autores encontraron mayores



pesos vivos en hembras castradas en comparación con las cerdas enteras. En este sentido, se han encontrado varios artículos donde se estudió el efecto de la inmunocastración en la calidad de carne de cerdos machos, los cuales mostraron que las canales de cerdos inmunocastrados son más grasas que aquellas de animales enteros (Gispert *et al.*, 2010; Pauly *et al.*, 2009). Estos resultados concuerdan con los datos publicados por varios autores que estudiaron el efecto de la castración (Serrano *et al.*, 2008; 2009; Peinado *et al.*, 2012), respecto a la grasa de la punta del jamón. Este hecho es importante desde un punto de vista tecnológico para el procesado y producción de jamones curados de alta calidad, ya que se requiere un alto nivel de engrasamiento que proporcione una correcta curación durante dicho procesado, para el desarrollo de sus características sensoriales (Gandemer, 2002).

Las hembras enteras de nuestro estudio fueron las que tuvieron los valores más altos, tanto para los **rendimientos** de los **lomos** como para los de las **paletas**, seguidas por los grupos de hembras inmunocastradas y castradas respectivamente (Tabla 1). Esto concuerda con los resultados de Serrano *et al.* (2008). No obstante, no se encontraron diferencias significativas en los rendimientos de los jamones, entre las hembras castradas y las enteras, acorde a los datos publicados por Serrano *et al.* (2009) y Peinado *et al.* (2012). Cabe destacar la **heterogeneidad de resultados** existentes entre los **diferentes estudios de inmunocastración** en cerdos (Dunshea, 2010; Millet *et al.*, 2011; Batorek *et al.*, 2012). Asimismo, los rendimientos de animales (machos) inmunocastrados se encuentran en una posición intermedia entre enteros y castrados quirúrgicamente (Albrecht, 2011), por lo que se aconseja retrasar la aplicación de la segunda dosis de Improvac[®], para que así los animales se comporten como enteros el mayor tiempo posible. Por lo tanto, **sería de gran interés definir la duración del efecto de Improvac[®]** para que los animales **inmunocastrados se comporten como enteros el máximo tiempo posible**. De esta manera tienen una mayor eficiencia productiva (incrementan el contenido magro) con respecto a los animales castrados (Bonneau *et al.*, 1994), debido **al mantenimiento de su actividad fisiológica intacta hasta el sacrificio**, que puede ocurrir **a pesos y edades variables**, en función del mercado (Lealiifano *et al.*, 2011; Sánchez-Esquiliche y Rodríguez-Estévez, 2011). Por todo ello, la **heterogeneidad en los pesos y rendimientos** tanto de las



canales como de las distintas **piezas nobles**, entre los diferentes artículos de inmunocastración, podrían deberse a:

- Los diferentes tiempos de vacunación, especialmente **el tiempo transcurrido desde la segunda dosis a matadero (timing early/late)**, ya que en principio los protocolos de machos se centraron en dos dosis. En este periodo transcurrido desde de la segunda dosis a matadero, es cuando aumenta en gran medida la ingesta de los animales inmunocastrados respecto a los demás, lo cual resultaría en un mayor índice de crecimiento de los mismos (Dunshea *et al.*, 2001, Cronin *et al.*, 2003, Oliver *et al.*, 2003). Así como el **número de dosis** utilizadas en el protocolo vacunal (2 dosis en machos vs 3-4 dosis en hembras) serían muy importantes para definir la efectividad de la inmunocastración.
- La **edad de sacrificio** (en función de la madurez sexual).
- Las **diferentes razas** de cerdos (comerciales vs Ibéricas).
- El factor **sexo** (machos o hembras). (Figura 1)
- Los diferentes sistemas de **alimentación** utilizados.

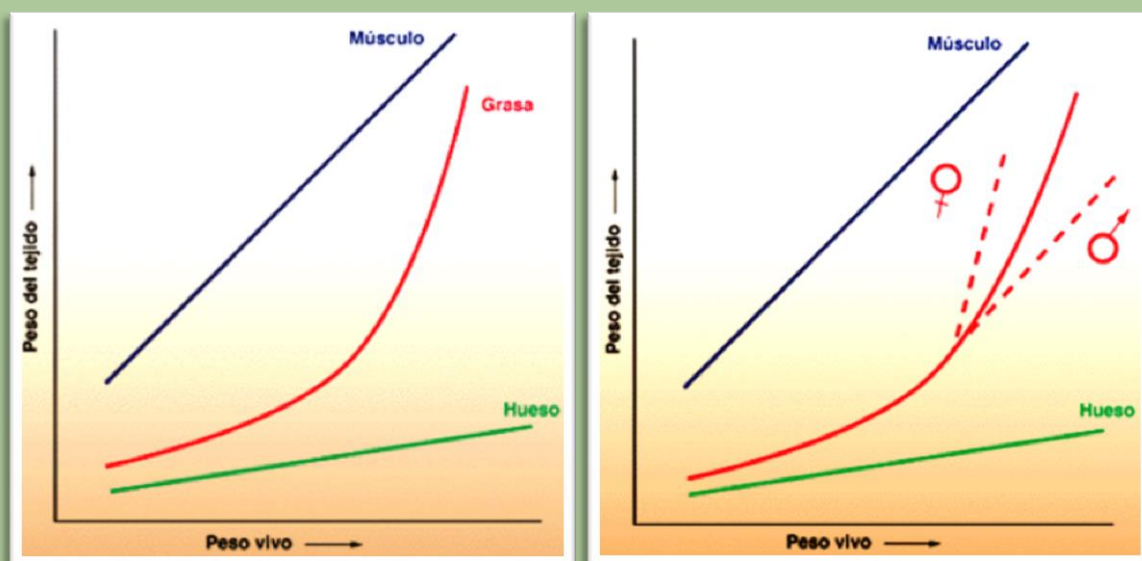


Figura 1. Influencia del sexo en la deposición de grasa.



Posteriormente, se llevaron a cabo los distintos análisis para evaluar el efecto de la inmunocastración en la **composición físico-química de los lomos frescos** procedentes del músculo *Longissimus dorsi* de las hembras Ibéricas (IB x D) en estudio (Tabla 2). En este sentido, las hembras inmunocastradas no se vieron afectadas desde el punto de vista del **color** del músculo *Longissimus dorsi*. Esto se encuentra en concordancia con los datos obtenidos por Serrano *et al.* (2008), quién no observó diferencia alguna en el color entre distintos lotes de animales Ibéricos (IB x D): machos castrados, hembras castradas y hembras enteras; y también con los resultados de Peinado *et al.* (2012) en cerdos híbridos de razas comerciales (Landrace x Large White dams x Duroc sires). Sin embargo, en los resultados publicados por Serrano *et al.* (2009) en cerdas Ibéricas (IB x D), se obtuvieron valores mayores de L^* , a^* , b^* en las hembras enteras respecto a las castradas. Este hecho es de gran interés porque el **color es una de las características más valoradas en la carne fresca**, el cual va a influenciar en gran medida la **elección por parte del consumidor** (Carpenter *et al.*, 2001). En este sentido, el consumidor va a valorar que la pieza de carne fresca esté bien estructurada, y que tenga un color estable y rosáceo, con una fina película de grasa blanquecina (Tovar, 2009), como así fue el caso de los lomos frescos de este estudio, donde los parámetros de color de los tres grupos de tratamiento están dentro de los parámetros standard de calidad en carne fresca (Tejerina *et al.*, 2012). Además, no se observaron diferencias significativas para los valores de **pH** entre los distintos grupos experimentales. Asimismo, algunos estudios (Juncher *et al.*, 2001) han reportado el **pH final como uno de los parámetros más importantes** para explicar las diferencias de color, oxidación lipídica y pérdidas por goteo durante el almacenamiento y refrigeración de cerdos. La industria cárnica posee un gran interés en la optimización de la capacidad de retención de agua, limitando las pérdidas de fluidos durante el sacrificio y posterior manipulación, puesto que implica importantes pérdidas económicas (Maribo *et al.*, 1998). En los resultados obtenidos en nuestros **lomos frescos**, tampoco se encontraron diferencias significativas respecto a parámetros de calidad como la **humedad y capacidad de retención de agua** entre los tres grupos experimentales. Sin embargo, en el estudio de Škrlep *et al.* (2012), que evaluaron los efectos de la inmunocastración en cerdos machos (Large White



Landrance x Duroc), encontraron menores pérdidas por goteo en los machos inmunocastrados en comparación con los enteros, lo cual supondría un beneficio tanto desde el enfoque económico para los industriales cárnicos (evitar pérdidas por goteo), como desde el punto de vista de calidad de carne fresca. En esta dirección, muchas de las propiedades físicas de la carne fresca como es el caso del color, la textura y la firmeza dependen en parte de la capacidad de ésta para retener el agua libre (Lawrie, 1998), que a su vez, como se ha mencionado previamente, está relacionada directamente con el pH final de la misma. Por tanto, el agua va a jugar un papel fundamental debido a su implicación en las características sensoriales de la carne, lo cual determinará la adquisición final por parte del consumidor. Se ha demostrado que carnes con una baja CRA tienen peores propiedades de aspecto (Kauffman *et al.*, 1978 y Smith y Lesser, 1982), donde se puede observar un detrimento en la frescura y en la textura debido a las grandes pérdidas de agua por exudados, y por tanto, la consiguiente pérdida de jugosidad (Wheeler *et al.*, 1990).

La **composición química del músculo *Longissimus dorsi* no se vio afectada por la inmunocastración**, esto concuerda con los datos publicados por varios autores (Serrano *et al.*, 2008; Peinado *et al.*, 2012) para hembras enteras y castradas quirúrgicamente. La media del contenido de **GIM** en el músculo *Longissimus dorsi* fue aproximadamente del 3,5%, este valor es inferior al 10% y 8% obtenidos por Serrano *et al.* (2008) y Serrano *et al.* (2009) respectivamente. Sin embargo, está en concordancia con el 4,5% encontrado por Ramírez & Cava (2007) para el contenido en GIM de hembras Ibéricas (IB × D). Esto podría deberse a que las muestras de **lomos frescos** (*Longissimus dorsi*), utilizadas en nuestros experimentos, correspondían a muestras a las que se les había retirado la grasa intermuscular tal y como ocurría en el estudio de Ramírez *et al.* (2007), mientras que por el contrario en las muestras utilizadas por Serrano *et al.* (2008) y Serrano *et al.* (2009) no se les retiró la grasa intermuscular y el tejido conectivo sobrante. En el porcentaje de GIM no se observaron diferencias significativas entre los grupos de hembras inmunocastradas, castradas y enteras, lo cual concuerda con los resultados de Serrano *et al.* (2008) y Peinado *et al.* (2012). No obstante, Serrano *et al.* (2009) obtuvo mayores valores en el contenido de GIM en hembras castradas respecto a las hembras enteras. Asimismo, es bien sabido que el



contenido en GIM va a influir en la estabilidad oxidativa de las distintas piezas cárnicas. En nuestro estudio se observó, al igual que para el caso del porcentaje de GIM, que en el **contenido de malonaldehído** (indicador de la estabilidad de oxidación lipídica) de los lomos frescos (*Longissimus dorsi*) tampoco se vieron diferencias significativas entre las hembras inmunocastradas, castradas quirúrgicamente y enteras. En esta línea, para el correcto procesado de productos curados de alta calidad van a tener gran importancia tanto un elevado contenido en GIM como la estabilidad oxidativa de la misma, los cuales influirán notablemente en el proceso de desecación y maduración del producto (Ruiz *et al.*, 2002c; Muriel *et al.*, 2004a).

Después de realizar los análisis de las características de calidad de las canales y de los lomos frescos (*Longissimus dorsi*), se llevó a cabo la evaluación del efecto de la inmunocastración en la **composición físico-química de las paletas y los lomos curados** (*Longissimus dorsi*) procedentes de las mismas hembras Ibéricas (IB x D) (Tablas 3 y 4, respectivamente). No se observaron diferencias significativas en la composición físico-química de las paletas curadas entre los tres grupos experimentales. Estos resultados están en concordancia con la ausencia de diferencias encontradas en las características composicionales y de calidad de la carne fresca (*Longissimus dorsi*), procedentes de los mismos animales estudio (Gamero-Negrón *et al.*, 2015a). En relación a la **GIM**, no se encontraron diferencias significativas entre las hembras castradas e inmunocastradas y las enteras, lo cual **podría deberse a la gran heterogeneidad** que presentan **las paletas curadas** como producto. De la misma manera, tampoco se detectaron diferencias significativas en la **oxidación lipídica** entre los grupos estudio, por lo que se puede decir que **la calidad de las paletas curadas no se vio afectada** en modo alguno **por el estatus de castración**. La composición química de las paletas curadas fue similar a los datos reportados por Reina *et al.* (2013), quien estudió paletas curadas de cerdos híbridos de razas comerciales (sows, Landrace x Large White; sire, Duroc). Sin embargo, debido al **mayor carácter adipogénico** que presentan los **cerdos Ibéricos** respecto a otros animales de razas comerciales (Mourot & Kouba, 1998; Morales *et al.*, 2002), el porcentaje de GIM fue mayor en nuestro estudio, mientras que por el contrario, el contenido de proteínas tuvo valores inferiores a aquellos resultados obtenidos por Reina *et al.* (2013), como cabía esperar. Asimismo, las paletas curadas



Ibéricas mostraron resultados comparables a los datos obtenidos por Sánchez del Pulgar *et al.* (2013b) en jamones curados de cerdos Ibéricos.

En el caso del lomo, sí se observaron diferencias significativas en **los pesos de lomos frescos**, donde las hembras enteras tuvieron los mayores valores comparados con las castradas e inmunocastradas. También el contenido de **GIM de los lomos curados se vio afectado por la inmunocastración** (Tabla 4). Estas diferencias obtenidas respecto a los resultados de las paletas curadas, podrían explicarse en función de la **mayor homogeneidad que presenta el lomo curado** como producto, la cual nos permitiría detectar con mayor facilidad los posibles efectos de la inmunocastración sobre la calidad final de carne en productos curados. En este sentido, las hembras inmunocastradas presentaron valores mayores (9.21 %) que las cerdas enteras (5.69 %), mientras que las hembras castradas quirúrgicamente mostraron porcentajes de GIM intermedios (7.79 %). Esto podría deberse al hecho de que las hembras inmunocastradas tuvieron pesos vivos mayores comparadas con las cerdas enteras y las castradas (Gómez-Fernández *et al.*, 2013), esto puede condicionar una mayor deposición de grasa. Estos resultados están en desacuerdo con aquellos obtenidos en lomo fresco (*Longissimus dorsi*), para las mismas hembras Ibéricas (Gamero-Negrón *et al.*, 2015a) donde no se encontraron diferencias significativas. Esta falta de concordancia entre los resultados obtenidos en lomos frescos y curados, podría tener su explicación en que las muestras analíticas de **los lomos frescos fueron seleccionadas de la mitad caudal** del músculo *Longissimus dorsi* (Gamero-Negrón *et al.*, 2015a) denominada *Longissimus lumborum* (Kauffman *et al.*, 1990), mientras que en el caso de **los lomos curados** las muestras se tomaron **de la parte craneal denominada Longissimus thoracis** (Kauffman *et al.*, 1990), lugar en el cual se va a producir una **mayor deposición de grasa** (Ventanas, 2006). En este sentido, los porcentajes de GIM (expresados respecto a la materia seca) encontrados en ambos grupos de hembras castradas en lomos curados (*Longissimus thoracis*), fueron claramente superiores a aquellos observados en lomos frescos (*Longissimus lumborum*) en los mismos grupos experimentales (Tablas 4 y 2, respectivamente), mientras que en el caso de las cerdas enteras se percibieron ligeras diferencias pero de manera inversa. Estas diferencias se observan con mayor nitidez cuando la deposición



de grasa se acentúa, tal y como fue el caso de las hembras castradas e inmunocastradas. Asimismo, esto podría tener su explicación en las **ondas de crecimiento heterogónico** propuestas por Hammond (1966) (Figura 2), el cual definió la primera onda de crecimiento (onda axial), como aquella que recorre el eje longitudinal del animal, se origina en el cráneo y se dirige hacia atrás hasta la región lumbar. Esta onda axial es la responsable del crecimiento en largo del animal. De esto se deduciría que la **región lumbar (*Longissimus lumborum*) del cerdo es una de las más tardías en lograr su desarrollo completo**, por lo tanto la **zona craneal del lomo va a ser donde tenga lugar una mayor y más temprana deposición de GIM**.

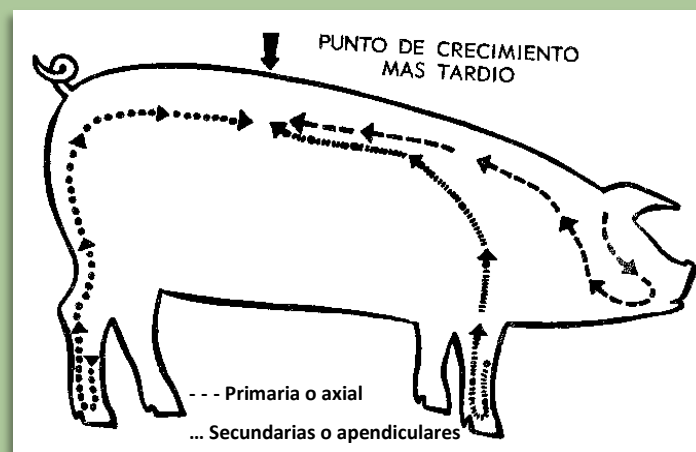


Figura 2. Ondas de crecimiento heterogónico de Hammond

El **mayor valor de GIM de los lomos curados** encontrado en el grupo de **inmunocastradas es considerado un aspecto positivo**, puesto que la GIM juega un papel decisivo en el desarrollo de las distintas propiedades sensoriales en los productos curados (Ruiz *et al.*, 2000; Ventanas *et al.*, 2005). Varios estudios llevados a cabo en piezas enteras de productos Ibéricos curados, tales como jamones, paletas y lomos curados, han confirmado la influencia del contenido graso, particularmente del contenido de GIM, en la mayoría de las características sensoriales incluyendo el aroma, el cual se vincula a una alta calidad sensorial en este tipo de productos curados (Muriel *et al.*, 2004a; Ruiz *et al.*, 2002b; Ventanas *et al.*, 2005). Por otro lado, el resto de **los parámetros físico-químicos de los lomos curados no se vieron afectados por la inmunocastración**. Asimismo, las características físico-químicas generales de los lomos



curados mostraron unos valores similares a aquellos publicados por Ramírez & Cava (2007), quien estudió el efecto del genotipo Ibérico x Duroc en calidad de lomos curados.

Se evaluó la influencia de la inmunocastración en la **composición de ácidos grasos** de la **grasa dorsal** y la **GIM** del **músculo *Longissimus dorsi*** en hembras Ibéricas (IB x D) (Tablas 5 y 6, respectivamente). La inmunocastración no tuvo efecto en la composición de ácidos grasos de la grasa dorsal, ni tampoco en la de la GIM del músculo *Longissimus dorsi*. Estos datos van en la línea de los resultados obtenidos por varios autores, tales como Serrano *et al.* (2008) que no encontró diferencias significativas en el perfil de ácidos grasos de la grasa dorsal de hembras Ibéricas (IB x D) castradas quirúrgicamente y enteras, y también con el primer experimento descrito por Peinado *et al.* (2012) en hembras de razas de cruces comerciales. Contrariamente, Serrano *et al.* (2009) obtuvo un mayor porcentaje de ácidos grasos saturados en las hembras Ibéricas (IB x D) castradas que en aquellas enteras. En la misma dirección tenemos el segundo experimento descrito por Peinado *et al.* (2012), donde las hembras castradas mostraron las mayores proporciones de ácido palmítico (C 16:0) y las menores de ácido linoleico (C 18:2), respecto a las hembras enteras. Esto podría deberse al **efecto intrínseco de la castración** sobre los animales, que potencia una **mayor deposición de grasa** (Barton-Gade *et al.*, 1987; Fischer y Weiler, 1994; Neuper *et al.*, 1995). Además este incremento del contenido graso de los cerdos podría envolver una mayor **síntesis de novo** de los ácidos grasos, la cual va a dar lugar principalmente al desarrollo de ácidos grasos saturados (Salati & Goodridge, 1996). En este sentido, esta vía de formación de ácidos grasos **se vincula con la alimentación recibida** por parte de los animales. Dicha alimentación va a incidir directamente sobre la composición de la carne, que afecta al contenido de grasa, el color de la carne (Priolo *et al.*, 2001) y otras propiedades sensoriales de la misma, afectando por lo tanto a la calidad del producto final. Además, estos resultados son análogos a los de estudios previos donde se compara el perfil de ácidos grasos de la grasa dorsal de cerdos inmunocastrados y castrados quirúrgicamente. De este modo, la ausencia de diferencias significativas en el porcentaje de ácidos grasos saturados va en la misma línea que los datos encontrados por Font i Furnols *et al.* (2009b; 2012) y Boler *et al.*



(2011a), pero en oposición a Pauly *et al.* (2009) que encontró una mayor proporción de ácidos grasos saturados en los machos castrados quirúrgicamente que en los inmunocastrados. Asimismo, esta carencia de diferencias significativas, en el porcentaje de ácidos grasos saturados, está en concordancia con aquellos resultados encontrados previamente en el contenido de GIM de los mismos lomos frescos (*Longissimus dorsi*), donde no se observaron diferencias significativas desde el punto de vista del contenido graso. Además, no se observaron diferencias respecto a los porcentajes de ácidos grasos monoinsaturados, lo cual coincide con los datos publicados por Pauly *et al.* (2009), Boler *et al.* (2011b) y Font i Furnols *et al.* (2012). Sin embargo, Font i Furnols *et al.* (2009b) obtuvo una mayor proporción en los ácidos grasos monoinsaturados de la grasa dorsal de machos castrados quirúrgicamente, que en aquella encontrada en machos inmunocastrados. Finalmente, la carencia de diferencias significativas observadas en el porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados, entre los grupos de tratamiento, concuerda con los resultados de Boler *et al.* (2011b) y Font i Furnols *et al.* (2012); mientras que por el contrario Font i Furnols *et al.* (2009b) y Pauly *et al.* (2009) obtuvieron mayores valores en el contenido de ácidos grasos poliinsaturados de cerdos inmunocastrados con respecto a los machos castrados quirúrgicamente.

De igual manera, se evaluó el efecto de la inmunocastración en la **composición de ácidos grasos** de la **GIM en las paletas y en los lomos curados** de las mismas hembras Ibéricas (IB x D), (Tablas 7 y 8, respectivamente). Como se puede observar en la tabla 7, la composición de ácidos grasos de la GIM de las paletas curadas no mostró diferencias significativas en el porcentaje de ácidos grasos saturados, en concordancia con los datos hallados por Font i Furnols *et al.* (2012). Tampoco se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados. Sin embargo, esto se encuentra en desacuerdo con Font i Furnols *et al.* (2012), quien encontró los valores más bajos en los machos inmunocastrados. Asimismo, esta ausencia de diferencias significativas tanto en el porcentaje de ácidos grasos saturados como en el de los monoinsaturados coincide con los resultados obtenidos previamente respecto al contenido de GIM en las mismas paletas curadas. No obstante, contrariamente a Font i Furnols *et al.* (2012) se encontraron diferencias significativas



en los ácidos grasos polinsaturados, donde los valores mayores fueron para las hembras castradas quirúrgicamente, seguidas de las hembras enteras y las inmunocastradas, respectivamente. Este resultado estuvo influenciado por el porcentaje del ácido linoleico (C18:2), el cual es el mayoritario de los ácidos grasos polinsaturados de la GIM. En la misma dirección, los mayores valores para los ácidos linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3) se observaron en las hembras castradas, enteras e inmunocastradas, respectivamente. Este hecho debería tenerse en cuenta, puesto que se ha estudiado como **altos contenidos en ácidos grasos polinsaturados incrementan el índice de oxidación lipídica** y por lo tanto podrían afectar al aroma, flavor y calidad general de los productos (Wood *et al.*, 2003). No obstante, no se encontraron diferencias significativas en el contenido en **malonaldehído** entre los grupos estudiados (Gamero-Negrón *et al.*, 2015b).

Por otro lado, en el caso de los **lomos curados** no se encontraron diferencias significativas en la **composición de ácidos grasos de la GIM** respecto al porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados entre los grupos de tratamiento (Tabla 8), lo cual concuerda con los resultados obtenidos en los lomos frescos. Sin embargo, tanto en el porcentaje total de ácidos grasos saturados como en el de ácidos grasos polinsaturados se percibieron diferencias significativas entre las hembras castradas, inmunocastradas y enteras. Las cerdas inmunocastradas presentaron los mayores valores de ácidos saturados y los menores de ácidos polinsaturados. Contrariamente las hembras enteras reflejaron estos datos a la inversa, mientras que las cerdas castradas mostraron las puntuaciones intermedias. Estos resultados se encuentran en discordancia con aquellos obtenidos en los lomos frescos, donde no se percibieron diferencias significativas tanto en el porcentaje de ácidos grasos saturados como en el de los poliinsaturados. Este hecho se podría deber a la mayor deposición de grasa encontrada en las hembras inmunocastradas, la cual se encuentra positivamente influenciada por el peso vivo de los animales (Gómez-Fernández *et al.*, 2013). Esta **mayor acumulación de grasa** en las **hembras inmunocastradas** podría implicar una **mayor síntesis de ácidos grasos saturados a través de la síntesis *de novo*** (Salati & Goodridge, 1996). Por lo tanto, estas diferencias encontradas entre lomos frescos y curados podrían deberse a que las muestras analíticas, como ya se ha mencionado con



anterioridad, pertenecieron a diferentes áreas del lomo. Mientras que para el **lomo fresco** las muestras se seleccionaron de la **mitad caudal** del músculo (*Longissimus lumborum*), en el caso de los **lomos curados** las muestras se tomaron de la **parte craneal** (*Longissimus thoracis*), donde tiene lugar una **mayor deposición de grasa** (Ventanas, 2006). En la misma dirección, las mayores puntuaciones para el ácido mirístico (C 14) y el ácido palmítico (C 16) fueron registradas en el grupo de inmunocastradas. Sin embargo para el ácido pentadecanoico, los valores mayores se indicaron en las hembras enteras. Respecto a los ácidos grasos monoinsaturados, el mayor porcentaje de ácido miristoleico (C 14:1) fue para las hembras inmunocastradas, mientras que los mayores valores de ácido oleico (C 18:1) se encontraron en las enteras. Por otro lado, el porcentaje individual de ácidos grasos polinsaturados tales como el ácido linoleico (C 18:2) y el ácido araquidónico (C 20:4) mostraron las mayores puntuaciones en las hembras enteras. Asimismo, estos resultados están en concordancia con el mayor contenido de GIM encontrado en hembras inmunocastradas en los lomos curados, lo cual implica una importante transformación de la energía de los hidratos de carbono provenientes de la dieta en ácidos grasos a través de la vía de síntesis *de novo*. Con el fin de profundizar en esta teoría, se estudiaron las **correlaciones entre el contenido de GIM y los ácidos grasos** de los tres grupos de tratamiento, las cuales se muestran en la tabla 9. En ella se observa como aquellos ácidos grasos producidos principalmente a través de la síntesis *de novo*, tales como los ácidos mirístico, palmítico y esteárico, y el total de ácidos grasos saturados, se correlacionaron positivamente con el contenido de GIM. Sin embargo, el ácido pentadecanoico fue negativamente correlacionado con la GIM, ya que los ácidos grasos de átomos impares de carbono no se producen por esta vía (Salati & Goodridge, 1996). También los ácidos grasos insaturados, tales como el ácido oleico, linoleico y araquidónico y el total de los ácidos grasos polinsaturados fueron negativamente correlacionados con el contenido de GIM.

Sería importante remarcar que tanto las diferencias de **edades a sacrificio**, como el **tiempo transcurrido desde la última dosis hasta matadero** podrían causar diferencias en el porcentaje de GIM, y por tanto en el perfil de los ácidos grasos. Esto explicaría la **heterogeneidad de los resultados** encontrados por diferentes autores en



la literatura científica (Font i Furnols *et al.* (2009b; 2012); Boler *et al.* (2011a y b); Pauly *et al.* (2009)). Dichos ensayos se realizaron a distintas edades de sacrificio y también con períodos de tiempo desde la última dosis a matadero más cortos que en nuestro estudio (4-6 semanas vs 14.5 (Gamero-Negrón *et al.* 2015a y b), además de las diferencias ya existentes motivadas por las distintas **razas** utilizadas en ellos. Las diferentes edades de sacrificio van a condicionar la **deposición de la GIM** en los animales, ya que según la **triple curva de deposición de grasa**: primero se acumularía la grasa subcutánea, segundo la grasa intermuscular y por último se depositaría la GIM. Esta GIM se va a acumular al final de la etapa de crecimiento, por lo tanto las razas porcinas pesadas (razas comerciales) podrían tener un bajo índice de grasa de infiltración cuando se sacrifican anticipadamente, tal y como es el caso de algunos de los estudios mencionados (Font i Furnols *et al.*, 2009a; Gispert *et al.*, 2010; Oliver *et al.*, 2003; Boler *et al.*, 2011b; Pauly *et al.*, 2009). Asimismo el factor del **género** también se debería tener en cuenta, ya que en la literatura disponible desde el punto de vista de la GIM y el perfil de ácidos grasos, sólo se han realizado ensayos de inmunocastración en machos (Font i Furnols *et al.*, 2009a; 2012), Mientras que el presente trabajo en la evaluación de la inmunocastración en calidad de carne, tanto fresca como curada, ha sido pionero en hembras Ibéricas (Gamero-Negrón *et al.*, 2015a y b). Razón por la cual, encontramos una carencia de estudios previos relativos a la inmunocastración de hembras porcinas, desde el punto de vista de calidad de carne fresca y curada, que permitan establecer una buena comparativa con los resultados obtenidos en la GIM y el perfil de ácidos grasos de las hembras en estudio.

El **olor y flavor** son las características sensoriales más importantes en los productos curados (Sahidi, 1994), y dependen fundamentalmente de la composición tanto cualitativa como cuantitativa de **compuestos volátiles**, que a su vez depende en gran medida del **contenido y composición de la GIM**. Por ello, para realizar un estudio profundo del efecto de la inmunocastración sobre dichas características, se analizó el perfil de VOCs utilizando dos técnicas complementarias. En primer lugar se empleó la técnica de Proton Transfer Reaction-Time of Flight-Mass Spectrometry (PTR-ToF-MS), que permite realizar un análisis rápido y de alta sensibilidad, muy útil como *finger-print*. A continuación se utilizó la técnica convencional de cromatografía de gases con



detector de espectro de masas (GC-MS), en este caso utilizando la microextracción en fase sólida (SPME) para la extracción y concentración de los compuestos del espacio de cabeza. Los resultados de ambas técnicas fueron compatibles para ambos productos. En el caso de las paletas, tanto el análisis rápido mediante PTR-ToF-MS como el realizado mediante SPME-GC-MS indicaron **una amplia variabilidad** en las muestras, **ajena al estatus reproductivo de las hembras** (Figuras 3 y 4, respectivamente), lo cual concuerda con la ausencia de diferencias encontradas en los parámetros físico-químicos. El análisis mediante **PTR-ToF-MS** indicó el método de castración (quirúrgico o inmunológico) como la segunda fuente de varianza (16 %), mostrando gran heterogeneidad en el grupo de hembras enteras, mientras que el **análisis gascromatográfico** identificó la condición de entera o castrada la segunda fuente de varianza (14,6 %), otorgando al método de esterilización una contribución menor a dicha variabilidad (9,1 %).

En el caso de los lomos curados se percibió una **mayor homogeneidad** en las muestras, y de acuerdo con lo observado en la composición físico-química, las diferencias en el perfil de compuestos volátiles entre los tres grupos fueron más marcada. Así, el análisis rápido del PTR-ToF-MS mostró una separación evidente entre las muestras de lomos procedentes de cerdas castradas quirúrgicamente e inmunocastradas, mientras que las muestras procedentes de hembras enteras se distribuyeron de forma heterogénea (Figura 5). Sin embargo, el análisis gascromatográfico mostró un efecto preponderante del estado fisiológico de los animales en estudio (enteras versus castradas) sobre el perfil de VOCs, y un efecto menor (aunque evidente) del método de castración (Figura 6).

De acuerdo con los resultados anteriormente expuestos tanto para el análisis mediante PTR-ToF-MS como para aquel a través de SPME-GC-MS, el **ANOVA de las paletas curadas** no mostró diferencias significativas entre los grupos estudiados. Esto podría ser debido a la **gran variabilidad interna** de las muestras de paletas curadas, que es **comparable** a la variabilidad relacionada con los **efectos de la castración**. Si bien en el **ANOVA** realizado con los datos de **SPME-GC-MS** en los lomos curados no se observaron diferencias significativas entre los grupos estudiados (datos no



mostrados), en el efectuado con los datos de **PTR-ToF-MS de los lomos curados** se encontraron algunos picos de masas significativamente diferentes entre hembras castradas quirúrgicamente e inmunocastradas, donde las hembras enteras presentaron los valores intermedios (Tabla 10). Además, estos resultados están de acuerdo con las diferencias encontradas en la composición físico-química. Por regla general, los **lomos curados** pertenecientes a las **hembras inmunocastradas** presentaron los **valores más elevados de los VOC** encontrados en diferentes concentraciones entre los grupos de tratamiento (Tabla 10). Los **aldehídos de cadena corta, ácidos y ésteres** proceden principalmente del metabolismo microbiano (Kandler, 1983; Sunesen *et al.*, 2001; Ruiz *et al.*, 2002a), y además son **importantes VOC** que conforman el **flavor** en los productos **cárnicos curados** (Stahnke, 1994; Carrapiso *et al.*, 2002; Ruiz *et al.*, 2002a). Dichos compuestos mostraron mayores valores en los lomos curados de hembras inmunocastradas. Por otro lado, el 3-methylbutanal y el 2-methylbutanal provienen de las reacciones de Strecker de los aminoácidos leucina e isoleucina respectivamente (Barbieri *et al.*, 1992; Ruiz *et al.*, 2002a), y del metabolismo microbiano (Hinrichsen & Pedersen, 1995; Ruiz *et al.*, 2002a). Estos compuestos, que han sido identificados como VOC importantes en la formación del aroma característico de los lomos Ibéricos curados (Muriel *et al.*, 2004b; Soto *et al.*, 2008; Ventanas *et al.*, 2008), fueron mayores en el grupo de hembras inmunocastradas. De manera similar, en el caso del ácido 3-methylbutanoic y el 2-methylbutanoic los mayores valores se observaron en los lomos curados de cerdas inmunocastradas. Estos compuestos surgen del metabolismo microbiano de los aminoácidos leucina e isoleucina respectivamente (Sthanke, 1995), y además han sido encontrados en el perfil de VOC del lomo Ibérico curado (Muriel *et al.*, 2004b; Ventanas *et al.*, 2008). En la misma dirección, la 2, 3-butanediona mostró mayores valores en el grupo de inmunocastradas. Este compuesto proviene de las reacciones de Maillard, de la oxidación lipídica y del metabolismo microbiano (Ruiz *et al.*, 2002a), y además ha sido identificada en el perfil de VOC de lomos Ibéricos curados (Ventanas *et al.*, 2008). Por otro lado, el 1-methylpyrrol fue mayor en ambos grupos de hembras castradas en comparación con las cerdas enteras. Este compuesto ha sido descrito en estudios previos en lomos Ibéricos curados (Muriel *et al.*, 2004b; Soto *et al.*, 2008), y



parece provenir del pimentón (Mateo *et al.*, 1997; Vidal *et al.*, 2005), utilizado en el proceso de curación de los lomos Ibéricos. La mayor concentración de este compuesto en hembras castradas quirúrgicamente e inmunocastradas podría ser debida al mayor contenido de GIM encontrado en estos grupos de tratamiento (Gamero-Negrón *et al.*, 2015b), lo cual permitiría una mejor difusión hacia la parte interna de los lomos curados. Los resultados obtenidos sugieren una **mayor formación de VOC** a través de las reacciones de tipo **Maillard y Strecker**, y el **metabolismo microbiano** en los **lomos curados** pertenecientes a las **hembras inmunocastradas**. Algunos de estos VOC han sido descritos como **importantes compuestos olor-activo en jamones Ibéricos curados** (Carrapiso *et al.*, 2002; Sánchez del Pulgar *et al.*, 2013c), y en estudios de salchichón (Stahnke, 1994). Por lo tanto, una mayor concentración de estos compuestos podría ser interesante desde un punto de vista de **calidad sensorial** en este tipo de productos curados.

Otro aspecto de gran importancia en la evaluación de la **calidad de productos curados** es su **análisis sensorial** con un panel entrenado de catadores. Este análisis va a servir como indicador de calidad relacionando los distintos descriptores con parámetros de calidad, lo cual va a determinar la aceptación final por parte de los consumidores. Por consiguiente, se realizó la **evaluación sensorial de las paletas y lomos curados** mediante un método de **análisis cuantitativo-descriptivo** (AQD) para 19 atributos diferentes. En los resultados obtenidos para las **paletas curadas** no se observaron diferencias significativas entre los tres grupos de tratamientos (Tabla 11). Además, tampoco se encontraron correlaciones de Pearson significativas entre los atributos sensoriales y el contenido de GIM (datos no mostrados). Esto se podría deber a la **heterogeneidad** que presentan las **paletas curadas**, como se ha explicado anteriormente, que podría **enmascarar la variabilidad relacionada** con el efecto de la **castración** de las hembras.

Por el contrario, en el análisis sensorial de los **lomos curados** los panelistas percibieron diferencias en algunos rasgos de apariencia (Tabla 12). Estas diferencias significativas se observaron en el **brillo** y el **veteado**, donde los **mayores valores** fueron para los lomos curados procedentes de **hembras inmunocastradas** en ambos



atributos. Estos resultados concuerdan con el mayor porcentaje de GIM encontrado en los lomos curados del grupo de inmunocastradas. Por esta razón, se realizaron **correlaciones** entre el contenido de **GIM y los atributos sensoriales** generales (Tabla 13). Como se puede observar en la tabla, el contenido de GIM fue positivamente correlacionado con el brillo. Estos resultados van en la misma línea de estudios preliminares en productos Ibéricos curados (Muriel *et al.*, 2004a; Ruiz *et al.*, 2000), donde se describió una influencia positiva del contenido de GIM en descriptores sensoriales como el brillo y el veteado. Asimismo, el veteado ha sido vinculado directamente al contenido de GIM de productos Ibéricos curados (Muriel *et al.*, 2004a; Ruiz *et al.*, 2000), lo cual, es además considerado un **índice de alta calidad por los consumidores** en este tipo de productos (Ventanas, 2006).

El panel entrenado no encontró diferencias significativas en cuanto a la textura en boca. No obstante, el contenido de GIM se correlacionó positivamente con la **jugosidad**, considerada un atributo positivo y muy apreciado por los **consumidores** como un **índice de calidad**. Contrariamente, la masticabilidad fue negativamente correlacionada con la GIM. Se ha establecido que el contenido de GIM influye en los rasgos de textura; tales como jugosidad, dureza, fluidez de la grasa y fibrosidad (Cava *et al.*, 2000; Ruiz *et al.*, 2000)

Las características relacionadas con el **olor** de los lomos curados, como la **intensidad, el olor a curado y adobo**, no se vieron significativamente influenciadas por la inmunocastración, a pesar de las diferencias encontradas en algunos VOCs identificados como importantes compuestos **olor-activos** en productos curados. Sin embargo, el contenido de GIM se correlacionó positivamente con la intensidad de olor. Además se observó una correlación positiva entre la GIM y el olor a adobo, lo cual podría ser debido a que la GIM ayuda a la difusión de los VOC, la mayoría de ellos con baja polaridad, hacia la región interna del lomo curado. La percepción sensorial relacionada con el olor es uno de los atributos sensoriales más influyentes sobre la **aceptabilidad** de productos Ibéricos curados, y se vincula positivamente a la elección por parte del **consumidor** (Ruiz *et al.*, 2002b).



En general, las características de **flavor** de los lomos curados no se vieron afectadas por el estatus de castración. Los panelistas no encontraron ningún tipo de diferencia en la percepción del **flavor a rancio**, a pesar de que las hembras inmunocastradas tuvieron los mayores porcentajes de GIM, si bien esto concuerda con la ausencia de diferencias en el contenido de **malonaldehído**. Esto podría ser debido al hecho que el grupo de inmunocastradas presentó los mayores porcentajes de ácidos grasos saturados y los valores más bajos de ácidos grasos poliinsaturados, mientras que las hembras enteras reflejaron estos datos a la inversa, y las castradas mostraron los valores intermedios. Este menor contenido de ácidos grasos poliinsaturados encontrado en los lomos curados del grupo de hembras inmunocastradas podría prevenir la excesiva oxidación de la grasa, responsable de la generación del **flavor a rancio**.



6



Bibliografía General





6. BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Albrecht, A.K. (2011). Growth performance, carcass characteristics, meat quality and behaviour of Improvac TM-treated male pigs in comparison with intact boars and barrows. PhD. Thesis. University of Veterinary Medicine Hannover.
- Aldal, I., Andresen, O., Egeli, A.K., Haugen, J.E., Grodum, A., Fjetland, O., Eikaas, J.L.H. (2005). Levels of androstenone and skatole and the occurrence of boar taint in fat from young boars. *Livestock Production Science* 95, 121–129.
- Allison, J., Wright, N., Martin, S., Wilde, N., Izumi, E. (2008). Consumer acceptance of the use of vaccination to control boar taint. In: Book of Abstracts of the 59th Annual Meeting of the European Association of Animal Production, Vilnius, Lithuania, p. 97.
- Aluwé, M., Langendries, K.C.M., Bekaert, K.M., Tuytens, F.A.M., De Brabander, D.L., De Smet, S., Millet, S. (2013). Effect of surgical castration, immunocastration and chicory-diet on the meat quality and palatability of boars. *Meat Science*, 94, 402-407.
- Andrade, M.J.; Córdoba, J.J.; Sánchez, B.; Casado, E.M. y Rodríguez, M. (2009). Evaluation and selection of yeasts isolated from dry-cured Iberian ham by their volatile compound production. *Food Chemistry*, 113, 457-463.
- Andrés, A.I.; Cava, R. y Ruiz, J. (2002). Monitoring volatile compounds during dry-cured ham ripening by solid-phase microextraction coupled to a new direct-extraction device. *Journal of Chromatography*, 963, 83-88.
- Antequera, T., García, C., López, C., Ventanas, J., Asensio, M. A. & Córdoba, J. J. (1994). Evolution of different physical-chemical parameters during ripening Iberian ham from Iberian (100%) and Iberian x Duroc pigs (50%). *Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 34, 178–190.
- AOAC (2000), Official Methods of Analysis (17th ed,) Gaithersburgh, Maryland: Association of Official Analytical Chemists.
- Apréa, E., Biasioli, F., Mark, T.D. & Gasperi, F. (2007c). PTR-MS study of esters in water and water/ethanol solutions: Fragmentation patterns and partition coefficients. *International Journal of Mass Spectrometry*, 262, 114–121.



- Apréa, E.; Biasioli, F.; Carlin, S.; Versini, G.; Märk, T.D. y Gasperi, F. (2007b). Rapid white truffle headspace analysis by proton transfer reaction mass spectrometry and comparison with solid-phase microextraction coupled with gas chromatography/mass spectrometry. *Rapid communications in mass spectrometry*, 21, 2564-2572.
- Apréa, E.; Biasioli, F.; Gasperi, F.; Märk, T.D. y van Ruth, S. (2006). *In vivo* monitoring of strawberry flavour release from model custards: effect of texture and oral processing. *Flavour and Fragrance Journal*, 21, 53-58.
- Apréa, E.; Biasioli, F.; Gasperi, F.; Mott, D.; Marini, F. y Märk, T.D. (2007a). Assessment of Trentingrana cheese ageing by proton transfer reaction-mass spectrometry and chemometrics. *International Dairy Journal*, 17, 226-234.
- Araghipour, N.; Colineau, J.; Koot, A.; Akkermans, W.; Moreno Rojas, J.M.; Beauchamp, J.; Wisthaler, A.; Märk, T.D.; Downey, G.; Guillou, C.; Mannina, L. y Van Ruth, S. (2008). Geographical origin classification of olive oils by PTR-MS. *Food Chemistry*, 108, 374-383.
- Aristoy, M.C. y Toldrá, F. (1998). Concentration of free amino acids and dipeptides in porcine skeletal muscles with different oxidative patterns. *Meat Science* 50, 327-332.
- Babol, J., Squires, E. J. & Lündstron, K. (1999). Relationships between metabolism of androstenone and skatole. *Journal of Animal Science*, 77, 84-92.
- Babol, J., Zamaratskaia, G., Juneja, R.K., Lundstrom, K. (2004). The effect of age on distribution of skatole and indole levels in entire male pigs in four breeds: Yorkshire, Landrace, Hampshire and Duroc. *Meat Science* 67, 351-358.
- Backus, G.B.C. et al. (2008) Removing the taint. Bottlenecks and possible directions for a solution in the marketing of the meat of non-castrated male pigs, Report 2008-027, LEI, The Hague.
- Bañón, S., Andreu, C., Laencina, J., Garrido, M.D. (2004). Fresh and eating pork quality from entire versus castrate heavy males. *Food Quality and Preference*, 15, 293-300.
- Bañón, S., Costa, E., Gil, M.D., Garrido, M.D. (2003a). A comparative study of boar taint in cooked and dry-cured meat. *Meat Science*, 63, 381-388.



- Bañón, S., Gil, M.D., Garrido, M.D. (2003b). The effects of castration on the eating quality of dry-cured ham. *Meat Science*, 65, 1031-1037
- Barbieri, G., Bolzoni, L., Parolari, G., Virgili, R., Buttini, R., Careri, M. & Mangia, A. (1992). Flavor compounds of dry cured ham. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 40, 2389–2394.
- Barton-Gade, P.A. (1987). Meat quality in boars, castrates and gilts. *Livestock Production Science*, 16, 187–196.
- Batorek, N., Čandek-Potokar, M., Bonneau, M., Van Milgen, J. (2012). Meta-analysis of the effect of immunocastration on production performance, reproductive organs and boar taint compounds in pigs. *Animal*, 6, pp. 1330-1338 doi: 10.1017/S1751731112000146.
- Baumgartner, J., Laister, S., Koller, M., Pfützner, A., Grodzycki, M., Andrews, S., Schmoll, F. (2010). The behaviour of male fattening pigs following either surgical castration or vaccination with a GnRF vaccine. *Applied Animal Behaviour Science*, 124, 28–34.
- Belitz, H.D. & Grosch, W. (1997). “Química de los alimentos”. Ed. Acribia, Zaragoza.
- Berdagué, J.L., Bonnaud, N., Rousset, S. and Touraille, C. (1993). Influence of pig crossbreed on the composition, volatile compound content and flavor of dry cured ham. *Meat Science*, 34, 119-129.
- Biasioli, F.; Gasperi, F.; Aprea, E.; Colato, L.; Boscaini, E. y Märk, T.D. (2003). Fingerprinting mass spectrometry by PTR-MS: heat treatment vs. pressure treatment of red orange juice—a case study. *International Journal of Mass Spectrometry*, 223-224, 343-353.
- Biasioli, F.; Gasperi, F.; Aprea, E.; Endrizzi, I.; Framondino, V.; Marini, F.; Mott, D. y Märk, T.D. (2006). Correlation of PTR-MS spectral fingerprints with sensory characterisation of flavour and odour profile of “Trentingrana” cheese. *Food Quality and Preferences*, 17, 63-75.
- Blank, I., Devaud, S., Fay, L. B., Cerny, C., Steiner, M. & Zurbruggen, B. (2001). Odor-active compounds of dry-cured meat: Italian-type salami and Parma ham. In: G. R. Takeoka, M. Günter, M. & K. H. Engel (Eds) *Aroma active compounds in foods* (pp 9-20). ACS Symposium series, 794, Washington.



- Boler, D. D., Clark, D. L., Baer, A. A., Meeuwse, D. M., King, V. L., McKeith, F. K., et al. (2011b). Effects of increasing lysine on further processed product characteristics from immunologically castrated male pigs. *Journal of Animal Science*, 89, 2200–2209.
- Boler, D. D., Kutzler, L. W., Meeuwse, D.M., King, V. L., Campion, D. R., McKeith, F. K. et al. (2011a). Effects of increasing lysine on carcass composition and cutting yields of immunologically castrated male pigs. *Journal of Animal Science*, 89, 2189–2199.
- Bonneau, M. (1998). Use of entire males for pig meat in the European Union. *Meat Science*, 49(Suppl 1), S257–S272.
- Bonneau, M. (2009). PIGCAS WP4. Report on recommendations for research and policy support, pp. 1–22.
- Bonneau, M., Dufour, R., Chouvet, C., Roulet, C., Meadus, W., Squires, E.J. (1994). The effects of immunization against luteinizing hormone-releasing hormone on performance, sexual development, and levels of boar taint-related compounds in intact male pigs. *Journal of Animal Science* 72, 14–20.
- Bonneau, M., Walstra, P., Claudi-Magnussen, C., Kempster, A. J., Tornberg, E., Fischer, K., Diestre, A., Siret, F., Chevillon, P., Claus, R., Dijksterhuis, G., Punter, P., Matthews, K. R., Agerhem, H., Beague, M. P., Oliver, M. A., Gispert, M., Weiler, U., Von Seth, G., Leask, H., Font-i-Furnolls, M., Homer, D. B. & Cook, G. L. (2000). An international study on the importance of androstenone and skatole for boar taint. IV. Simulation studies on consumer dissatisfaction with entire male pork and the effect of sorting carcasses on the slaughter line, main conclusions and recommendations. *Meat Science*, 54(3), 285–295.
- Bosch, L., Tor, M., Reixach, J., Estany, J. (2012). Age-related changes in intramuscular and subcutaneous fat content and fatty acid composition in growing pigs using longitudinal data. *Meat Science*, 91, 358-363
- Cameron, N.D. & Enser, M.B. (1991). Fatty acid composition of lipid in *Longissimus dorsi* muscle of Duroc and British Landrace pigs and its relationship with eating quality. *Meat Science*, 29, 295-307.
- Cameron, N.D., Warriss, P.D., Porter, S.J. y Enser, M. (1990). Comparison of Duroc and British Landrace pigs for meat and eating quality. *Meat Science*, 27, 227-247.



- Cappellin, L., Biasioli, F., Granitto, P., Schuhfried, E., Soukoulis, C., Costa, F., Maerk, T.D. & Gasperi, F. (2011a). On data analysis in PTR-TOF-MS: From raw spectra to data mining. *Sensors and Actuators B-Chemical* 155, 183–190.
- Cappellin, L.; Biasioli, F.; Schuhfried, E.; Soukoulis, C.; Märk, T.D. & Gasperi, F. (2011b). Extending the Dynamic Range of Proton Transfer Reaction Time-of-flight Mass Spectrometers by a Novel Dead Time Correction. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 25, 179–183.
- Carpenter, C.E.; Cornforth, D.P. & Whittier, D. (2001). Consumer preferences for beef colour and packaging did not affect eating satisfaction. *Meat Science* 57, 359-363.
- Carrapiso, A. I. & García, C. (2004). Iberian ham headspace: odorants of intermuscular fat and differences with lean. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, 2047-2051.
- Carrapiso, A. I., Martín, L., Jurado, A. & García, C. (2010). Characterization of the most odour-active compounds of bone tainted dry-cured Iberian ham. *Meat Science*, 85, 54-58.
- Carrapiso, A.I. & García, C. (2007). Effect of sampling conditions on the odour-active compounds of Iberian ham. *Ciencia & Tecnología Alimentaria*, 5, 287-292.
- Carrapiso, A.I., Jurado, A., Timon, M.L. and García, C. (2002). Odor-active compounds of Iberian hams with different aroma characteristics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 6453-6458.
- Carrapiso, Jurado & Garcia. (2003). Effect of crossbreeding and rearing system on Iberian ham volatile compounds. *Food Science and Technology International*, 9, 409-419.
- Cava, R., Ruiz, J., Ventanas, J. and Antequera, T. (1999). Oxidative and lipolytic changes during ripening of Iberian hams as affected by feeding system: extensive feeding and alpha-tocopheryl acetate supplementation. *Meat Science*, 52, 165-172.
- Cava, R., Ventanas, J., Ruiz, J., Andres, A. I. & Antequera, T. (2000). Sensory characteristics of Iberian ham: influence of rearing system and muscle location. *Food Science and Technology International*, 6(3), 235–242.
- Charpentier, J. (1967). Calidad de la canal y de la carne. En: CNRZ. Jouy-en-Josas, Francia.



- Claus, R., Weiler, U. & Herzog, A. (1994). Physiological aspects of androstenone and skatole formation in the boar: a review with experimental data. *Meat Science*, 38, 239–305.
- Cluivers-Poodt, M., Hopster, H., Spoolder, H.A.M. (2007). Castration under anaesthesia and/or analgesia in commercial pig production. *Animal Sciences Group van Wageningen UR*, p. 85.
- Clydesdale, F. (1991). Colour perception and food quality. *Journal of Food Quality* 14, 61-74.
- Conn, H. (1992). 'Umami' the fifth basic taste. *Nutrition and Food Science* 2, 21–23.
- Cronin, G.M., Dunshea, F.R., Butler, K.L., McCauley, I., Barnett, J.L. & Hemsworth, P.H. (2003). The effects of immuno-castration and surgical-castration on the behaviour and consequently growth of group-housed, male finisher pigs. *Applied Animal Behavior Science*, 81, 111-126.
- Cross, H.R., Durland, P.R. and Seideman, S.C. (1986). Sensory Qualities of Meat. En: Muscle as Food. *Food Science and Technology*. Ed. P.J. Bechtel. Seires ed. B.S. Schweigert. Academic Press, Inc. New York.
- Daza, A., Latorre, M.A. and Lopez-Bote, C.J. (2010). The use of barley as single ingredient in the diet provided during the finishing period may improve the meat quality of heavy pigs from PO Teruel ham (Spain). *Spanish Journal of Agricultural Research*, 8, 607-616.
- Daza, A.; Lopez-Bote, C.J.; Olivares, A.; Menoyo, D. y Ruiz, J. (2007). Age at the beginning of the fattening period of Iberian pigs under free-range conditions affects growth, carcass characteristics and the fatty acid profile of lipids. *Animal Feed Science and Technology* 139, 81-91.
- De Roest, K., Montanari, C., Fowler, T. And Baltussen, W. (2009) Resource efficiency and economic implications of alternatives to surgical castration without anaesthesia, *Animal*, 3: 1522-1531.
- Dijksterhuis, G. B., Engel, B., Walstra, P., Font-i-Furnolls, M., Agerhem, H., Fischer, K., Oliver, M. A., Claudi-Magnussen, C., Siret, F., Beague, M. P., Homer, D. B. & Bonneau, M. (2000). An international study on the importance of androstenone and skatole for boar taint. II. Sensory evaluation by trained panels in seven European countries. *Meat Science*, 54(3), 261–269.



- Dikeman, M.E. (1987). Fat reduction in animals and the effects on palatability and consumer acceptance of meat products. *Proceedings of the Reciprocal Meat Conference*, 40, 93-105.
- Directiva EEC, 2001. Directiva 2001/93/CE de la Comisión de 9 de Noviembre de 2001 por la que se modifica la Directiva 91/630/CEE relativa a las normas mínimas para la protección de cerdos. D. Of. Comunidades Eur. 316, 36–38.
- Directive 120/2008/CE of the E.U. Council - Laying down minimum standards for the protection of pigs. 2008: L47/5–L47/13.
- Dransfield, E. (1981). Eating quality of DFD beef. En: *The Problem of Dark-Cutting beef*. Ed: Hood D.E. y Tarrant P.V. págs. 344-348. Martinus Nijhoff. La Haya, Holanda.
- Dunshea, F. (2010). Castration in the swine industry and the impact on growth performance-physical versus vaccination. *Proceedings of the London swine conference*, p 85-98.
- Dunshea, F.R., Colantoni, C., Howard, K., McCauley, I., Jackson, P., Long, K.A., Lopaticki, S., Nugent, E.A., Simons, J.A., Walker, J., Hennessy, D.P. (2001). Vaccination of boars with a GnRH vaccine (Improvac) eliminates boar taint and increases growth performance. *Journal of Animal Science* 79, 2524–2535.
- EFSA (2004). Welfare aspects of the castration of piglets. Scientific report of the scientific panel for animal health and welfare on request from the commission related to welfare aspects of the castration of piglets European food safety authority AHAW/04-087. Available from http://www.efsa.eu.int/science/ahaw_opinions/512_it.html
- Einarsson, S. (2006). Vaccination against GnRH: pros and cons. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 48 (Suppl. 1), S10.
- Einarsson, S., Andersson, K., Wallgren, M., Lundström, K. & Rodriguez-Martinez, H. (2009). Short- and long-term effects of immunization against gonadotropin-releasing hormone, using Improvac™, on sexual maturity, reproductive organs and sperm morphology in male pigs. *Theriogenology*, 71, 302-310.
- Elmore, J.S., Campo, M.M., Enser, M. and Mottram, D. (2002). Effect of lipid composition on meat-like model system containing cysteine, Ribose, and polyunsaturated fatty acids. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 50, 1126-1132.



- Essén-Gustavsson, B., Karlsson, A., Lundström, K. & Enfält, A. C. (1994). Intramuscular fat and muscle fibre lipid contents in halothane-gene free pigs fed high or low protein diets and its relation to meat quality. *Meat Science*, 38, 2,269–2,277.
- Fabréga, E., Velarde, A., Cros, J., Gispert, M., Suárez, P., Tibau, J. and Soler, J. (2010). Effect of vaccination against gonadotropin-releasing hormone, using Improvac, on growth performance, body composition, behaviour and acute phase proteins, *Livestock Science*, 132, 53-59.
- Fabris, A.; Biasioli, F.; Granitto, P.M.; Aprea, E.; Cappellin, L.; Schuhfried, E.; Soukoulis, C.; Mark, T.D.; Gasperi, F. y Endrizzi, I. (2010). PTR-TOF-MS and data-mining methods for rapid characterization of agro-industrial samples: influence of milk storage conditions on the volatile compounds profile of Trentingrana cheese. *Journal of Mass Spectrometry*, 45 1065-1074.
- Federation of Veterinarians of Europe. (2009). Pig Castration, FVE Position Paper.
- Fennema, O.R. & Grosch, W. (1992). “Química de los alimentos”. Ed. Acribia, Zaragoza.
- Fischer, K. & Weiler, U. (1994). Aspects of sensory quality of boar meat. *Mitteilungsblatt Bundesanstalt Fleischforschung Kulmbach* 32(120), 135–140.
- Fisher, A.V., Greenb, D.M., Whittemoreb, C.T., Wood, J.D. and Schofield, C.P. (2003). Growth of carcass components and its relation with conformation in pigs of three types. 65, 639-650.
- Fjelkner-Modig, S. y Ruderus, H. (1983). The influence of exhaustion and electrical stimulation on the meat quality of young bulls: Part 2-Physycal and sensory properties. *Meat Science* 8, 203-220.
- Folch, J., Lees, M. & Stanley, G. H. S. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids of animal tissues. *The Journal of Biological Chemistry*, 226, 497–509.
- Font i Furnols, M. & Gispert, M. (2009b). Comparison of different devices for predicting the lean meat percentage of pig carcasses. *Meat Science*, 83, 443–446.
- Font i Furnols, M., Gispert, M., Guerrero, L., Velarde, A., Tibau, J., Soler, J. et al. (2008). Consumers’ sensory acceptability of pork from immunocastrated male pigs. *Meat Science*, 80, 1013–1018.
- Font i Furnols, M., Gonzalez, J., Gispert, M., Oliver, M. A., Hortos, M., Perez, J. et al. (2009a). Sensory characterization of meat from immunocastrated pigs compared



- to meat from surgically castrated, entire males and female. *Meat Science*, 83, 438–442.
- Font-i-Furnols, M., Gispert, M., Soler, J., Diaz, M., Garcia-Regueiro, J.A., Diaz, I., Pearce, M.C. (2012). Effect of vaccination against gonadotrophin-releasing factor on growth performance, carcass, meat and fat quality of male Duroc pigs for dry-cured ham production. *Meat Science*, 91, 148–154.
- Font-i-Furnols, M., Guerrero, L., Serra, X., Rius, M. A. & Oliver, M. A. (2000). Sensory characterisation of boar taint in entire male pigs. *Journal of Sensory Studies*, 15(4), 393–409.
- Forrest, J.C.; Aberle, E.D.; Hedreck, H.B.; Judge, M.D. y Merkel, R.A. (1994). Factors affecting postmortem change and the ultimate properties of meat Properties of fresh meat. *Principles of Meat Science*. San Francisco: W.H. Freeman and Company, págs. 157-189.
- Fredriksen, B., Font iFurnols, M., Lundström, K., Migdal, W., Prunier, A., Tuytens, F. A.M. et al. (2009). Practice on castration of piglets in Europe. *Animal*, 3, 1480–1487.
- Gamero-Negrón, R., Sánchez del Pulgar, J. & García, C. (2015b). Immune-spaying as an alternative to surgical spaying in Iberian × Duroc females: Effect on quality characteristics and fatty acid profile in dry-cured shoulders and loins. *Meat Science*, 104, 52-57.
- Gamero-Negrón, R., Sánchez del Pulgar, J., Ventanas, J. & García, C. (2015a). Immunespaying as an alternative to surgical spaying in Iberian × Duroc females: Effect on carcass traits and meat quality characteristics. *Meat Science*, 99, 99–103.
- Gandemer, G. (2002). Lipids in muscles and adipose tissues, changes during processing and sensory properties of meat products. *Meat Science*, 62, 309-321.
- García, C., Berdagué, J. J., Antequera, T., López-Bote, C., Córdoba, J. J. & Ventanas, J. (1991). Volatile components of dry cured Iberian ham. *Food Chemistry*, 41, 23-32.
- García-Rey, R., Quiles-Zafra, R., Tapiador, J. and Luque de Castro, M. (2004). Relationship between pH before salting and dry-cured ham quality. *Meat Science*, 67, 625-632.



- Gasperi, F.; Aprea, E.; Biasioli, F.; Carlin, S.; Endrizzi, I.; Pirretti, G. y Spilimbergo, S. (2009). Effects of supercritical CO₂ and N₂O pasteurisation on the quality of fresh apple juice. *Food Chemistry*, 115, 129-136.
- German, J.B. (1990). Muscle lipids. *Journal of Muscle Foods*. 1, 33-361.
- Gibis, M., Hilmes, C. & Discher, A. (1998). Off-flavour in pork caused by skatole. *Fleischwirtschaft*, 78(6), 727-730.
- Giffin, B.J., Allison, J.R.D., Martin, S., Ward, P., Tschopp, A., (2008). Consumer acceptance of the use of vaccination to control boar taint. In: International Pig Veterinary Society, 20th IPVS Congress, Durban, South Africa, vol. 1, p. 267.
- Gispert, M., Oliver, M. A., Velarde, A., Suarez, P., Perez, J. & Font i Furnols, M. (2010). Carcass and meat quality characteristics of immunocastrated male, surgically castrated male, entire male and female pigs. *Meat Science*, 85, 664-670.
- Godber, J.S. (1994). Nutritional Value of Muscle Foods. En: Muscle Foods. Meat Poultry and Seafood Technology. Eds. D.M. Kinsman, A.W. Kotula, B.C. Breidenstein. Chapman & Hall, New York.
- Godt, J., Kristensen, K., Poulsen, C. S., Juhl, H. J. & Bech, A. C. (1996). A consumer study of Danish entire male pigs. *Fleischwirtschaft*, 76(5), 518-520.
- Goll, D.E.; Thompson, V.F.; Taylor, R.G. y Ouali, A. (1998). The calpain system and skeletal muscle growth. *Canadian Journal of Animal Science* 78 , 503-512.
- Gómez-Fernández, J., Horcajada, S., Tomás, C., Gómez-Izquierdo, E. & Mercado, E. (2013). The effect of immunocastration and surgically castration on growth performance and carcass quality in fattening period of Iberian female pigs. *ITEA- Informacion Tecnica Economica Agraria*, 109, 33-48.
- Gorospe, O., Sanchez-Monje, J.M. & Bello, J. (1986). Eliminación de interferencias en el estudio químico del color de productos cárnicos comerciales, provocadas por sustancias colorantes presentes. *Alimentaria*, 25-32.
- Gou, P. (1993). Comparación de las características de crecimiento, canal, carne fresca y jamón curado de cinco cruzamientos en porcino. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.
- Gouw, J.; Warneke, C.; Karl, T.; Eerdeken, G.; van deer Veen, C. y Fall, R. (2003). Sensitivity and specificity of atmospheric trace gas detection by proton-transfer-



reaction mass spectrometry. *International Journal of Mass Spectrometry*, 223-224, 365-382.

Gracey, J.E. (1989). Higiene de la carne. 8ª ed. Ed. Acribia, Zaragoza.

Guinard, J.X., Wee, C., McSunas, A. and Fritter, D. (2002). Flavour release from salad dressing varying in fat and garlic flavor. *Food Quality and Preference* 13, 129-137.

Haga, H.A., Ranheim, B. (2005). Castration of piglets: the analgesic effects of intratesticular and intrafunicular lidocaine injection. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 32, 1-9.

Hammond, J. (1966). Principios de la explotación animal: reproducción, crecimiento y herencia. Zaragoza: Acribia. 363 p.

Hansen-Moller, J. (1994). Rapid high-performance liquid chromatographic method for simultaneous determination of androstenone, skatole and indole in back fat from pigs. *Journal of Chromatography B*, 661, 219-230.

Hay, M., Vulin, A., Génin, S., Sales, P. and Prunier, A. (2003) Assessment of pain induced by castration in piglets: behavioural and physiological responses over the subsequent 5 days, *Applied Animal Behaviour Science*, 82: 201-218

Hennesy, D., Newbold, R. (2004). Consumer attitudes to a boar taint vaccine, Improvac – a qualitative study. In: International Pig Veterinary Society, 18th IPVS Congress, p. 612.

Hernández, P., Navarro, J. L. & Toldrá, F. (1999). Lipolytic and oxidative changes in two Spanish pork loin products: dry-cured loin and pickled-cured loin. *Meat Science*, 51, 123-128.

Hernández-García, F., Duarte, J. L., Pérez, M. A., Raboso, C., Rosario, A. I. & Izquierdo, M. (2013). Successful long-term pre-pubertal immunocastration of purebred Iberian gilts reared in extensive systems. *Acta Agriculturae Slovenica*(Supplement 4), 123-126.

Hinrichsen, L.L. & Pedersen, S.B. (1995). Relationship among flavor, volatile compounds, chemical changes and microflora in Italian-type dry-cured ham during processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 2932-2940.

Hood, D.E. y Riordan, E.B. (1973). Discoloration in pre-packaged beef measurement by reflectance spectrophotometry and shopper discrimination. *Journal of Food Technology* 8, 333-343.



- Hornsey, H.C. (1956). The color of cooked cured pork. 1. Estimation of the nitric oxide ham pigments. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 7,534-541.
- Huff-Lonergan, E., Lonergan, S.M. (2005). Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat Science*, 71, 194-204.
- Irie, M. & Swatland, H. J. (1992). Relationships between Japanese pork colour standards and optical properties of pork before and after frozen storage. *Food Research International*, 25, 21–30.
- Jaros, P., Bürgi, E., Stark, K.D.C., Claus, R., Hennessy, D., Thun, R. (2005). Effect of active immunization against GnRH on androstenone concentration, growth performance and carcass quality in intact male pigs. *Livest. Prod. Sci.* 92, 31–38.
- Jeremiah, L. E., Squires, E. J. & Sather, A. P. (1999). Gender and diet influence on pork palatability and consumer acceptance. II. Sex taint compounds and their relationships to sensory properties. *Journal of Muscle Foods*, 10(4), 317–331.
- Johnson, R. C., Romans, J. R., Muller, T. S., Costello, W. J. y Jones, K. W. (1990). Physical, chemical and sensory characteristics of four types of beef steaks. *Journal of Food Science*, 55, 1264–1267.
- Jolliffe, I. (2002). Principal component analysis, 2° ed., New York, Springer.
- Jordan, A.; Haidacher, S.; Hanel, G.; Hartungen, E.; Heirbig, J.; Märk, L.; Schotchkowsky, R.; Seehauser, H.; Sulzer, P. y Märk, T.D. (2009). An online ultra-high sensitivity Proton-transfer-reaction mass-spectrometer combined with switchable reagent ion capability (PTR + SRI-MS). *International Journal of Mass Spectrometry*, 286, 32-38.
- Juncher, D., Rønn, B., Mortensen, E. T., Henckel, P., Karlsson, A., Skibsted, L.H. & Bertelsen, G. (2001). Effect of pre-slaughter physiological conditions on the oxidative stability of colour and lipid during chill storage of pork. *Meat Science*, 58, 347–357.
- Jurado, A. (2005). Evolución de compuestos relacionados con el sabor y el aroma del jamón ibérico de distintas calidades durante su procesado. Tesis Doctoral. Universidad de Extremadura.



- Jurado, A., Carrapiso, A.I., Ventanas, J. y García, G. (2009). Changes in SPME-extracted volatile compounds from Iberian ham during ripening. *Grasa y aceites*, 60(3), 262-270.
- Jurado, A.; Garcia, C.; Timón, M.L. & Carrapiso, A.I. (2007). Effect of ripening time and rearing system on amino acid-related flavour compounds of Iberian ham. *Meat Science*, 75, 585-594.
- Kandler, O. (1983). Carbohydrate metabolism in lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 49, 209–224.
- Kauffman, R. G., Wachholz, D., Henderson, D. & Lockner, J. V. (1978). Shrinkage of PSE, normal and DFD hams during transit and processing. *Journal of Animal Science* 46, 1236–1240.
- Kauffman, R.G., Smulders, F.J.M., Hartman, W., Habel, R.E. & Bergström, P.L. (1990). Recommended terminology for the muscle commonly designated "*longissimus dorsi*". *Meat Science*, 28, 259-265.
- Kim, B. C., Han, C. Y., Joo, S. T. y Lee, S. (1999). Effects of displaying conditions of retail-cuts after vacuum packed storage on pork quality and shelf-life. *Korean Journal of Animal Science*, 41, 75–88.
- Klinsman, D.M.; Kotula, A.W. & Breidenstein, B.C. (1994). Structure and properties of tissues. En: *Muscles Foods*. New York. Chapman & Hall. Págs. 63-105.
- Koohmaraie, M., M.P. Kent, S.D. Shackelford, E. Veiseth and T.L. Wheeler. (2002). Meat tenderness and muscle growth: is there any relationship?. *Meat Science*, 62, 345-352.
- Kouba, M. and Bonneau, M. (2009). Compared development of intramuscular and subcutaneous fat in carcass and primal cuts of growing pigs from 30 to 140 Kg body weight. *Meat Science*, 81, 270-274.
- Krammer, A. (1994). Use of colour measurements in quality control of food. *Food Technology* 48, 63-71.
- Larrea, V., Hernando, I., Quiles, A., Lluch, M.A. and Pérez-Munuera, I. (2006). Changes in protein during Teruel dry-cured ham processing. *Meat Science*, 74, 586-593.
- Latorre, M.A., García-Belenguer, E. and Arino, L. (2008). The effects of sex and slaughter weight on growth performance and carcass traits of pigs intended for dry-cured ham from Teruel (Spain). *Journal of Animal Science*, 86, 1993-1942.



- Latorre, M.A., Ripoll, G., García-Belenguer, G. and Arino, L. (2009). The effect of gender and slaughter weight on loin and fat characteristics of pigs intended for Teruel dry-cured ham production. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 7, 407-416.
- Lawrie, R.A. (1991). *Meat Science*. Pergamon Press.
- Lawrie, R.A. (1998). *Ciencia de la carne*. Ed. Acribia, Zaragoza.
- Lealiifano, A.K., Pluske, J.R., Nicholls, R.R., Dunshea, F.R., Campbell, R.G., Hennessy, D.P., Miller, D.W., Hansen, C.F.F., Mullan, B.P. (2011). Reducing the length of time between slaughter and the secondary gonadotropin-releasing factor immunization improves growth performance and clears boar taint compounds in male finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 89 (9): 2782-2792.
- Leidig, M. S., Hertkamp, B., Failing, K., Schumann, A. and Reiner, G. (2009) Pain and discomfort in male piglets during surgical castration with and without local anaesthesia as determined by vocalisation and defence behaviour, *Applied Animal Behaviour Science*, 116: 174-178.
- Lindinger, W.; Hansel, A. y Jordan, A. (1998). Proton-transfer-reaction mass spectrometry (PTR-MS): on-line monitoring of volatile organic compounds at pptv levels. *Chemical Society Reviews*, 27, 347-354.
- López Bote, C., Isabel, B. y Rey, A. I. (1998b). Alimentación del cerdo Ibérico y calidad de la producción cárnica. *Anaporc*, 177, 50-73.
- López, M.O.; de la Hoz, L.; Cambero, M.I.; Gallardo, E.; Reglero, G. y Ordóñez, J.A. (1992). Volatile compounds of dry hams next term from Iberian pigs. *Meat Science*, 31, 267-277.
- López-Bote, C. J. (1998a). Sustained utilization of the Iberian Pig Breed. *Meat science*, 49 (1), 17-27.
- Lucarini, M., Sacconi, G., D'Evoli, L., Tufi, S., Aguzzi, A., Gabrielli, P., Marletta, L. and Lombardi-Boccia, G. (2013) Micronutrients in Italian ham: a survey of traditional products. *Food Chemistry* 140 (4): 837- 842.
- Maribo, H., Olsen, E. V., Barton-Gade, P., Møller, A. J. & Karlsson, A. (1998). Effect of early post-mortem cooling on temperature, pH fall and meat quality in pigs. *Meat Science*, 50, 115–129.



- Martín, A.; Córdoba, J.J.; Aranda, E.; Córdoba, M.G. y Asensio, M.A. (2006). Contribution of a selected fungal population to the volatile compounds on dry-cured ham. *International Journal of Food Microbiology*, 110, 8-18.
- Mateo, J., Aguirrezábal, M., Domínguez, C. & Zumalacárregui, J.M. (1997). Volatile compounds in Spanish paprika. *Journal of Food Composition and Analysis*, 10, 225–232.
- Mayoral, A.I., Dorado, M., Guillén, M.T., Robina, A., Vivo, J.M., Vázquez, C. and Ruiz, J. (1999). Development of meat and carcass quality characteristics in Iberian pigs reared outdoors. *Meat Science*, 52, 315-324.
- McCauley, I., Watt, M., Suster, D., Kerton, D.J., Oliver, W.T., Harrell, R.J. & Dunshea, F.R. (2003). An immunocastration vaccine (Improvac®) and porcine somatotropin (Reporcin®) have synergistic effects upon growth performance in both boars and gilts. *Australian Journal of Agricultural Research*, 54, 11-20.
- McNamara, M.K. (2009). In: Office, U.P. (Ed.), Immunogenic LHRH Compositions and Methods Relating Thereto. CSL Limited, United States.
- Millet, S., Gielkens, K., De Brabander, D., Janssens, J.P.J. (2011). Considerations on the performance of immunocastrated male pigs. *Animal*. 2011 May; 5(7):1119-23.
- Monziols, M., Bonneau, M., Davenel, B. and Kouba, M. (2007). Comparison of the lipid content and fatty acid composition of intermuscular and subcutaneous adipose tissues in pig carcasses. *Science Direct*, 76, 54-60.
- Mora, L., Sentandreu, M.A., Koistinen, K.M., Fraser, P.D., Toldrá, F. and Bramley, P.M. (2009). Naturally generated small peptides derived from myofibrillar proteins in Serrano dry-cured ham. 57, 3228-3234.
- Morales, J., Gispert, M., Hortos, M., Perez, J., Suarez, P. and Pineiro, C. (2010). Evaluation of production performance and carcass quality characteristics of boars immunised against gonadotropin-releasing hormone (GnRH) compared with physically castrated male, entire male and female pigs, *Spanish Journal of Agricultural Research*, 8: 599-606.
- Morales, J., Pérez, J. F., Baucells, M. D., Mourot, J. & Gasa, J. (2002). Comparative digestibility and lipogenic activity in Landrace and Iberian finishing pigs fed ad libitum corn and corn-sorghum-acornbased diets. *Livestock Production Science*, 77(2–3), 195–205.



- Morales, R., Arnau, J., Serra, X., Guerrero, L. and Gou, P. (2008b). Texture changes in dry-cured ham pieces by mild thermal treatments at the end of the drying process. *Meat Science*, 80, 231-238.
- Morales, R., Guerrero, A., Claret, A., Guardia, M.D. and Gou, P. (2008a). Beliefs and attitudes of butchers and consumers towards dry-cured ham. *Meat Science*, 80, 1005-1012.
- Mortensen, H. P. (1991). Effect of testosterone and stradiol added in feed on skatole, boar taint level in entire male backfat. *Proceedings of 37 International Congress of Meat Science and Technology. Kulmbach* (1), 161–164.
- Mottram, D.S. (1998). Flavour formation in meat and meat products: a review. *Food Chemistry* 62, 415-424.
- Mottram, D.S. y Edwards, R.A. (1983). The role of triglycerides and phospholipids in the aroma of cooked beef. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 34, 517-522.
- Mourot, J. & Kouba, M. (1998). Lipogenic enzyme activities in muscles of growing Large White and Meishan pigs. *Livestock Production Science*, 55, 127–133.
- Mullen, A. M.; Stoeva, S.; Laib, K.; Gruebler, G.; Voelter, W. y Troy, D.J. (2000). Preliminary análisis of amino acids at various locations along the *M. longissimus dorsi* in aged beef. *Food Chemistry* 69, 461-465.
- Munson, M.S.B. y Field, F.H. (1966). Chemical ionization mass spectrometry. I. General introduction. *Journal of the American Chemical Society*, 88, 2621-2630.
- Muriel, E., Antequera, T., Petró, M.J., Andrés, A.I. & Ruiz, J. (2004b). Volatile compounds in Iberian dry-cured loin. *Meat Science*, 68, 391-400.
- Muriel, E., Ruiz, J., Martín, L., Petró, M. J. & Antequera, T. (2004a). Physico-chemical and sensory characteristics of dry-cured loin from different Iberian pig lines. *Food Science and Technology International*, 10 (2), 117–123.
- Narváez-Rivas, M.; Vicario, I.M.; Alcalde, M.J. y León-Camacho, M. (2010). Volatile hydrocarbon profile of Iberian dry-cured hams. A possible tool for authentication of hams according to the fattening diet. *Talanta*, 81, 1224-1228.
- Neuper, B., Claus, R., Herbert, E. & Weiler, U. (1995). Influence of sex, energy supply and light on fattening traits and carcass composition and their relation to



androstenedione and skatole concentrations in adipose tissue of pigs. *Zuechtungskunde*, 67(4), 317–331.

NIST: <http://webbook.nist.gov> (last consulting date 1st May 2015).

Offer, G. (1991). Modelling of the formation of pale, soft and exudative meat: Effects of chilling regime and rate and extent of glycolysis. *Meat Science*, 30, 157–184.

Okrouhla, M., Stupka, R., Čítek, J., Šprysl, M., Kluzakova, E., Trnka, M., Štolc, L. (2006): Amino acid composition of pig meat in relation to live weight and sex. *Czech Journal of Animal Science*, 51, 529–534.

Olivares, A., Navarro, J.L. and Flores, M. (2009). Distribution of volatile compounds in lean and subcutaneous fat tissues during processing of dry fermented sausages. *Meat Science*, 42, 1303–1308.

Oliver, W.T., McCauley, I., Harrell, R.J., Suster, D. & Dunshea, F.R. (2003). A GnRF vaccine (Improvac[®]) and porcine somatotropin have synergistic and additive effects on growth performance in group-housed boars and gilts, respectively. *Journal of Animal Science*, 81, 1959–1966.

Oonk, H. B., Turkstra, J. A., Lankhof, H., Schaaper, W. M. N., Verheijden, J. H. M. & Melen, R. H. (1995). Testicles size after immunocastration as parameter of absence of boar taint. *Livestock Production Science*, 42, 63–71.

Oonk, H. B., Turkstra, J. A., Schaaper, W. M. N., Erkens, J. H. F., Schuitemaker-de Weerd, M. H., van Nes, A. et al. (1998). New GnRH-like peptide construct to optimize efficient immunocastration of male pigs by immunoneutralization of GnRH. *Vaccine*, 16, 1074–1082.

Ordóñez, J., Cambero, I., Fernández, L., García, L., García de Fernando, G., De la Hoz, L. and Selgas, M.D. (1998). “Tecnología de los alimentos.” Vol.II. *Alimentos de origen animal*. Ed. Síntesis, S.A.

Palumbo, S. A., Komanowsky, M., Metzger, V. y Smith, J. L. (1977). Kinetics of pepperoni drying. *Journal of Food Science*, 42, 1029.

Pauly, C., Spring, P., O’Doherty, J. V., Ampuero Kragten, S. & Bee, G. (2009). Growth performance, carcass characteristics and meat quality of group penned surgically castrated, immunocastrated (Improvac) and entire male pigs and individually penned entire male pigs. *Animal*, 3(7), 1057–1066.



- Peinado, J., Serrano, M.P., Nieto, M., Sánchez, J., Medel, P., Mateos, G.G. (2012). The effects of gender and castration of females on performance and carcass and meat quality of heavy pigs destined to dry cured industry. *Meat Science*, 90, 715-720.
- Peloso, J.V., Lopes, P.S., Gomide, L.A.M., Guimaraes, S.E.F. and Carneiro, P.L.S. (2010). Carcass and ham quality characteristics of heavy pigs from different genetic groups intended for the production of dry-cured hams. *Meat Science*, 86, 371-376.
- Pérez-Palacios, T., Ruiz, J., Tejeda, J.F. and Antequera, T. (2009). Subcutaneous and intramuscular lipid traits as tools for classifying Iberian pigs as a function of their feeding background. *Meat Science*, 81, 632-640.
- Pérez-Palacios, T., Antequera, T., Molano, R., Rodríguez, P.G. and Palacios, R. (2010). Sensory traits prediction in dry-cured hams from fresh product via MRI and lipid composition. *Journal of Food Engineering*, 101, 152-157.
- Petrón, M.J., Muriel, E., Timón, M.L., Martín, L. and Antequera, T. (2004). Fatty acids and triacylglycerols profiles from different types of Iberian dry-cured hams. *Meat Science*, 68, 71-77.
- PIGCAS. (2009). Report on Attitudes, practices and state of the art regarding piglet castration in Europe. Deliverable D4.1. Report on recommendations for research and policy support.
- Primo Yufera, E. (1997). "Química de los alimentos." Ed. Síntesis S.A., Madrid.
- Priolo, A., Micol, D. y Agabriel, J. (2001). Effects of grass feeding systems on ruminant meat colour and flavour. A review. *Animal Research*, 50, 185–200.
- Prunier, A., Bonneau, M., von Borell, E. H., Cinotti, S., Gunn, M., Fredriksen, B., Giersing, M., Morton, D. B., Tuytens, F. A. M. & Velarde, A. (2006). A review of the welfare consequences of surgical castration in piglets and the evaluation of non-surgical methods, *Animal Welfare*, 15, 277-289.
- Puppe, B., Schon, P. C., Tuchscherer, A. and Manteuffel, G. (2005). Castration-induced vocalisation in domestic piglets, *Sus scrofa*: Complex and specific alterations of the vocal quality. *Applied Animal Behaviour Science*, 95: 67-78.



- Purchas, R.W. y Aungsupakorn, R. (1993). Further investigations into the relationship between ultimate pH and tenderness of beef samples from bulls and steers. *Meat Science* 34, 163-178.
- Purchas, R.W.; Jonhson, C.B.; Brich, E.J.; Winger, R.J.; Hagyard, C.J. y Keogh, R.G. (1986). Flavour studies with beef and lamb. Massey University, Nueva Zelanda.
- Raaflaub, M., Genoni, M., Kämpf, D. (2008). Economical impacts of alternatives to castration of piglets without pain relief. *Schweizerische Hochschule für Landwirtschaft*.
- Ramírez, R. & Cava, R. (2007). Carcass composition and meat quality of three different Iberian × Duroc genotype pigs. *Meat Science*, 75, 388–396.
- Real Decreto 1221/2009 (2009). de 17 de julio, por el que se establecen normas básicas de ordenación de las explotaciones de ganado porcino extensivo y por el que se modifica el Real Decreto 1547/2004, de 25 de junio, por el que se establecen las normas de ordenación de las explotaciones cunícolas. B.O.E., n. 187. (pp. 66585-66597).
- Reina, R., Sánchez del Pulgar, J., Tovar, J., López-Buesa, P. & García, C. (2013). Quality of Dry-Cured Ham Compared with Quality of Dry-Cured Shoulder. *Journal of Food Science*, 78, 1282-1289.
- Rosenvold, K. and Andersen H.J. (2003). Factors of significance for pork quality—a review. *MeatScience*, 64, 3, 219-237
- Rossi, V.; Denoyer, C. y Berdague, J.L. (1995). Effect of storage in air on cooked beef meat- analysis of desorbed volatile compounds. *Sciences des Aliments* 15, 381-392.
- Ruiz, J. y López Bote, C. (2002c). Improvement of dry-cured hams quality by lipid modification through dietary means. En :*Research Advances in the Quality of Meat and Meat Products*. Research Singpost, Trivandrum, Kerala India, 2555-271.
- Ruiz, J., García, C., Muriel, E., Andrés, A. I. & Ventanas, J. (2002b). Influence of the sensory characteristics on the acceptability of dry-cured ham. *Meat Science*, 61, 347–354.
- Ruiz, J., Muriel, E. and Ventanas, J. (2002a). The flavour of Iberian ham. En *Research advances in the quality of meat and meat products*. Ed. F.Toldrá. Research Signpost, Trivandrum, India. Pp 289-309.



- Ruiz, J., Ventanas, J., Cava, R., Andrés, A. y García, C. (2000). Texture and appearance of dry-cured ham as affected by fat content and fatty acid composition. *Food Research International*, 33, 91-95.
- Ruiz, J., Ventanas, J., Cava, R., Timon, M. L. & García, C. (1998b). Sensory characteristics of Iberian ham: influence of processing time and slice location. *Food Research International*, 31(1), 53–58.
- Ruiz, J.; Cava, R.; Ventanas, J. y Jensen, M.T. (1998a). Headspace solid phase microextraction for the analysis of volatiles in a meat product: dry cured Iberian ham. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4688-4694.
- Ruiz, J.; Ventanas, J.; Cava, R.; Andrés, A. y García, C. (1999). Volatile compounds of dry-cured Iberian ham as affected by the length of the curing process. *Meat Science*, 52, 19-27.
- Rydhmer, L., Lundstrom, K. & Andersson, K. (2010). Immunocastration reduces aggressive and sexual behaviour in male pigs. *Animal*, 4, 965-972.
- Salati, L.M. & Goodridge, A. G. (1996). Fatty acid synthesis in eukaryotes. In D. E. Vance & J. Vance (Eds.), *Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes* (pp. 101–128). Amsterdam: Elsevier Science B.V.
- Salih, A. M., Smith, D. M., Price, J. F. & Dawson, L. E. (1987). Modified extraction 2-thiobarbituric acid method for measuring lipid oxidation in poultry. *Poultry Science*, 66, 1483–1489.
- Sánchez del Pulgar, J., Carrapiso, A.I., Reina, R., Biasioli, F. and García, C. (2013b) Effect of IGF-II genotype and pig rearing system on the final characteristics of dry-cured Iberian hams. *Meat Science*, 95, 586-592.
- Sánchez del Pulgar, J., Renaville, B., Soukoulis, C., Cappellin, L., Romano, A., Gasperi, F., Piasentier, E. & Biasioli, F. (2014). Stearoyl-CoA desaturase and sterol regulatory binding protein 1 markers: Effect on the volatile profile of dry-cured Parma, San Daniele and Toscano hams as detected by PTR-ToF-MS. *International Journal of Mass Spectrometry*, 365-366, 343-350.
- Sánchez del Pulgar, J., Soukoulis, C., Biasioli, F., Cappellin, L., García, C., Gasperi, F., Granitto, P., Märk, T.D., Piasentier, E. and Schuhfried, E. (2011). Rapid characterization of dry cured ham produced following different PDOs by proton



- transfer reaction time of flight mass spectrometry (PTR-ToF-MS). *Talanta*, 85, 386-393.
- Sánchez del Pulgar, J., Soukoulis, C., Cappellin, L., Carrapiso, A.I., Gasperi, F., Granitto, P. and Biasioli, F. (2013a). Effect of the pig rearing system on the final volatile profile of Iberian dry-cured ham as detected by PTR-ToF-MS. *Meat Science*, 93, 420-428.
- Sánchez del Pulgar, J.; García, C.; Reina, R. & Carrapiso, A.I. (2013c). Study of the volatile compounds and odor-active compounds of dry-cured Iberian ham extracted by SPME. *Food Science and Technology International*. 19, 225-233.
- Sánchez, F. (2005). Modificaciones tecnológicas para mejorar la seguridad y calidad del jamón curado. Tesis doctoral. IRTA.
- Sánchez-Esquiliche, F., Rodríguez-Estévez, V. (2011). Meta-análisis de los resultados productivos de las fases de crecimiento y cebo del cerdo Ibérico. Trabajo de fin de Máster en Zootecnia y Gestión Sostenible. Universidad de Córdoba.
- Sandler, S.R. and Karo, W. (1992). Source book of advances organic laboratory preparations. Academic Press, San Diego.
- Serrano, M. P., Valencia, D. G., Fuentetaja, A., Lázaro, R. & Mateos, G. G. (2009). Effect of castration on productive performance, carcass characteristics and meat quality of Iberian pig females reared under intensive management systems. *Livestock Science*, 123, 147–153.
- Serrano, M.P., Valencia, D.G., Fuentetaja, A., Lázaro, R., Mateos, G.G. (2008). Effect of gender and castration of females and slaughter weight on performance and carcass and meat quality of Iberian pigs reared under intensive management systems. *Meat Science*, 80, 1122-1128.
- Seuvre, A.M., Philippe, E., Rochard, S. and Voilley, A. (2007). Kinetic study of the release of aroma compounds in different model food systems. *Food Research International*, 40, 480-492.
- Škrlep, M., Batorek, N., Bonneau, M., Prevolnik, M., Kubale, V. & Čandek-Potokar, M. (2012). Effect of immunocastration in group-housed commercial fattening pigs on reproductive organs, malodorous compounds, carcass and meat quality. *Czech J. Anim. Sci.*, 57, 290–299.



- Smith, W. C. y Lesser, D. (1982). An economic assessment of pale, soft, exudative musculature in the fresh and cured pig carcass Pirk Wiltshire curing. *Animal Production* 34, 291–299.
- Soto, E., Hoz, L., Ordóñez, J.A., Hierro, E., Herranz, B., López-Bote, C. & Cambero, M.I. (2008). Impact of feeding and rearing systems of Iberian pigs on volatile profile and sensory characteristics of dry-cured loin. *Meat Science*, 79, 666-676.
- Soukoulis, C.; Aprea, E.; Biasioli, F.; Cappellin, L.; Schuhfried, E.; Märk, T.D. y Gasperi, F. (2010). Proton transfer reaction time-of-flight mass spectrometry monitoring of the evolution of volatile compounds during lactic acid fermentation of milk. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 24, 2127-2134.
- Squires, E. (2006). Possibilities for selection against boar taint. *Acta Vet Scand.* 48 (Suppl. 1), 19–21.
- Stahnke, L. H. (1994). Aroma components from dried sausages fermented with *Staphylococcus xylosum*. *Meat Science*, 38, 39–53.
- Stahnke, L.H. (1995). Dried sausages fermented with *Staphylococcus xylosum* at different temperatures and with different ingredient levels. Part II. Volatile components. *Meat Science*, 41(2), 193–209.
- Sunesen, L. O., Dorigoni, V., Zanardi, E. & Stahnke, L. (2001). Volatile compounds released during ripening in Italian dried sausage. *Meat Science*, 58, 93–97.
- Tejerina, D., García-Torres, S., Cabeza de Vaca, M., Vázquez, F.M. & Cava, R. (2012). Effect of production system on physical–chemical, antioxidant and fatty acids composition of Longissimus dorsi and Serratus ventralis muscles from Iberian pig. *Food Chemistry*, 133, 293-299.
- Terlouw, C. (2005). Stress reactions at slaughter and meat quality in pigs: genetic background and prior experience: A brief review of recent. *Livestock Production Science*, 94, 125-135
- Thun, R., Gajewski, Z. & Janett, F. (2006). Castration in male pigs: techniques and animal welfare issues. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 57(suppl. 8), 189–194.
- Timón, M.L.; Ventanas, J.; Carrapiso, A.I.; Jurado, A. y García, C. (2001). Subcutaneous and intermuscular fat characterisation of dry-cured Iberian hams. *Meat Science*, 58, 85-91.



- Toldrá, F.; Flores, M. y Aristoy, M.C. (1995). Enzyme generation of free amino acids and its nutritional significance in processed pork meat. G. Charalambous (Ed.), *Food Flavors: Generation, Analysis and Process Influence*, Elsevier Science, Amsterdam (1995), pp. 1323–1344.
- Tovar, J. (2009). Estudio comparativo de las rutas de formación de compuestos relacionados con la actividad aromática en carne de distintas especies. Tesis Doctoral. Universidad de Extremadura.
- Van Beirendonk et al. (2010). *Consumer opinion on alternatives for unanaesthetised piglet castration*, presented at the 61st Annual Meeting of the European Federation of Animal Science, Heraklion, August, 2010.
- Van Oeckel, M. J., Casteels, M., Warnants, N., De Boever, J. L., van Renterghem, R. & Boucqué, Ch.V. (1996). Production of entire males with Belgian Landrace and hybrid pigs: incidence on sensory aberrations. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 76, 111–121.
- Vanhonacker, F., Verbeke, W. and Tuytens, F. A. M. (2009). Belgian consumers' attitudes towards surgical castration and immunocastration of piglets, *Animal Welfare*, 18: 371-380.
- Velarde, A., Gispert, M., Oliver, M.A., Soler, J., Tibau, J. and Fábrega, E. (2007). The effect of immunocastration on the behaviour of pigs. In Proceedings of the 41st International Congress of the International Society for Applied Ethology, 8–12 August 2007, p. 117. Merida, Mexico.
- Ventanas, J. y Cava, R. (2001). Dinámica y control del proceso de secado del jamón Ibérico en secaderos y bodegas naturales y en cámaras climatizadas (capítulo IX). En: *Tecnología del jamón Ibérico.: de los sistemas tradicionales a la explotación racional del sabor y el aroma*. Ventanas J. (coordinador). Ed. Mundi-Prensa (Madrid, Barcelona, México), pp: 255-292.
- Ventanas, S. (2006). Influencia de la raza y de la alimentación sobre el contenido y características de la grasa intramuscular del lomo de cerdo ibérico: efecto sobre parámetros determinantes de la calidad. Tesis Doctoral. Universidad de Extremadura.



- Ventanas, S., Estévez, M., Andrés, A.I. & Ruiz, J. (2008). Analysis of volatile compounds of Iberian dry-cured loins with different intramuscular fat contents using SPME–DED. *Meat Science*, 79, 172-180.
- Ventanas, S., Ventanas, J., Estévez, M. and Ruiz, J. (2010). Analysis of volatile molecules in Iberian dry-cured loins as affected by genetic, feeding systems and ingredients. *European Food Research and Technology*, 231, 225-235.
- Ventanas, S., Ventanas, J., Ruiz, J. & Estévez, M. (2005). Iberian pigs for the development of high-quality cured products. In Pandalai (Ed.), *Recent research in development in agricultural and food chemistry* (pp. 27–53). Kerala, India: Trivandrum, Research Sing post.
- Vidal Aragón, M.C., Lozano, M. & Montero de Espinosa, V. (2005). Evolution of the aromatic fraction in red pepper for paprika during La Vera region traditional drying process. *Journal of Food Quality*, 28, 211–221.
- Von Borell, E., Baumgartner, J., Giersing, M., Jäggin, N., Prunier, A., Tuytens, F. A. M. and Edwards, S. A. (2009) Animal welfare implication of surgical castration and its alternative in pigs, *Animal*, 3: 1488-1496.
- Watanabe, A.; Daly, C.C. y Devine, C.E. (1996). The effects of ultimate pH of meat on tenderness changes during ageing. *Meat Science* 42, 67-78.
- Weiler, U., Font-i-Furnolls, M., Fischer, K., Kemmer, H., Oliver, M. A., Gispert, M., Dobrowolski, A. & Claus, R. (2000). Influence of differences in sensitivity of Spanish and German consumers to perceive androstenone on the acceptance of boar meat differing in skatole and androstenone concentrations. *Meat Science*, 54, 297–304.
- Wheeler, T. J., Miller, R. K., Savell, J. W. y Cross, H. R. (1990). Palatability of chilled and frozen beef steaks. *Journal of Food Science* 55, 301–303.
- Wood, J. D., Richardson, R. I., Nute, G. R., Fisher, A. V., Campo, M. M., Kasapidou, E. et al. (2003). Effects of fatty acids on meat quality: A review. *Meat Science*, 66, 21–32.
- Wood, J.D., Jones, R.C.D., Francombe, M.A. y Whelehan, O.P. (1986). The effects of fat thickness and sex on pig meat quality with special reference to the problems associated with overleanness. 2. Laboratory and trained panel results. *Animal Productions*, 43, 535-538.



- Wood, J.D.; Brown, S.N.; Nute, G.R.; Whittington, F.M.; Perry, A.M.; Jonhson, S.P. y Enser, M. (1996). Effects of breed, feed level and conditioning time on tenderness pork. *Meat Science* 44, 105-112.
- Zamaratskaia, G., Andersson, H.K., Chen, G., Andersson, K., Madej, A., Lundstrom, K., (2008b). Effect of a gonadotropin-releasing hormone vaccine (Improvac™) on steroid hormones, boar taint and performance in entire male pigs. *Reproduction in Domestic Animals* 43, 351–359.
- Zamaratskaia, G., Babol, J., Madej, A., Squires, E.J., Lundstrom, K. (2004). Age-related variation of plasma concentrations of skatole, androstenone, testosterone, oestradiol-17 beta, oestrone sulphate, dehydroepiandrosterone sulphate, triiodothyronine and IGF-1 in six entire male pigs. *Reproduction in Domestic Animals* 39, 168–172.
- Zamaratskaia, G., Chen, G. and Lundstrom, K. (2006). Effects of sex, weight, diet and hCG administration on levels of skatole and indole in the liver and hepatic activities of cytochromes P4502E1 and P4502A6 in pigs, *Meat Science*, 72, 331-338.
- Zamaratskaia, G., Rydhmer, L., Andersson, H.K., Chen, G., Lowagie, S., Andersson, K. & Lundström, K. (2008a). Long-term effect of vaccination against gonadotropin-releasing hormon, using Improvac™, on hormonal profile and behaviour of male pigs. *Animal Reproduction Science*, 108, 37-48.
- Zeng, X.Y., Turkstra, J.A., Meloen, R.H., Liu, X.Y., Chen, F.Q., Schaaper, W.M., Oonk, H.B., Guo, D.Z., van de Wiel, D.F. (2002). Active immunization against gonadotrophin-releasing hormone in Chinese male pigs: effects of dose on antibody titer, hormone levels and sexual development. *Animal Reproduction Science* 70, 223–233.
- Zhao, G.M., Zhou, G.H. Tian, W., Xu, X.L., Wang, Y.L. and Luo, X. (2005). Changes in alanyl aminopeptidase activity and free amino acid contents in biceps femoris during processing in Jinhua Ham. *Meat Science*, 71, 612-619.



7

Conclusiones



7. CONCLUSIONES

1. La inmunocastración de hembras Ibéricas (Ibérico x Duroc) no afectó a las características de las canales y a la calidad de carne fresca (*Longissimus dorsi*). Además, la grasa en la punta del jamón se vio afectada positivamente por dicha inmunocastración.

2. La inmunocastración tuvo un efecto inconsecuente en la composición físico-química de las paletas curadas. Sin embargo, en los lomos curados se observó un aumento del contenido de grasa intramuscular en el grupo de hembras inmunocastradas. Además, el contenido de ácidos grasos poliinsaturados, tanto en paletas como lomos curados, tuvo valores más bajos en el grupo de hembras inmunocastradas que en las castradas quirúrgicamente, lo cual podría prevenir una excesiva oxidación lipídica responsable de la rancidez.

3. El perfil de compuestos orgánicos volátiles (VOCs) de las paletas curadas, no mostró diferencias significativas entre los grupos estudiados. Probablemente debido a la amplia variabilidad interna que presenta este producto curado, afectando así a la emisión de los VOCs. Contrariamente, en el caso de los lomos curados es posible separar los productos obtenidos de hembras inmunocastradas de aquellos procedentes de hembras castradas quirúrgicamente. La inmunocastración parece favorecer la producción de VOCs con un papel importante en el desarrollo del flavor final en este tipo de productos curados. Siguiendo la tendencia descrita, el perfil sensorial de las paletas curadas no se vio afectado por el método de castración. Contrariamente, en concordancia con las diferencias encontradas en el contenido de grasa intramuscular y perfil de VOCs, en el caso de los lomos curados algunos descriptores como el brillo y veteado mostraron mayores valores en el grupo de hembras inmunocastradas. Esto podría ser debido a la mayor homogeneidad encontrada en los lomos curados, la cual permite observar con mayor claridad los efectos de la inmunocastración.

4. La inmunocastración de hembras porcinas, con demostradas ventajas desde el punto de vista del bienestar animal, es una alternativa viable a la castración



quirúrgica que permite mantener o incluso mejorar las características finales de los productos curados.

8

Conclusions



8. CONCLUSIONS

1. Immune-spaying of female Iberian pigs (Iberian x Duroc) did not affect carcass traits nor fresh meat quality (*Longissimus dorsi*). Furthermore, a positive effect was observed in ham fat thickness due to said immune-spaying.

2. Immune-spaying had an inconsequential effect on the physico-chemical composition of dry-cured shoulders. An increase of intramuscular fat content, however, was observed in dry-cured loins from the group of immune-spayed females. Additionally, the polyunsaturated fatty acid content of immune-spayed females, in dry-cured shoulders as well as dry-cured loins, had lower values than those of surgically spayed females which could prevent the excessive lipid oxidation responsible for rancidity.

3. The volatile organic compound profile (VOCs) of dry-cured shoulders showed no significant difference between the study groups. This is probably due to the wide internal variability of this dry-cured product which affects the emission of VOCs. Contrarily, in the case of dry-cured loins, it is possible to separate products obtained from immune-spayed females from those originating from surgically spayed ones. Immune-spaying seems to favor VOC production, playing an important role in the development of the final flavor of these sorts of dry-cured products. Following the described tendency, the sensorial profile of dry-cured shoulders did not appear to be affected by the method of spaying. Conversely, in agreement with the differences found in the intramuscular fat content and the VOC profile, in the case of dry-cured loins some descriptors such as brightness and marbling showed higher values in the immune-spayed group. This could be due to the great homogeneity found in dry-cured loins, which permits the effects of immune-spaying to be observed with better clarity.

4. Immune-spaying of female pigs, with proven advantages from the point of view of animal welfare, is a viable alternative to surgical spaying, allowing the final characteristics of dry-cured products to be maintained or even improved upon.



9

Publicaciones



9. PUBLICACIONES

9.1. ARTÍCULO 1: Immune-spaying as an alternative to surgical spaying in Iberian x Duroc females: Effect on carcass traits and meat quality characteristics

Meat Science 99 (2015) 99–103



Contents lists available at ScienceDirect

Meat Science

journal homepage: www.elsevier.com/locate/meatsci



Immune-spaying as an alternative to surgical spaying in Iberian × Duroc females: Effect on carcass traits and meat quality characteristics



Rafael Gamero-Negrón^a, José Sánchez del Pulgar^{b,*}, Jesús Ventanas^a, Carmen García^{a,*}

^a Food Technology, Facultad de Veterinaria, UEx, Campus Universitario s/n, 10003 Cáceres, Spain

^b Food Quality and Nutrition Department, IASMA Research and Innovation Centre, Fondazione Edmund Mach, Via E. Mach, 38010 San Michele all'Adige (Tn), Italy

ARTICLE INFO

Article history:

Received 16 January 2014

Received in revised form 31 July 2014

Accepted 13 August 2014

Available online 23 August 2014

Chemical compounds studied in this article:

Oleic acid (PubChem CID: 445639)

Palmitic acid (PubChem CID: 985)

Estearic acid (PubChem CID: 5281)

Linoleic acid (PubChem CID: 5280450)

Palmitoleic acid (PubChem CID: 445638)

Linolenic acid (PubChem CID: 5280934)

Myristic acid (PubChem CID: 11005)

Arachidonic acid (PubChem CID: 444899)

Keywords:

Immuno-castration

Gastration

Iberian pigs

Meat quality

Fatty acid profile

ABSTRACT

The aim of this study was to assess the effect of immune-spaying on production traits and meat quality characteristics of fresh loin (*longissimus dorsi*) by comparing 3 groups of Iberian × Duroc females ($N = 12$ per batch): surgically spayed, immune-spayed and entire females. Carcass traits and physicochemical parameters, including fatty acid profile, were investigated. The only carcass trait significantly affected by castration was the ham fat thickness, where both immune-spayed and surgically spayed females showed higher values against entire females (57 ± 9.5 mm, 62 ± 2.5 mm and 51 ± 10.1 mm, respectively; $p < 0.05$). Furthermore, there were no significant differences in the quality parameters of fresh meat. These results are important regarding animal welfare, since in Europe, there is a plan to voluntarily end the surgical castration of pigs by 2018. Therefore, with an adequate vaccination protocol, immune-spaying might represent a good alternative to surgical spaying. The reliability of immune-spaying over long periods should be evaluated.

© 2014 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Surgical castration without anesthesia is the most common practice to control boar taint (Fredriksen et al., 2009) as well as aggressive and sexual behavior, both in males and females, throughout the rearing period and in the pre-slaughter period. In Europe, female castration is only allowed in Spain for pigs farmed outdoors, with prolonged analgesia and anesthesia (Real Decreto 1221/2009, 2009). This fact depends on the peculiarities of the production system of Iberian pigs: a sacrifice to heavy weights (>150 kg) and raised under free-range conditions, which can cause unwanted pregnancies (Gómez-Fernández, Horcajada, Tomás, Gómez-Izquierdo, & Mercado, 2013). Moreover, in Europe, there is a plan to voluntarily end surgical castration of pigs by 2018 (FVE; Federation of Veterinarians of Europe, 2009; PIGCAS, 2009).

Recently, a vaccine against the gonadotrophin releasing factor (Improvac®, Pfizer Animal Health) has been approved for use in more

than 60 countries including Australia, New Zealand, Brazil, Mexico, Switzerland and the EU, and offers a more welfare-friendly alternative to surgical castration (Thun, Gajewski, & Janett, 2006). Additionally, research has shown that immune-castrated pigs show less aggressive and sexual behavior (Cronin et al., 2003; Fabrèga et al., 2010), and are found to have fewer skin lesions compared to entire males (Rydmer, Lundström, & Andersson, 2010), therefore offering a welfare advantage. Improvac® has no intrinsic hormonal or chemical activity (Dunshea et al., 2001). Successful immunization with Improvac® requires two doses of the vaccine to be given at least 4 weeks apart, and the second dose must be administered 4–6 weeks before slaughter (Dunshea et al., 2001). Until now, studies on immune-spaying of pigs have focused on the response in a short period after vaccination, from the second injection to slaughter (4–6 weeks). However, it is not always practical to vaccinate heavy pigs, especially if they are group-penned (Einarsson, 2006). Therefore, longer time between the second injection and slaughter is desirable. To make this time increase possible, the long-term effects of vaccination with Improvac® should be studied in females, as they have been studied in males (Einarsson, Andersson, Wallgren, Lundström, & Rodríguez-Martínez, 2009; Zamaratskaia et al., 2008). In

* Corresponding authors.

E-mail addresses: jsapuri@hotmail.com (J. Sánchez del Pulgar), cgarcia@unex.es (C. García).



these studies, the success of vaccination has been reported up to 22 weeks after the booster injection. Despite this fact, several authors (Claus, Rottner, & Rueckert, 2008) have reported a variable resumption of testicular function between 10 and 24 weeks. Nevertheless, in another study performed on Iberian females, gilts were slaughtered at 68 weeks of age and 32 weeks after the last vaccination, where it was observed that immune-spayed females showed smaller weights of both ovaries and uteri than entire ones (Hernández-García et al., 2013).

Surgical spaying of pigs has a negative impact on animal welfare and production characteristics such as average daily gain, feed intake and feed conversion ratio compared with immune-spayed females (McCauley et al., 2003; Oliver, McCauley, Harrell, Suster, & Dunshea, 2003). Both studies showed an improvement in growth of gilts with Improvac®. In addition, a significant increase in production efficiency was observed in immune-spayed females (from the second vaccine dose) with respect to surgically spayed and entire females (Gómez-Fernández et al., 2013). Besides, immune-spayed females reach the suitable sacrifice weight (>150 kg) two weeks earlier than the other batches (Gómez-Fernández et al., 2013). Carcasses from castrated pigs are also fatter than those from entire animals (Gispert et al., 2010; Pauly, Spring, O'Doherty, Ampuero Kragten, & Bee, 2009) and for this reason they could be more suitable for manufacturing dry-cured meat products, which is important for the meat industry from a technological point of view.

On the other hand, castration could affect meat quality characteristics. The majority of meat from Iberian pigs is consumed as high-priced cured products. However, the importance of the consumption of fresh and the so-called "natural," "bio" or "organic" meats have recently increased (Cava, Estévez, Ruiz, & Morcuende, 2003). Several studies have demonstrated that the quality of fresh meat, such as fresh loin, and meat products is mainly determined by the lipid fraction (Cava et al., 1997; Daza, Rey, Ruiz, & López-Bote, 2005; Rey, Daza, López-Carrasco, & López-Bote, 2006), pH value (Rosenvold & Andersen, 2003), color and physical-chemical composition of muscle and adipose tissues (Carrapiso & García, 2005; González & Tejada, 2007) and antioxidant composition (González & Tejada, 2007; Rey et al., 2006). Despite the fact that consumption of fresh Iberian pig meat (such as fresh loin) has increased in recent years, the production of Iberian pigs is mainly focused on obtaining raw meat to manufacture dry-cured meat products (Ramírez, Morcuende, & Cava, 2007). Moreover, an increase in slaughter weight increases intramuscular fat content and improves meat quality (Candek-Potokar, Zlender, & Bonneau, 1998), which benefits the production of high-quality dry-cured products.

Several studies show hardly any differences in the quality characteristics of the fresh meat from surgically castrated and immune-castrated male pigs (Aluwé et al., 2013; Font i Furnols & Gispert, 2009; Gispert et al., 2010). Nevertheless, to the best of our knowledge, there is no scientific literature about the effect of immune-spaying on quality parameters of fresh meat from Iberian females. Therefore, the aim of this study was to assess the effect of immune-spaying on production traits and meat quality of fresh loin (*longissimus dorsi*) from Iberian × Duroc females slaughtered at the same age.

2. Materials and methods

2.1. Animals

A total of 192 Iberian × Duroc pigs (Gómez-Fernández et al., 2013), 110 days old and weighing 45 kg on average, were used to test the effect of immunological spaying with Improvac® in the center ITACYL (Hontalbilla, Spain). Animals were identified and classified into three groups with the same average weight: immune-spayed females, surgically spayed females and entire females. A randomized block experimental design was used, with 48 experimental units composed of 4 animals each, 12 replicates per block and 16 replicates per treatment. The feed was the same for all females from the beginning to the end

of the fattening period (Gómez-Fernández et al., 2013). Vaccination was performed twice according to the manufacturer's instructions, 4 weeks apart. Doses were injected at 60 kg (18 weeks of age) and 82.4 kg (22 weeks of age), while surgical spaying was performed close to weaning. The experimental animals were slaughtered at 8.2 months of age, 14.5 weeks after the second Improvac® doses (Gómez-Fernández et al., 2013), considering success has been reported in males being slaughtered up to 22 weeks after the booster injection (Einarsson et al., 2009; Zamratskaia et al., 2008).

2.2. Carcass traits

The weights of hams, shoulders and loins were taken 5 hours post-mortem under routine slaughterhouse procedures. The backfat thickness (BFT) and ham fat thickness (HFT) were measured in the 3rd to 4th ribs and in the subcutaneous fat beside the *gluteus medius* muscle in the carcass and ham, respectively. The yields of hams, shoulders and loins were calculated with respect to carcass weight.

2.3. Sampling and processing

The 192 (64 SF, 64 IF, 64 EF) animals were slaughtered at the abattoir of MAZAFRA (Zafra, Spain), by CO₂ stunning and exsanguination, with a live weight of 160–170 kg at 8.2 months of age. The sampling was performed with fresh loin (*longissimus dorsi*) taken randomly from each batch (64 SF, 64 IF, 64 EF) in Argal S.A. industry (Fregenal de la Sierra, Spain). Specifically, the test sample consisted of 36 randomly selected fresh loins from 36 different animals; 12 samples from each of the three batches ($n = 12$). Fresh loins were properly identified to monitor traceability. Analytical samples were selected from the central region of each loin.

2.4. Chemicals

The reagents used in the chemical composition and lipid oxidation analyses were supplied by Merck (Madrid, Spain), Panreac (Barcelona, Spain) and Sigma-Aldrich (Madrid, Spain). The standards of the fatty acid methyl esters calibration solution (listed in Tables 3 and 4) were supplied by Sigma-Aldrich (Madrid, Spain).

2.5. pH

The value of pH at 24 h postmortem was measured in the muscle *longissimus dorsi* with a portable puncture pH meter (Crison mod. 507; Crison Instruments, Barcelona, Spain).

2.6. Chemical composition

Moisture and protein were determined following the official methods (AOAC, 2000). Intramuscular fat (IMF) content was analyzed following the procedure described by Folch, Lees, and Stanley (1957). The concentration of haem pigments was assayed according to Hornsey (1956). Two replicates from each sample were analyzed and the mean value was used in the data analyses.

2.7. Water-holding capacity

Water-holding capacity (WHC) was assayed as a percentage of free water following the method proposed by Irie and Swatland (1992).

2.8. Instrumental color measurement

Color measurements were made following the recommendations on color determination of the American Meat Science Association (Hunt et al., 1991). Color parameters (CIE $L^*a^*b^*$) were determined using a Minolta CR-300 colorimeter (Minolta Camera, Osaka, Japan) with



illuminant D65, a 0° standard observer and a 2.5 cm port/viewing area. The colorimeter was calibrated before use with a white tile. For each slice, 2 measurements were carried out in 2 different points randomly taken.

2.9. Lipid oxidation

Lipid oxidation was assessed in duplicate by the 2-thiobarbituric acid (TBAR) method (Salih, Smith, Price, & Dawson, 1987) in 2 g of meat. TBAR-RS values were calculated from a standard curve of TEP (1,1,3,3-tetraethoxypropane) and expressed as mg of malondialdehyde/kg meat. The absorbance measurements were performed by using a Hitachi U-2000 Spectrophotometer.

2.10. Determination of fatty acid profiles

The fatty acid methyl esters were obtained by transesterification with sodium methylate and sulfuric acid following the procedure described by Cava et al. (1997). The fatty acid methyl esters were analyzed using a Hewlett-Packard 6890A gas chromatograph, equipped with an oncolumn injector and a flame ionization detector (FID). Separation was carried out on a polyethylene glycol capillary column (Supelcowax-10, Supelco, Bellefonte, PA; 60 m length, 0.32 mm id, 0.25 µm film thickness). The gas chromatograph oven temperature program was as follows: initial temperature of 180 °C, 5 °C/min to 200 °C; 40 min at this temperature and thereafter 5 °C/min to 250 °C, and then kept for 21 min. Injector and detector temperatures were 250 °C. Carrier gas was helium at a flow rate of 0.7 ml/min. Individual fatty acid methyl ester peaks were identified by comparison of their retention times with those of standards analyzed under the same conditions.

2.11. Statistical analyses

The statistical analyses were performed by using the SPSS 19.0 package and consisted of a one-way ANOVA performed on the three studied batches and, when the effect was significant, a post hoc Tukey test. The effect was considered significant at $p < 0.05$.

3. Results and discussion

3.1. Carcass traits

The effect of the immune-spaying on carcass traits from Iberian (IB) × Duroc (D) females is presented in Table 1. No significant differences were observed between the three batches in carcass weight and carcass yield, which agrees with McCauley et al. (2003), who studied the effects of immune-castration in boars and gilts, and with previous researches comparing castrated males, spayed females and entire females in IB × D pigs (Serrano, Valencia, Fuentetaja, Lázaro, & Mateos, 2008) and in commercial hybrid pigs (Landrace × Large White dams × Duroc sires; Peinado et al., 2012). However, Oliver et al. (2003) found an increase in carcass weight from immune-spayed Large White × Landrace

Table 1

Effect of immune-spaying of females on carcass traits (mean values ± standard deviation).

	SF (N = 12)	IF (N = 12)	EF (N = 12)	Sig. ¹
Carcass weight (kg)	130.9 ± 4.3	136.5 ± 4.6	132.3 ± 7.3	ns
Carcass yield (g/kg BW)	79.45 ± 1.36	78.68 ± 1.37	79.37 ± 1.84	ns
Backfat thickness (mm)	68.7 ± 5.7	65 ± 14.4	63.3 ± 8.9	ns
Ham fat thickness (mm)	62 ± 2.5 ^a	57 ± 9.5 ^a	51 ± 10.1 ^b	*
Ham yield (g/kg)	9.69 ± 0.65	9.90 ± 0.45	9.84 ± 1.22	Ns
Shoulder yield (g/kg)	5.95 ± 0.35 ^b	5.93 ± 0.40 ^b	6.50 ± 0.50 ^a	**
Loin yield (g/kg)	2.13 ± 0.19 ^b	2.11 ± 0.17 ^b	2.41 ± 0.13 ^a	**

SF, surgically spayed females; IF, immune-spayed females; EF, entire females; BW, body weight. ¹ Significance level. ** $p < 0.01$; * $p < 0.05$; ns, not significant. ^{ab} Different letters in the same row indicates significant differences ($p < 0.05$).

females compared to entire ones. On the other hand, the results of Serrano, Valencia, Fuentetaja, Lázaro, and Mateos (2009) in IB × D pigs showed higher carcass weight and carcass yield in spayed females regarding entire females. The current study did not show any difference for backfat thickness (BFT) among spayed batches and entire females, which agrees with the results reported by McCauley et al. (2003). Contrarily, Oliver et al. (2003) found higher BFT in immune-spayed females compared to entire ones. In the same direction, Serrano et al. (2008) and Peinado et al. (2012) reported higher BFT in surgically spayed females than in entire females.

Nevertheless, significant differences were found regarding the ham fat thickness (HFT) measured beside the *gluteus medius* muscle, where both the immune-spayed and surgically spayed batches showed higher values against entire females. This result is in accordance with several authors (Peinado et al., 2012; Serrano et al., 2008; 2009). This fact is important from a technological point of view for the manufacture of high-quality dry-cured hams, since a high fattening level is required to provide correct ripening during maturation for the development of their sensory characteristics (Gandemer, 2002).

On the other hand, entire sows showed higher values in the loin and shoulder yields followed by immune-spayed and surgically spayed batches, respectively, in agreement with results reported by Serrano et al. (2008). However, no significant differences were found in the ham yield among castrated and entire females, in accordance with the data reported by Serrano et al. (2009) and Peinado et al. (2012).

3.2. Meat quality traits

The effect of the immune-spaying on physicochemical composition of *longissimus dorsi* muscle from IB × D females is shown in Table 2. Female immune-spaying did not affect *longissimus dorsi* color in accordance with data from Serrano et al. (2008), who did not observe any difference between IB × D castrated males, spayed females and entire females, and Peinado et al. (2012) in commercial hybrid pigs (Landrace × Large White dams × Duroc sires). Nevertheless, the results reported by Serrano et al. (2009) in IB × D pigs showed higher values for L^* , a^* , b^* in entire females against castrated ones. This fact is important because color is one of the most valuable characteristics of fresh meat that influences consumer choice (Carpenter, Cornforth, & Whittier, 2001). Furthermore, no significant differences were observed for pH values from three different batches. Moreover, some studies (Juncher et al., 2001) have reported final pH as one of the most important parameters to explain the differences in color, lipid oxidation and drip loss during chill storage of pork. The meat industry has great interest in optimizing the water-holding capacity, limiting loss of fluids (drip loss) during slaughter and subsequent manipulations as it implies a

Table 2

Effect of immune-spaying on chemical composition and color of *longissimus dorsi* in females (mean values ± standard deviation).

	SF (N = 12)	IF (N = 12)	EF (N = 12)	Sig. ¹
Moisture (g/100 g) ^a	70.77 ± 2.40	71.45 ± 2.56	70.86 ± 3.42	ns
pH	5.87 ± 0.19	5.85 ± 0.21	5.76 ± 0.26	ns
Color L^*	48.71 ± 2.65	49.38 ± 2.40	50.97 ± 2.61	ns
Color a^*	8.30 ± 0.76	9.37 ± 1.37	9.25 ± 1.41	ns
Color b^*	2.27 ± 0.81	2.74 ± 0.73	3.14 ± 0.80	ns
Intramuscular fat content (g/100 g) ^a	3.37 ± 1.40	3.63 ± 0.79	3.18 ± 0.87	ns
WHC	93.9 ± 0.75	92.7 ± 1.77	93.3 ± 1.73	ns
Protein content (g/100 g) ^a	24.9 ± 2.1	24.6 ± 1.7	25.7 ± 1.4	ns
Protein content (g/100 g) ^b	86.5 ± 12.7	87.1 ± 12.3	89.4 ± 11.0	ns
MDA (mg/kg)	0.06 ± 0.01	0.07 ± 0.03	0.07 ± 0.02	ns
Haem pigments (mg/g) ^a	1.11 ± 0.19	1.19 ± 0.12	1.07 ± 0.12	ns

SF, surgically spayed females; IF, immune-spayed females; EF, entire females; WHC, water-holding capacity; MDA, malondialdehyde. ¹ Significance level. * $p < 0.05$; ns, not significant. ^a Expressed as percentage of raw matter. ^b Expressed as percentage of dry matter.



financial loss (Maribo, Olsen, Barton-Gade, Møller, & Karlsson, 1998). In this work, no significant differences were found in moisture and water-holding capacity between the three batches.

The chemical composition of the *longissimus dorsi* was not affected by immune-spaying, in agreement with that reported by several authors (Peinado et al., 2012; Serrano et al., 2008) for entire and surgically spayed females. The average intramuscular fat (IMF) content in *longissimus dorsi* was approximately 3.5%, which is lower than the 10% and 8% reported by Serrano et al. (2008) and Serrano et al. (2009), respectively. However, it is in accordance with the 4.5% found by Ramírez and Cava (2007) for IMF of IB × D females. In the current experiment, the samples of *longissimus dorsi* corresponded to samples without intermuscular fat in agreement with Ramírez et al. (2007), whereas the samples used by Serrano et al. (2008) and Serrano et al. (2009) were not trimmed free of intermuscular fat and connective tissue. The percentage of IMF did not show differences among immune-spayed, castrated and entire females, in agreement with the results of Serrano et al. (2008) and Peinado et al. (2012). Nevertheless, Serrano et al. (2009) obtained higher IMF content in spayed females with regard to the entire ones. A higher IMF content can provide better characteristics for producing high-quality meat products (Gandemer, 2002). This fact is a positive and valued aspect for the industry. Besides, low values of fat are negatively correlated with the sensory characteristics of meat and meat products, such as taste, flavor, tenderness and juiciness (Essén-Gustavsson, Karlsson, Lundström, & Enfält, 1994; Ruiz-Carrascal, Ventanas, Cava, Andrés, & García, 2000). In addition, the lipid oxidation stability, estimated by the malondialdehyde content, did not show significant differences between the studied batches (Table 2).

3.3. Fatty acid profile

The effect of castration on fatty acid composition of backfat (BF) and IMF of muscle *longissimus dorsi* from IB × D pigs is shown in Tables 3 and 4, respectively. As displayed in the tables, castration had no effect on the fatty acid composition, neither BF nor IMF, from *longissimus dorsi* muscle.

These results are in agreement with Serrano et al. (2008), who reported no significant differences in the fatty acid profile of the BF from surgically spayed and entire IB × D females, and with the first experiment described in Peinado et al. (2012) in commercial hybrid females. Nevertheless, Serrano et al. (2009) found a higher percentage of saturated fatty acids (SFA) in surgically spayed IB × D females than

Table 3
Effect of females immune-spaying on fatty acid profile of backfat (g/100 g of fat; mean values ± standard deviation).

	SF (N = 12)	IF (N = 12)	EF (N = 12)	Sig. ¹
C12	0.24 ± 0.12	0.17 ± 0.04	0.19 ± 0.10	ns
C14	1.88 ± 0.18	1.66 ± 0.35	1.52 ± 0.22	ns
C15	0.13 ± 0.07	0.08 ± 0.03	0.08 ± 0.03	ns
C16	25.7 ± 1.24	27.1 ± 2.50	23.8 ± 1.61	ns
C16:1	2.42 ± 0.26 ^a	2.12 ± 0.25 ^b	2.10 ± 0.20 ^b	*
C17	0.23 ± 0.03	0.24 ± 0.03	0.24 ± 0.03	ns
C17:1	0.23 ± 0.03	0.23 ± 0.03	0.22 ± 0.04	ns
C18	8.57 ± 0.57	9.42 ± 0.99	9.03 ± 0.90	ns
C18:1	46.29 ± 1.07	46.19 ± 2.94	48.01 ± 1.90	ns
C18:2	8.88 ± 0.59	9.46 ± 1.05	9.72 ± 0.77	ns
C18:3	0.65 ± 0.07	0.71 ± 0.08	0.73 ± 0.07	ns
C20:1	0.68 ± 0.12	0.70 ± 0.18	0.76 ± 0.16	ns
C20:2	0.26 ± 0.05	0.27 ± 0.08	0.31 ± 0.07	ns
C20:4	0.12 ± 0.08	0.11 ± 0.04	0.09 ± 0.03	ns
SFA	40.04 ± 1.17	39.38 ± 4.62	38.08 ± 2.68	ns
MUFA	49.62 ± 1.11	49.94 ± 3.57	51.17 ± 1.95	ns
PUFA	9.92 ± 0.77	10.60 ± 1.10	10.85 ± 0.88	ns

CF: surgically spayed females; IF: immune-spayed females; EF: entire females. SFA: Saturated fatty acids; MUFA: Monounsaturated fatty acids; PUFA: Polyunsaturated fatty acids. ¹ Significance level. * $p < 0.05$; ns, not significant.

Table 4
Effect of females immune-spaying on fatty acid profile of intramuscular fat in *longissimus dorsi* (g/100 g of fat; mean values ± standard deviation).

	SF (N = 12)	IF (N = 12)	EF (N = 12)	Sig. ¹
C12	0.28 ± 0.13	0.22 ± 0.05	0.29 ± 0.15	ns
C14	2.05 ± 0.29	2.02 ± 0.27	1.94 ± 0.29	ns
C14:1	0.22 ± 0.07	0.18 ± 0.06	0.21 ± 0.08	ns
C16	26.8 ± 0.88	27.6 ± 1.48	27.0 ± 1.77	ns
C16:1	4.71 ± 0.53	4.53 ± 0.60	4.43 ± 0.50	ns
C17	0.18 ± 0.07	0.17 ± 0.08	0.16 ± 0.05	ns
C17:1	0.20 ± 0.05	0.91 ± 0.82	0.22 ± 0.09	ns
C18	8.94 ± 0.60	9.37 ± 1.29	8.95 ± 0.57	ns
C18:1	43.27 ± 1.50	42.66 ± 3.30	42.92 ± 2.02	ns
C18:2	5.02 ± 0.87	4.35 ± 0.95	4.92 ± 0.90	ns
C18:3	0.25 ± 0.07	0.23 ± 0.06	0.25 ± 0.04	ns
C20:1	0.48 ± 0.12	0.40 ± 0.12	0.39 ± 0.12	ns
C20:4	0.61 ± 0.25	0.51 ± 0.16	0.59 ± 0.24	ns
SFA	45.27 ± 1.82	47.02 ± 3.90	46.06 ± 2.52	ns
MUFA	48.87 ± 1.58	48.69 ± 3.66	48.16 ± 2.22	ns
PUFA	5.87 ± 1.09	5.09 ± 1.11	5.75 ± 1.12	ns

CF: surgically spayed females; IF: immune-spayed females; EF: entire females. SFA: Saturated fatty acids; MUFA: Monounsaturated fatty acids; PUFA: Polyunsaturated fatty acids. ¹ Significance level. * $p < 0.05$; ns, not significant.

in the entire ones. In the same way, the second experiment described in Peinado et al. (2012) showed higher palmitic acid (C16:0) and lower linoleic acid (C18:2) percentages in spayed females with regard to the entire ones.

On the other hand, these results are analogous to that of previous studies comparing the fatty acid profile of BF from surgically and immune-castrated males. The absence of significant differences in the percentage of SFA is in agreement with the results of Font i Fumols and Gispert (2009), Font-i-Furnols et al. (2012) and Boler, Kutzler, et al. (2011), but is in contrast with Pauly et al. (2009), who found a higher SFA proportion in surgically spayed than in immune-castrated males. Furthermore, the results of this study regarding the percentage of monounsaturated fatty acids (MUFA) are in concordance with the data of Pauly et al. (2009), Boler, Clark, et al. (2011) and Font-i-Furnols et al. (2012). However, Font i Fumols and Gispert (2009) reported a higher amount of MUFA in the BF of surgically castrated males than in the BF of the immune-spayed ones. Finally, the lack of significant differences in the percentage of polyunsaturated fatty acids (PUFA) between the studied batches agrees with Boler, Clark, et al. (2011) and Font-i-Furnols et al. (2012), whereas Font i Fumols and Gispert (2009) and Pauly et al. (2009) reported higher PUFA content in immune-spayed with regard to surgically castrated males.

4. Conclusions

In this study, the carcass traits and meat quality parameters affected by immune-spaying were researched in Iberian × Duroc females. According to the obtained results, it seems that immune-spaying has a scarce effect on the quality of fresh meat (*longissimus dorsi*). On the other hand, the ham fat thickness seems to be positively affected by immune-spaying. These results are important regarding animal welfare, since in Europe, there is a plan to voluntarily end surgical castration of pigs by 2018, thus avoiding surgery and anesthesia with potential delays due to infectious problems that affect production costs. Therefore, immune-spaying might represent a good alternative to surgical spaying.

Acknowledgements

This research was partially financed by Zoetis in a contract with SiPA (Servicio de Análisis e Innovación en Productos de origen Animal) of the University of Extremadura. Rafael Gamero is the beneficiary of a grant from the Junta de Extremadura (Regional Government Board of Extremadura), Spain. The authors also thank the Centro de Prueba de Porcino



del Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León ITACYL (Hontalbilla, Segovia, Spain).

References

- Aluwé, M., Langendries, K. C. M., Bekaert, K. M., Tuytens, F. A. M., De Brabander, D. L., De Smet, S., & Millet, S. (2013). Effect of surgical castration, immunocastration and chicory-diet on the meat quality and palatability of boars (original research article). *Meat Science*, 94, 402–407.
- AOAC (2000). *Official Methods of Analysis* (17th ed.). Gaithersburg, Maryland: Association of Official Analytical Chemists.
- Boler, D. D., Clark, D. L., Baer, A. A., Meeuwse, D. M., King, V. L., McKeith, F. K., et al. (2011). Effects of increasing lysine on further processed product characteristics from immunologically castrated male pigs. *Journal of Animal Science*, 89, 2200–2209.
- Boler, D. D., Kutzler, L. W., Meeuwse, D. M., King, V. L., Campion, D. R., McKeith, F. K., et al. (2011). Effects of increasing lysine on carcass composition and cutting yields of immunologically castrated male pigs. *Journal of Animal Science*, 89, 2189–2199.
- Candek-Potokar, M., Zlender, B., & Bonneau, M. (1998). Effects of breed and slaughter weight on longissimus muscle biochemical traits and sensory quality in pigs. *Annales de Zootechnie*, 47, 3–16.
- Carpenter, C. E., Cornforth, D. P., & Whittier, D. (2001). Consumer preferences for beef color and packaging did not affect eating satisfaction. *Meat Science*, 57(4), 359–363.
- Carrapiso, A. I., & García, C. (2005). Instrumental colour of Iberian ham subcutaneous fat and lean (biceps femoris): Influence of crossbreeding and rearing system. *Meat Science*, 71, 284–290.
- Cava, R., Estévez, M., Ruiz, J., & Morcuende, D. (2003). Physicochemical characteristics of three muscles from free-range reared Iberian pigs slaughtered at 90 kg live weight. *Meat Science*, 63, 533–541.
- Cava, R., Ruiz, J., López-Bote, C., Martín, L., García, C., Ventanas, J., & Antequera, T. (1997). Influence of finishing diet on fatty acid profiles of intramuscular lipids, triglycerides and phospholipids in muscles of the Iberian pig. *Meat Science*, 45(2), 263–270.
- Claus, R., Rottner, S., & Rueckert, C. (2008). Individual return to Leydig cell function after GnRH-immunization of boars. *Vaccine*, 26, 4571–4578.
- Cronin, G. M., Dunshea, F. R., Butler, K. L., McCauley, I., Barnett, J. L., & Hemsworth, P. H. (2003). The effects of immuno-castration and surgical-castration on the behaviour and consequently growth of group-housed, male finisher pigs. *Applied Animal Behavior Science*, 81, 111–126.
- Daza, A., Rey, A. I., Ruiz, J., & López-Bote, C. (2005). Effects of feeding in free-range conditions or in confinement with different dietary MUFA/PUFA ratios and α -tocopherol acetate, on antioxidants accumulation and oxidative stability in Iberian pigs. *Meat Science*, 69, 151–163.
- Dunshea, F. R., Colantoni, C., Howard, K., McCauley, I., Jackson, P., Long, K. A., et al. (2001). Vaccination of boars with a GnRH vaccine (Improvac) eliminates boar taint and increases growth performance. *Journal of Animal Science*, 79, 2524–2535.
- Einarsson, S. (2006). Vaccination against GnRH: pros and cons. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 48(Suppl 1), S10.
- Einarsson, S., Andersson, K., Wallgren, M., Lundström, K., & Rodríguez-Martínez, H. (2009). Short- and long-term effects of immunization against gonadotropin-releasing hormone, using Improvac™, on sexual maturity, reproductive organs and sperm morphology in male pigs. *Theriogenology*, 71, 302–310.
- Essén-Gustavsson, B., Karlsson, A., Lundström, K., & Enfalt, A. C. (1994). Intramuscular fat and muscle fibre lipid contents in halothane-gene free pigs fed high or low protein diets and its relation to meat quality. *Meat Science*, 38, 2269–2277.
- Fabrèga, E., Velarde, A., Cros, J., Gispert, M., Suárez, P., Tibau, J., & Soler, J. (2010). Effect of vaccination against gonadotropin-releasing hormone, using Improvac, on growth performance, body composition, behaviour and acute phase proteins. *Livestock Science*, 132, 53–59.
- Federation of Veterinarians of Europe (2009). *Pig Castration*. FVE Position Paper.
- Folch, J., Lees, M., & Stanley, G. H. S. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids of animal tissues. *The Journal of Biological Chemistry*, 226, 497–509.
- Font i Furnols, M., & Gispert, M. (2009). Comparison of different devices for predicting the lean meat percentage of pig carcasses. *Meat Science*, 83, 443–446.
- Font-i-Furnols, M., Gispert, M., Soler, J., Diaz, M., Garcia-Regueiro, J. A., Diaz, I., & Pearce, M. C. (2012). Effect of vaccination against gonadotropin-releasing factor on growth performance, carcass, meat and fat quality of male Duroc pigs for dry-cured ham production. *Meat Science*, 91, 148–154.
- Fredriksen, B., Font i Furnols, M., Lundström, K., Migdal, W., Prunier, A., Tuytens, F. A. M., & Bonneau, M. (2009). Practice on castration of piglets in Europe. *Animal*, 3, 1480–1487.
- Gandemer, G. (2002). Lipids in muscles and adipose tissues, changes during processing and sensory properties of meat products. *Meat Science*, 62, 309–321.
- Gispert, M., Oliver, M. A., Velarde, A., Suarez, P., Perez, J., & Font i Furnols, M. (2010). Carcass and meat quality characteristics of immunocastrated male, surgically castrated male, entire male and female pigs. *Meat Science*, 85, 664–670.
- Gómez-Fernández, J., Horcajada, S., Tomás, C., Gómez-Izquierdo, E., & Mercado, E. (2013). The effect of immunocastration and surgically castration on growth performance and carcass quality in fattening period of Iberian female pigs. *ITEA-Información Técnica Económica Agraria*, 109, 33–48.
- González, E., & Tejada, J. F. (2007). Effects of dietary incorporation of different antioxidant extracts and free-range rearing on fatty acid composition and lipid oxidation of Iberian pig meat. *Animal*, 1(7), 1060–1067.
- Hernández-García, F., Duarte, J. L., Pérez, M. A., Raboso, C., Rosario, A. I., & Izquierdo, M. (2013). Successful long-term pre-pubertal immunocastration of purebred Iberian gilts reared in extensive systems. *Acta Agriculturae Slovenica*(Supplement 4), 123–126.
- Hornsey, H. C. (1956). The colour of cooked cured pork. 1. Estimation of the nitric oxide-haem pigments. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 7, 534–541.
- Hunt, M. C., Acton, J. C., Benedict, R. C., Calkins, C. R., Cornforth, D. P., Jeremiah, L. E., Olson, D. G., Salm, C. P., Savell, J. W., Shivas, S. D., et al. (1991). AMSA guidelines for meat colour evaluation. In *Proceedings 44th annual reciprocal meat conference* (pp. 9–12) July 1991.
- Irie, M., & Swatland, H. J. (1992). Relationships between Japanese pork colour standards and optical properties of pork before and after frozen storage. *Food Research International*, 25, 21–30.
- Juncher, D., Rønn, B., Mortensen, E. T., Henckel, P., Karlsson, A., Skibsted, L. H., & Bertelsen, G. (2001). Effect of pre-slaughter physiological conditions on the oxidative stability of colour and lipid during chill storage of pork. *Meat Science*, 58, 347–357.
- Maribo, H., Olsen, E. V., Barton-Gade, P., Møller, A. J., & Karlsson, A. (1998). Effect of early post-mortem cooling on temperature, pH fall and meat quality in pigs. *Meat Science*, 50, 115–129.
- McCauley, I., Watt, M., Suster, D., Kerton, D. J., Oliver, W. T., Harrell, R. J., & Dunshea, F. R. (2003). An immunocastration vaccine (Improvac®) and porcine somatotropin (Reporcin®) have synergistic effects upon growth performance in both boars and gilts. *Australian Journal of Agricultural Research*, 54, 11–20.
- Oliver, W. T., McCauley, I., Harrell, R. J., Suster, D., & Dunshea, F. R. (2003). A GnRF vaccine (Improvac®) and porcine somatotropin have synergistic and additive effects on growth performance in group-housed boars and gilts, respectively. *Journal of Animal Science*, 81, 1959–1966.
- Pauly, C., Spring, P., O'Doherty, J. V., Ampuero Kragten, S., & Bee, G. (2009). Growth performance, carcass characteristics and meat quality in group-penned surgically castrated, immunocastrated (Improvac®) and entire male and individually penned entire male pigs. *Animal*, 3, 1057–1066.
- Peinado, J., Serrano, M. P., Nieto, M., Sánchez, J., Medel, P., & Mateos, G. G. (2012). The effects of gender and castration of females on performance and carcass and meat quality of heavy pigs destined to dry cured industry. *Meat Science*, 90, 715–720.
- PIGCAS (2009). *Report on attitudes, practices and state of the art regarding piglet castration in Europe*. Deliverable D4.1. Report on recommendations for research and policy support.
- Ramírez, R., & Cava, R. (2007). Carcass composition and meat quality of three different Iberian × Duroc genotype pigs. *Meat Science*, 75, 388–396.
- Ramírez, R., Morcuende, D., & Cava, R. (2007). Fatty acid composition and adipogenic enzyme activity of muscle and adipose tissue, as affected by Iberian × Duroc pig genotype. *Food Chemistry*, 104, 500–509.
- Real Decreto 1221/2009 (2009). *de 17 de julio, por el que se establecen normas básicas de ordenación de las explotaciones de ganado porcino extensivo y por el que se modifica el Real Decreto 1547/2004, de 25 de junio, por el que se establecen las normas de ordenación de las explotaciones cunícolas*. B.O.E. 66585–66597 (n. 187).
- Rey, A. I., Daza, A., López-Carrasco, C., & López-Bote, C. J. (2006). Feeding Iberian pigs with acorns and grass in either free-range or confinement affects the carcass characteristics and fatty acids and tocopherols accumulation in longissimus dorsi muscle and backfat. *Meat Science*, 73(1), 66–74.
- Rosenold, K., & Andersen, H. J. (2003). Factors of significance for pork quality—a review. *Meat Science*, 64(3), 219–237.
- Ruiz-Carrascal, J., Ventanas, J., Cava, R., Andrés, A. I., & García, C. (2000). Texture and appearance of dry cured ham as affected by fat content and fatty acid composition. *Food Research International*, 33, 91–95.
- Rydmer, L., Lundström, K., & Andersson, K. (2010). Immunocastration reduces aggressive and sexual behaviour in male pigs. *Animal*, 4, 965–972.
- Salih, A. M., Smith, D. M., Price, J. F., & Dawson, L. E. (1987). Modified extraction 2-thiobarbituric acid method for measuring lipid oxidation in poultry. *Poultry Science*, 66, 1483–1489.
- Serrano, M. P., Valencia, D. G., Fuentetaja, A., Lázaro, R., & Mateos, G. G. (2008). Effect of gender and castration of females and slaughter weight on performance and carcass and meat quality of Iberian pigs reared under intensive management systems. *Meat Science*, 80, 1122–1128.
- Serrano, M. P., Valencia, D. G., Fuentetaja, A., Lázaro, R., & Mateos, G. G. (2009). Effect of castration on productive performance, carcass characteristics and meat quality of Iberian pig females reared under intensive management systems. *Livestock Science*, 123, 147–153.
- Thun, R., Gajewski, Z., & Janett, F. (2006). Castration in male pigs: techniques and animal welfare issues. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 57(Suppl. 8), 189–194.
- Zamaratskaia, G., Rydmer, L., Andersson, H. K., Chen, G., Lowagie, S., Andersson, K., & Lundström, K. (2008). Long-term effect of vaccination against gonadotropin-releasing hormone, using Improvac™, on hormonal profile and behaviour of male pigs. *Animal Reproduction Science*, 108, 37–48.



9.2. ARTÍCULO 2: Immune-spaying as an alternative to surgical spaying in Iberian x Duroc females: Effect on quality characteristics and fatty acid profile in dry-cured shoulders and loins

Meat Science 104 (2015) 52–57



Contents lists available at ScienceDirect

Meat Science

journal homepage: www.elsevier.com/locate/meatsci

Immune-spaying as an alternative to surgical spaying in Iberian × Duroc females: Effect on quality characteristics and fatty acid profile in dry-cured shoulders and loins



Rafael Gamero-Negrón, José Sánchez del Pulgar*, Carmen García

Food Technology, Facultad de Veterinaria, UEEx, Campus Universitario s/n, 10003 Cáceres, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 16 September 2014
Received in revised form 27 November 2014
Accepted 15 January 2015
Available online 21 January 2015

Keywords:

Immunocastration
Castration
Iberian pigs
Fatty acid profile
Dry-cured loins
Dry-cured shoulders

ABSTRACT

The aim of this study was to assess the effect of immune-spaying on meat quality characteristics and fatty acid profile of dry-cured shoulders and loins by comparing Iberian × Duroc surgically spayed females, immune-spayed females and entire females. There were no significant differences on the physicochemical composition of dry-cured shoulders; however the intramuscular fat content of dry-cured loins was higher in immune-spayed females than entire ones, but not significantly different from spayed females. Immune-spayed females showed the highest values, which could improve the sensory quality of Iberian dry-cured loins, since it is considered an index of high quality. On the other hand, the PUFA content of both dry-cured shoulders and loins proved to be lower in immune-spayed than spayed females, which could prevent excessive fat oxidation responsible for rancidity. Therefore, immune-spaying could be a viable alternative to surgical spaying from the meat quality point of view.

© 2015 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Approximately 98 million male pigs are surgically castrated in Europe each year. Surgical castration without anesthesia is the most common practice to control boar taint and aggressive behavior in males (Fredriksen et al., 2009) as well as sexual behavior, both in males and females, throughout the rearing and pre-slaughter periods. European interest in animal welfare (EFSA, 2004), and the prospect of legislation in several countries limiting the current practice of surgical castration without anesthesia, have encouraged the swine industry to reconsider its traditional approach to the control of boar taint and sexual behavior, and investigate alternatives (Prunier et al., 2006; Zamaratskaia, Chen, & Lundstrom, 2006).

In Europe, female castration is only allowed in Spain for pigs farmed outdoors, with prolonged analgesia and anesthesia (Real Decreto, 1221/2009, 1221/2009, 2009). This fact is due to the peculiarities of the production system of Iberian pigs, where they are sacrificed at heavy weights (>150 kg), allowing time for them to reach sexual maturity. In addition to this, Iberian pigs are raised under free-range conditions, which can cause unwanted pregnancies in Iberian females by wild boars (Gómez-Fernández, Horcajada, Tomás, Gómez-Izquierdo, & Mercado, 2013). An alternative to traditional castration is immunocastration, which is based on immunizing

the animals against the gonadotropin releasing factor hormone (GnRH) which is critical for normal sexual development and maintenance. Currently, a vaccine against this hormone (Improvac®, Pfizer Animal Health) has been approved for use in more than 60 countries including Australia, New Zealand, Brazil, Mexico, Switzerland and the EU, which offers a more welfare friendly alternative to surgical castration (Thun, Gajewski, & Janett, 2006). Research has shown that immune-castrated pigs show less aggressive and sexual behavior (Cronin et al., 2003; Fabrèga et al., 2010) and are found to have fewer skin lesions compared to entire males (Rydhmer, Lundstrom, & Andersson, 2010), therefore offering a welfare advantage. Moreover, immune-spaying has a positive impact on animal welfare and production characteristics such as average daily gain, feed intake and feed conversion ratio compared with surgically spayed females (McCauley et al., 2003; Oliver, McCauley, Harrell, Suster, & Dunshea, 2003).

Successful immunization with Improvac® requires two doses of the vaccine to be given at least 4 weeks apart, and the second dose being administered 4–6 weeks before slaughter (Dunshea et al., 2001). Until now, studies on immunocastration of pigs have focused on the response in a short period after vaccination, from the second injection to slaughter (4–6 weeks). However, longer time between the second injection and slaughter is desirable since, due to animal management problems, it is not always practical to vaccinate heavy pigs, especially if they are group-penned (Einarsson, 2006). For the said time increase to be possible, the long-term effects of the Improvac® vaccination should be studied in females, as they have been studied in males

* Corresponding author.

E-mail address: josapuri@unex.es (J. Sánchez del Pulgar).



(Einarsson, Andersson, Wallgren, Lundström, & Rodríguez-Martínez, 2009; Zamaratskaia et al., 2008), where success of the vaccination has been reported up to 22 weeks after the booster injection (protocol of two doses). Nevertheless, variable resumption of testicular function between 10 and 24 weeks has been reported (Claus, Rottner, & Rueckert, 2008) according to a similar protocol. On the other side, in females, Hernández-García et al. (2013) have developed a successful long-term pre-pubertal protocol that includes three doses. In this case, it was observed that immune-spayed females slaughtered at 68 weeks of age and 32 weeks after the third vaccination showed smaller weights of both ovaries and uteri than entire females. Therefore the timing (early/late) as well as number of doses (2 vs 3) may be important for the immunocastration effectiveness.

Immunocastration could directly affect meat quality, which is shown in several articles where carcasses from castrated pigs are also fatter than those from entire animals (Gispert et al., 2010; Pauly, Spring, O'Doherty, Ampuero Kragten, & Bee, 2009) and thus, could be better suited for processing dry-cured meat products. In this direction, pioneer work concerning Iberian \times Duroc females is available (Gamero-Negrón, Sánchez del Pulgar, Ventanas, & García, 2015), where small differences were found in the quality parameters of fresh meat among treatment groups (immune-spayed females, surgical-spayed females and entire females), but higher ham fat thickness was observed in both spayed treatment groups compared to entire females.

The meat quality is assessed according to individual quality traits such as pH, color, or intramuscular fat content (Šimek, Grolichová, Steinhäuserová, & Steinhäuser, 2004). Many parameters have been assessed to characterize dry-cured meat products, of which high intramuscular fat content is the main factor contributing to the high sensorial quality. It allows a long ripening period (more than 2 months and 14–18 months, respectively in loins and shoulders), slowing down moisture loss so that products are tender and juicy, and developing a very intense and appreciated flavor (Antequera et al., 1994; García et al., 1991).

In Spain, Iberian pigs are traditionally destined to the production of dry-cured meat products such as hams, shoulders and loins. Due to the economic crisis, sales of such an expensive product as dry-cured ham are declining, and the way to preserve the percentage of sales is to devalue the price of dry-cured ham (RIBER, Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente). This fact allows an increase in the commercialization of similar products with lower prices, and also lower production costs, such as dry-cured shoulders. Nevertheless, scarce scientific and technical information regarding the quality of dry-cured shoulders are available (Reina, Sánchez del Pulgar, Tovar, López-Buesa, & García, 2013; Sarraga et al., 2007). Furthermore, it would be interesting to study Iberian dry-cured shoulders since, due to the shorter ripening period compared to dry-cured hams (14–18 months vs at least 24 months), it would be possible to draw conclusions about the effects of immunocastration on dry-cured products in less time and with lower costs.

The effect of immunocastration on the quality characteristics of dry-cured products has hardly been studied in male pigs (Font-i-Furnols et al., 2012). However, and as far as we know, there is no scientific literature where the characteristics of dry-cured meat products in immune-spayed females were evaluated. Therefore, the purpose of this study was to assess the effect of immune-spaying and spaying on quality traits of dry-cured loins and dry-cured shoulders from Iberian \times Duroc females slaughtered at the same age.

2. Materials and methods

2.1. Animals

A total of 192 Iberian \times Duroc female pigs (64 surgically spayed females, 64 immune-spayed females and 64 entire females) (Gómez-Fernández et al., 2013), 110 days old and weighing 44.94 ± 3.41 kg on

average, were used to test the effect of immunological castration with Improvac® in the center ITACYL (Hontalbilla, Spain). Animals were identified and classified into three treatment groups with the same average weight: immune-spayed females, surgically spayed females and entire females. The feed was the same for all females from the beginning to the end of the fattening period (Gómez-Fernández et al., 2013). Vaccination was performed twice as per the manufacturer's instructions, 4 weeks apart. Doses were injected at 60 kg (18 weeks of age) and 82.4 kg (22 weeks of age), while the surgical spaying was performed close to weaning. The experimental animals were slaughtered 14.5 weeks after the second Improvac doses (Gómez-Fernández et al., 2013).

2.2. Sampling and processing

The 192 Iberian \times Duroc female pigs were slaughtered at the abattoir of MAZAFRA (Zafra, Spain), by CO₂ stunning and exsanguination with a live weight of 160–170 kg at 8.2 months of age. The right side of the carcass of six animals were randomly selected from each treatment group (surgically spayed females ($N = 6$), immune-spayed females ($N = 6$) and entire females ($N = 6$)) and the fresh loins (*Longissimus dorsi*) and shoulders were taken at Argal S.A. industry (Fregenal de la Sierra, Spain) and their fresh weights were determined. The caudal halves of these fresh loins were used in the previous study about fresh meat quality characteristics (Gamero-Negrón et al., 2015). Processing of loins and shoulders was carried out at the commercial plant La Teresina (Guijuelo, Spain) and at Argal S.A. (Fregenal de la Sierra, Spain) respectively. Dry-cured loins were produced from the cranial half of the *Longissimus dorsi* muscle of the animals. The ripening period was 65 days for loins and 14 months for shoulders, under customary processing conditions for these products. Loins and shoulders were properly identified to monitor traceability. Analytical samples were selected in the cranial region of the loins, and sliced from the *Biceps brachii* muscle of the dry-cured shoulders using a commercial slicer.

2.3. Chemicals

The reagents used in the chemical composition and lipid oxidation analyses were supplied by Merck (Madrid, Spain), Panreac (Barcelona, Spain) and Sigma-Aldrich (Madrid, Spain). The standards of the fatty acid methyl esters calibration solution (listed in Tables 3 and 4) were supplied by Sigma-Aldrich (Madrid, Spain).

2.4. Chemical composition

Moisture, total chlorides and protein were determined following the official methods (AOAC, 2000). Intramuscular fat (IMF) content was analyzed following the procedure described by Folch, Lees, and Stanley (1957). The concentration of haem pigments was assayed according to Hornsey (1956). Two replicates of each sample were analyzed and the mean value was used in the data analyses.

2.5. Instrumental color measurement

Color measurements were made following the recommendations on color determination by the American Meat Science Association (Hunt et al., 1991). Color parameters (CIE $L^*a^*b^*$) were determined using a Minolta CR-300 colorimeter (Minolta Camera, Osaka, Japan) with illuminant D65, a 0° standard observer and a 2.5 cm port/viewing area. The colorimeter was calibrated before use with a white tile. For each slice 2 measurements were carried out in 2 different, randomly taken points.



2.6. Lipid oxidation

Lipid oxidation was assessed in duplicate by the 2-thiobarbituric acid (TBAR) method (Salih, Smith, Price, & Dawson, 1987) in 2 g of meat. TBAR-RS values were calculated from a standard curve of TEP (1,1,3,3-tetraethoxypropane) and expressed as mg malondialdehyde/kg meat. The absorbance measurements were performed by using a Hitachi U-2000 Spectrophotometer.

2.7. Determination of fatty acid profiles

The fatty acid methyl esters were obtained by transesterification with sodium methylate and sulfuric acid following the procedure described by Cava et al. (1997). The fatty acid methyl esters were analyzed using a Hewlett-Packard 6890A gas chromatograph, equipped with an on-column injector and a flame ionization detector (FID). Separation was carried out on a polyethylene glycol capillary column (Supelcowax-10, Supelco, Bellefonte, PA) (60 m length, 0.32 mm id, 0.25 µm film thickness). The gas chromatograph oven temperature program was as follows: initial temperature of 180 °C, 5 °C/min to 200 °C; 40 min at this temperature and thereafter 5 °C/min to 250 °C, and then kept for 21 min. Injector and detector temperatures were 250 °C. Carrier gas was helium at a flow rate of 0.7 ml/min. Individual fatty acid methyl ester peaks were identified by comparing their retention times with those of the standards analyzed under the same conditions.

2.8. Statistical analyses

The statistical analyses were performed by using the SPSS 19.0 package and consisted in a one-way ANOVA performed on the three treatment groups and, when the effect was significant, a post hoc Tukey test. The effect was considered significant at $p < 0.05$.

3. Results and discussion

3.1. Physicochemical parameters

The effect of the immune-spaying on fresh weight and physicochemical composition of dry-cured shoulders and dry-cured loins (*Longissimus dorsi*) from Iberian × Duroc females is shown in Tables 1 and 2. As displayed in Table 1, no significant differences among treatment groups were found in the fresh shoulder weight. Physicochemical composition of dry-cured shoulders did not show significant differences between studied groups. These data are in accordance with the absence of differences in the quality traits and composition of fresh meat from the same animals (Gamero-Negrón et al., 2015). Regarding intramuscular fat, no significant differences were found among treatment groups, which could be due to the heterogeneity of the dry-cured

Table 1
Effect of immune-spaying on fresh weight, chemical composition and color of dry-cured shoulders (mean values ± standard deviation).

	CF (N = 6)	IF (N = 6)	EF (N = 6)	Sig.
Fresh weight (kg)	8.05 ± 0.42	7.93 ± 0.52	8.12 ± 0.17	ns
Moisture (g/100 g)	44.57 ± 2.32	47.09 ± 3.38	48.91 ± 4.66	ns
Color L*	42.77 ± 2.23	42.32 ± 2.69	41.77 ± 3.97	ns
Color a*	26.87 ± 1.95	28.02 ± 1.99	25.65 ± 2.87	ns
Color b*	13.15 ± 1.36	13.37 ± 3.01	11.54 ± 3.02	ns
Intramuscular fat content (g/100 g) ¹	18.68 ± 3.13	19.17 ± 2.95	15.44 ± 2.92	ns
Protein content (g/100 g) ¹	59.78 ± 4.60	59.32 ± 4.19	62.61 ± 5.41	ns
Salt content (g/100 g) ¹	8.64 ± 0.73	8.47 ± 0.64	10.26 ± 1.94	ns
MDA (mg/kg)	0.33 ± 0.09	0.29 ± 0.08	0.23 ± 0.03	ns
Haem pigments (mg/g) ¹	844.54 ± 68.16	842.75 ± 265.66	792.81 ± 101.27	ns

CF: surgically spayed females, IF: immune-spayed females, EF: entire females. MDA: malondialdehyde. Sig.: significance level. * $p < 0.05$; ns, not significant.

¹ Expressed as percentage of dry matter.

Table 2

Effect of immune-spaying on fresh weight, chemical composition and color of dry-cured loins (mean values ± standard deviation).

	CF (N = 6)	IF (N = 6)	EF (N = 6)	Sig.
Fresh weight (kg)	2.79 ± 0.16 ^a	2.83 ± 0.22 ^a	3.17 ± 0.25 ^b	*
Moisture (g/100 g)	38.84 ± 3.29	37.96 ± 3.81	41.39 ± 2.99	ns
Color L*	42.18 ± 2.42	44.61 ± 2.67	43.26 ± 3.48	ns
Color a*	12.79 ± 1.81	13.29 ± 1.97	12.68 ± 1.57	ns
Color b*	6.66 ± 1.40	7.05 ± 0.98	5.95 ± 1.09	ns
Intramuscular fat content (g/100 g) ¹	12.64 ± 4.19 ^{ab}	14.77 ± 2.82 ^b	9.68 ± 2.90 ^a	*
Protein content (g/100 g) ¹	61.42 ± 6.11	62.54 ± 5.94	68.85 ± 8.56	ns
Salt content (g/100 g) ¹	3.14 ± 0.60	3.49 ± 0.43	3.54 ± 0.35	ns
MDA (mg/kg)	0.09 ± 0.03	0.10 ± 0.04	0.09 ± 0.05	ns
Haem pigments (mg/g) ¹	358.23 ± 43.84	348.21 ± 68.53	361.92 ± 68.65	ns

CF: surgically spayed females, IF: immune-spayed females, EF: entire females.

MDA: malondialdehyde. Sig.: significance level. * $p < 0.05$; ns: not significant. ^{a, b} Different letters in the same row indicate significant differences between batches ($p < 0.05$).

¹ Expressed as percentage of dry matter.

shoulders as products. Similarly, no significant differences in lipid oxidation between the studied groups were detected, so the quality of dry-cured shoulders was not affected by the spaying status. The chemical composition of dry-cured shoulders was similar to that reported by Reina et al. (2013), who studied dry-cured shoulders from commercial hybrid pigs (sows, Landrace × Large White; sire, Duroc). Nevertheless, due to the higher adipogenic character of Iberian pigs regarding commercial hybrid pigs (Morales, Pérez, Baucells, Mourot, & Gasa, 2002; Mourot & Kouba, 1998), the intramuscular fat (IMF) and protein contents in the current study were higher and lower, respectively, than those obtained by Reina et al. (2013). Furthermore, Iberian dry-cured shoulders showed results comparable to the data obtained by Sánchez del Pulgar, Carrapiso, Reina, Biasioli, and García (2013) in dry-cured hams from Iberian pigs.

On the other hand, significant differences were observed in fresh loin weight, where the entire females had the highest values compared to spayed and immune-spayed ones. The IMF content of dry-cured loins was significantly affected by immune-spaying (Table 2). Immune-spayed females presented higher values (9.21%) than entire females (5.69%), whereas spayed ones showed intermediate IMF content (7.79%). This could be due to the fact that immune-spayed animals had higher body weight compared to entire and spayed ones (Gómez-Fernández et al., 2013), which indicates a higher fat deposition in immune-spayed females. These results are in disagreement with those obtained for fresh loins from the same animals (Gamero-Negrón et al., 2015), where no significant differences were found. Besides, the analytical samples of fresh loins were selected in the central region of the *Longissimus dorsi* muscle (Gamero-Negrón et al., 2015), whereas in the current experiment the samples were taken from the cranial part of dry-cured loins, where higher fat deposition takes place (Ventanas, 2006). The higher IMF values found in the immune-spayed group is a positive aspect, since IMF plays a decisive role in the development of the sensory characteristics of dry-cured products (Ruiz-Carrascal, Ventanas, Cava, Andrés, & García, 2000; Ventanas, Ventanas, Ruiz, & Estévez, 2005). On the other side, with the exception of the IMF content, physicochemical parameters of dry-cured loins were unaffected by immune-spaying. Moreover, the overall physicochemical characteristics of dry-cured loins showed similar values to those reported by Ramírez and Cava (2007), who studied the effect of Iberian × Duroc genotype on dry-cured loin quality.

3.2. Fatty acid profile

The effect of immune-spaying on IMF fatty acid composition in dry-cured shoulders and loins from IB × D females is shown in Tables 3 and 4, respectively. As displayed in Table 3, the IMF fatty acid composition of dry-cured shoulders showed no significant differences



Table 3
Effect of immune-spaying on fatty acid composition (g/100 g fatty acids) of intramuscular fat in dry-cured shoulders (mean values \pm standard deviation).

	CF (N = 6)	IF (N = 6)	EF (N = 6)	Sig.
C 12	0.09 \pm 0.02 ^b	0.07 \pm 0.01 ^{ab}	0.06 \pm 0.01 ^a	**
C 14	1.24 \pm 0.10	1.23 \pm 0.09	1.12 \pm 0.10	ns
C 16	22.83 \pm 0.62	23.84 \pm 0.92	22.62 \pm 1.20	ns
C 16:1	3.24 \pm 0.20	3.23 \pm 0.47	3.10 \pm 0.36	ns
C 17	0.15 \pm 0.02	0.15 \pm 0.01	0.16 \pm 0.01	ns
C 17:1	0.19 \pm 0.03	0.18 \pm 0.02	0.19 \pm 0.02	ns
C 18	9.82 \pm 0.75	11.40 \pm 1.65	10.89 \pm 1.45	ns
C 18:1	51.66 \pm 1.11	50.66 \pm 1.66	51.29 \pm 2.19	ns
C 18:2	8.42 \pm 0.90 ^b	7.05 \pm 0.90 ^a	8.10 \pm 0.78 ^{ab}	*
C 18:3	0.55 \pm 0.07 ^b	0.43 \pm 0.07 ^a	0.47 \pm 0.04 ^{ab}	*
C 20:1	0.71 \pm 0.04 ^a	0.82 \pm 0.05 ^b	0.79 \pm 0.09 ^{ab}	*
C 20:2	0.30 \pm 0.02	0.30 \pm 0.05	0.33 \pm 0.04	ns
C 20:3	0.07 \pm 0.01	0.07 \pm 0.01	0.07 \pm 0.01	ns
C 20:4	0.61 \pm 0.08 ^{ab}	0.47 \pm 0.08 ^a	0.69 \pm 0.16 ^b	*
C 21	0.11 \pm 0.01	0.09 \pm 0.01	0.11 \pm 0.02	ns
SFA	34.25 \pm 1.17	36.79 \pm 2.48	34.97 \pm 2.42	ns
MUFA	55.81 \pm 1.15	54.88 \pm 2.07	55.37 \pm 2.49	ns
PUFA	9.95 \pm 1.06 ^b	8.33 \pm 1.06 ^a	9.66 \pm 0.97 ^{ab}	*

CF: surgically spayed females, IF: immune-spayed females, EF: entire females.
Sig.: significance level. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; ns: not significant. ^{a, b} Different letters in the same row indicate significant differences between batches ($p < 0.05$).

in the percentage of saturated fatty acids (SFA), in accordance with the data reported by Font-i-Furnols et al. (2012), who studied the effect of immunocastration on the fatty acid profile of subcutaneous fat from male Duroc pigs for dry-cured ham production. Additionally, no significant differences were found in the percentage of monounsaturated fatty acids (MUFA). However this is in disagreement with Font-i-Furnols et al. (2012), who found the lowest scores in immune-castrated males. Nevertheless, in discordance with Font-i-Furnols et al. (2012) significant differences were found in polyunsaturated fatty acids (PUFA), where the highest values were for spayed females, followed by entire and immune-spayed ones, respectively. This result was influenced by the percentage of linoleic acid (C 18:2 (n – 6)), which is the major polyunsaturated fatty acid in intramuscular fat. In the same direction, the highest values for both linoleic acid (C 18:2 (n – 6)) and linolenic acid (C 18:3) were observed in spayed, entire and immune-spayed females, respectively. This should be noted as high PUFA contents increase

Table 4
Effect of immune-spaying on fatty acid composition (g/100 g fatty acids) of intramuscular fat in dry-cured loins (mean values \pm standard deviation).

	CF (N = 6)	IF (N = 6)	EF (N = 6)	Sig.
C 12	0.01 \pm 0.01	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.01	ns
C 14	1.26 \pm 0.11 ^a	1.53 \pm 0.40 ^b	1.18 \pm 0.20 ^a	**
C 14:1	0.08 \pm 0.01 ^{ab}	0.09 \pm 0.02 ^b	0.07 \pm 0.02 ^a	*
C 15	0.05 \pm 0.03 ^{ab}	0.05 \pm 0.02 ^a	0.10 \pm 0.09 ^b	*
C 15:1	0.09 \pm 0.02	0.09 \pm 0.03	0.09 \pm 0.05	ns
C 16	26.73 \pm 1.61 ^{ab}	28.27 \pm 2.79 ^b	25.69 \pm 2.64 ^a	*
C 16:1	3.71 \pm 0.37	4.09 \pm 0.63	3.69 \pm 0.33	ns
C 17	0.15 \pm 0.02	0.14 \pm 0.02	0.14 \pm 0.02	ns
C 17:1	0.14 \pm 0.02	0.13 \pm 0.01	0.14 \pm 0.02	ns
C 18	11.04 \pm 1.00	11.14 \pm 1.50	10.60 \pm 0.47	ns
C 18:1	50.50 \pm 1.31 ^{ab}	48.72 \pm 3.56 ^a	51.35 \pm 2.44 ^b	*
C 18:2	4.75 \pm 0.57 ^a	4.40 \pm 0.75 ^a	5.42 \pm 0.64 ^b	**
C 18:3	0.43 \pm 0.10	0.44 \pm 0.13	0.45 \pm 0.12	ns
C 20	0.09 \pm 0.03	0.09 \pm 0.03	0.08 \pm 0.01	ns
C 20:1	0.53 \pm 0.09	0.44 \pm 0.09	0.45 \pm 0.08	ns
C 20:2	0.13 \pm 0.03	0.10 \pm 0.03	0.11 \pm 0.03	ns
C 20:4	0.32 \pm 0.14 ^{ab}	0.24 \pm 0.07 ^a	0.41 \pm 0.15 ^b	**
SFA	39.09 \pm 1.84 ^{ab}	41.24 \pm 4.04 ^b	37.81 \pm 2.89 ^a	*
MUFA	55.14 \pm 1.32	53.48 \pm 3.77	54.78 \pm 2.77	ns
PUFA	5.69 \pm 0.74 ^{ab}	5.19 \pm 0.92 ^a	6.40 \pm 0.83 ^b	**

CF: surgically spayed females, IF: immune-spayed females, EF: entire females.
Sig.: significance level. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; ns: not significant. ^{a, b} Different letters in the same row indicate significant differences between batches ($p < 0.05$).

the fat oxidation rate and therefore could affect the aroma, flavor and general quality of the products (Wood et al., 2003).

As displayed in Table 4, no significant differences were found in the total percentage of MUFA in the IMF of dry-cured loins among immune-spayed, spayed and entire females, which agrees with the results obtained for fresh loins from the same animals (Gamero-Negrón et al., 2015). However, the total percentage of SFA and PUFA showed significant differences among the treatment groups. Immune-spayed females presented the highest SFA and lowest PUFA values and entire females reflected the inverse, whereas spayed ones showed intermediate scores. These data are in discordance with those obtained for fresh loins from the same animals (Gamero-Negrón et al., 2015). This fact could be due to the higher fat deposition found in immune-spayed females positively affecting body weight (Gómez-Fernández et al., 2013) and IMF content of dry-cured loins (Table 2). The higher fat accumulation could involve a higher synthesis *de novo* of fatty acids, which mainly leads to the development of SFA. Therefore, the differences found among fresh and dry-cured loins could be due to the analytical samples of fresh loins which were selected from the central region of the *Longissimus dorsi* muscle, whereas in the current experiment the samples were taken of the cranial part of dry-cured loins, where a higher fat deposition takes place (Ventanas, 2006). In the same direction, the highest scores of myristic acid (C 14) and palmitic acid (C 16) were recorded for the immune-spayed group. However for pentadecanoic acid, higher values were indicated for entire females. Regarding MUFA, the highest percentages of myristoleic acid (C 14:1) were reported for the immune-spayed, whereas the highest values of oleic acid (C 18:1 (n – 9)) were found for the entire ones. On the other side, the individual percentage of PUFA such as linoleic acid (C 18:2 (n – 6)) and arachidonic acid (C 20:4) showed the highest scores for the entire females. Nevertheless, it should be taken into account that both the differences in the slaughter age and the time elapsed since booster immunization until slaughter could cause differences in the IMF and fatty acid content. The gender factor should be noted as well since the current trial was performed in females, whereas the available literature concerning IMF and fatty acid profile was only found in males.

These results are in agreement with the higher IMF content found in immune-spayed females, which implies an important transformation of the hydrocarbon energy from the diet into fatty acids through the synthesis *de novo* pathway. Table 5 shows the correlations between IMF content and fatty acids. As displayed in the table, those fatty acids mainly produced throughout the synthesis *de novo*, such as myristic, palmitic and stearic acids and the total SFA, were positively correlated

Table 5
Pearson correlations between dry-cured loin intramuscular fat and fatty acids.

Fatty acid	Pearson correlation	Sig.
C 12	0.010	ns
C 14	0.430	**
C 15	–0.572	***
C 16	0.371	*
C 17	0.156	ns
C 18	0.382	*
C 20	0.187	ns
C 14:1	0.049	ns
C 15:1	–0.002	ns
C 16:1	0.253	ns
C 17:1	0.039	ns
C 18:1	–0.343	*
C 20:1	0.131	ns
C 18:2	–0.705	***
C 18:3	–0.208	ns
C 20:2	–0.248	ns
C 20:4	–0.631	***
SFA	0.445	**
MUFA	–0.293	ns
PUFA	–0.689	***

Sig.: significance level. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; ns: not significant.



with the IMF content. However, pentadecanoic acid was negatively correlated with IMF, since odd carbon atom fatty acids are not produced by this pathway (Salati & Goodridge, 1996). In addition, unsaturated fatty acids such as oleic, linoleic and arachidonic acids and the total PUFA were negatively correlated with IMF content.

4. Conclusions

In this study the parameters of meat quality and the fatty acid composition as affected by immune-spaying were researched for the first time in Iberian × Duroc females. The obtained results indicate that immune-spaying has an inconsequential effect on the physicochemical composition of dry-cured shoulders. The intramuscular fat content of dry-cured loins, however, was significantly affected, with the immune-spayed group presenting the highest values. This fact could improve the sensory quality of Iberian dry-cured loins, since a higher value of intramuscular fat is considered an index of high quality by consumers for this sort of dry-cured products.

On the other hand, the PUFA content in dry-cured shoulders and loins showed lower scores in immune-spayed than in spayed females, which could prevent excessive fat oxidation responsible for rancidity and negatively valued by consumers in these dry-cured products. Contradicting this, no significant differences between treatment groups were found in the oxidation stability estimated through the MDA content.

These results are important regarding animal welfare, since in Europe there is a plan to voluntarily end surgical castration of pigs by 2018, thus avoiding surgery and anesthesia with potential delays due to infectious problems that affect production costs. Therefore, immune-spaying could be an alternative to surgical castration, while maintaining current product quality.

Acknowledgments

This research was partially financed by Zoetis (formerly Pfizer Animal Health) by a contract (ref. N-2525498) with SiPA (Servicio de Análisis e Innovación en Productos de Origen Animal) of the University of Extremadura. Rafael Gamero-Negrón was the beneficiary of a grant from the Junta de Extremadura (Regional Government Board of Extremadura), Spain, and the European Social Fund. Authors also thank the Centro de Prueba de Porcino del Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León ITACYL (Hontalbilla, Segovia, Spain).

References

- Antequera, T., García, C., López, C., Ventanas, J., Asensio, M. A., & Córdoba, J. J. (1994). Evolution of different physical-chemical parameters during ripening Iberian ham from Iberian (100%) and Iberian × Duroc pigs (50%). *Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 34, 178–190.
- AOAC (2000). *Official methods of analysis* (17th ed.). Gaithersburg, Maryland: Association of Official Analytical Chemists.
- Cava, R., Ruiz, J., López-Bote, C., Martín, L., García, C., Ventanas, J., et al. (1997). Influence of finishing diet on fatty acid profiles of intramuscular lipids, triglycerides and phospholipids in muscles of the Iberian pig. *Meat Science*, 45(2), 263–270.
- Claus, R., Rottner, S., & Rueckert, C. (2008). Individual return to Leydig cell function after GnRH-immunization of boars. *Vaccine*, 26, 4571–4578.
- Cronin, G. M., Dunshea, F. R., Butler, K. L., McCauley, I., Bamett, J. L., & Hemsworth, P. H. (2003). The effects of immuno-castration and surgical-castration on the behaviour and consequently growth of group-housed, male finisher pigs. *Applied Animal Behavior Science*, 81, 111–126.
- Dunshea, F. R., Colantoni, C., Howard, K., McCauley, I., Jackson, P., Long, K. A., et al. (2001). Vaccination of boars with a GnRH vaccine (Improvac) eliminates boar taint and increases growth performance. *Journal of Animal Science*, 79, 2524–2535.
- EFSA (2004). Welfare aspects of the castration of piglets. Scientific report of the scientific panel for animal health and welfare on request from the commission related to welfare aspects of the castration of piglets European food safety authority/AHAW/04-087. Available from http://www.efsa.eu.int/science/ahaw_opinions/512_it.html
- Einarsson, S. (2006). Vaccination against GnRH: Pros and cons. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 48(Suppl. 1), S10. <http://dx.doi.org/10.1186/1751-0147-48-S1-S10>.
- Einarsson, S., Andersson, K., Wallgren, M., Lundström, K., & Rodríguez-Martínez, H. (2009). Short- and long-term effects of immunization against gonadotropin-releasing hormone, using Improvac™, on sexual maturity, reproductive organs and sperm morphology in male pigs. *Theriogenology*, 71, 302–310.
- Fabrèga, E., Velarde, A., Cros, J., Gispert, M., Suárez, P., Tibau, J., et al. (2010). Effect of vaccination against gonadotropin-releasing hormone, using Improvac, on growth performance, body composition, behaviour and acute phase proteins. *Livestock Science*, 132, 53–59.
- Folch, J., Lees, M., & Stanley, G. H. S. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids of animal tissues. *The Journal of Biological Chemistry*, 226, 497–509.
- Font-i-Furnols, M., Gispert, M., Soler, J., Díaz, M., García-Regueiro, J. A., Díaz, I., et al. (2012). Effect of vaccination against gonadotropin-releasing factor on growth performance, carcass, meat and fat quality of male Duroc pigs for dry-cured ham production. *Meat Science*, 91, 148–154.
- Fredriksen, B., Font i Furnols, M., Lundström, K., Migdal, W., Prunier, A., Tuytens, F. A. M., et al. (2009). Practice on castration of piglets in Europe. *Animal*, 3, 1480–1487.
- Gamero-Negrón, R., Sánchez del Pulgar, J., Ventanas, J., & García, C. (2015). Immune-spaying as an alternative to surgical spaying in Iberian × Duroc females: Effect on carcass traits and meat quality characteristics. *Meat Science*, 99, 99–103.
- García, C., Berdagué, J. J., Antequera, T., López-Bote, C., Córdoba, J. J., & Ventanas, J. (1991). Volatile components of dry cured Iberian ham. *Food Chemistry*, 41, 23–32.
- Gispert, M., Oliver, M. A., Velarde, A., Suarez, P., Perez, J., & Font i Furnols, M. (2010). Carcass and meat quality characteristics of immunocastrated male, surgically castrated male, entire male and female pigs. *Meat Science*, 85, 664–670.
- Gómez-Fernández, J., Horcajada, S., Tomás, C., Gómez-Izquierdo, E., & Mercado, E. (2013). The effect of immunocastration and surgically castration on growth performance and carcass quality in fattening period of Iberian female pigs. *ITEA-Información Técnica Económica Agraria*, 109, 33–48.
- Hemández-García, F., Duarte, J. L., Pérez, M. A., Raboso, C., Rosario, A. L., & Izquierdo, M. (2013). Successful long-term pre-pubertal immunocastration of purebred Iberian gilts reared in extensive systems. *Acta Agriculturae Slovenica*(Supplement 4), 123–126.
- Homsey, H. C. (1956). The colour of cooked cured pork. 1. Estimation of the nitric oxide-haem pigments. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 7, 534–541.
- Hunt, M. C., Acton, J. C., Benedict, R. C., Calkins, C. R., Cornforth, D. P., Jeremiah, L. E., et al. (1991). AMSA guidelines for meat color evaluation. *Proceedings of the 44th annual reciprocal meat conference*, 9–12 July.
- McCauley, I., Watt, M., Suster, D., Kerton, D. J., Oliver, W. T., Harrell, R. J., et al. (2003). An immunocastration vaccine (Improvac®) and porcine somatotropin (Reporcin®) have synergistic effects upon growth performance in both boars and gilts. *Australian Journal of Agricultural Research*, 54, 11–20.
- Morales, J., Pérez, J. F., Baucells, M. D., Mourou, J., & Gasa, J. (2002). Comparative digestibility and lipogenic activity in Landrace and Iberian finishing pigs fed ad libitum corn- and corn-sorghum-acombased diets. *Livestock Production Science*, 77(2–3), 195–205.
- Mourou, J., & Kouba, M. (1998). Lipogenic enzyme activities in muscles of growing Large White and Meishan pigs. *Livestock Production Science*, 55, 127–133.
- Oliver, W. T., McCauley, I., Harrell, R. J., Suster, D., & Dunshea, F. R. (2003). A GnRH vaccine (Improvac®) and porcine somatotropin have synergistic and additive effects on growth performance in group-housed boars and gilts, respectively. *Journal of Animal Science*, 81, 1959–1966.
- Pauly, C., Spring, P., O'Doherty, J. V., Ampuero Kragten, S., & Bee, G. (2009). Growth performance, carcass characteristics and meat quality in group-penned surgically castrated, immunocastrated (Improvac®) and entire male and individually penned entire male pigs. *Animal*, 3, 1057–1066.
- Prunier, A., Bonneau, M., von Borell, E. H., Cinotti, S., Gunn, M., Fredriksen, B., et al. (2006). A review of the welfare consequences of surgical castration in piglets and the evaluation of non-surgical methods. *Animal Welfare*, 15, 277–289.
- Ramírez, R., & Cava, R. (2007). Carcass composition and meat quality of three different Iberian × Duroc genotype pigs. *Meat Science*, 75, 388–396.
- Real Decreto 1221/2009 (2009). *de 17 de julio, por el que se establecen normas básicas de ordenación de las explotaciones de ganado porcino extensivo y por el que se modifica el Real Decreto 1547/2004, de 25 de junio, por el que se establecen las normas de ordenación de las explotaciones cunícolas*. B.O.E.187. (pp. 66585–66597). 66585–66597.
- Reina, R., Sánchez del Pulgar, J., Tovar, J., López-Buesa, P., & García, C. (2013). Quality of dry-cured ham compared with quality of dry-cured shoulder. *Journal of Food Science*, 78, 1282–1289.
- RIBER, Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Registro informativo de organismos independientes de control del ibérico. Available online at: <http://www.magrama.gob.es/es/alimentacion/temas/calidad-agroalimentaria/calidad-comercial/mesa-del-iberico/riber-publico/>.
- Ruiz-Carrascal, J., Ventanas, J., Cava, R., Andrés, A. I., & García, C. (2000). Texture and appearance of dry cured ham as affected by fat content and fatty acid composition. *Food Research International*, 33, 91–95.
- Rydhmer, L., Lundström, K., & Andersson, K. (2010). Immunocastration reduces aggressive and sexual behaviour in male pigs. *Animal*, 4, 965–972.
- Salati, L. M., & Goodridge, A. G. (1996). Fatty acid synthesis in eukaryotes. In D. E. Vance, & J. Vance (Eds.), *Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes* (pp. 101–128). Amsterdam: Elsevier Science B.V.
- Salih, A. M., Smith, D. M., Price, J. F., & Dawson, L. E. (1987). Modified extraction 2-thiobarbituric acid method for measuring lipid oxidation in poultry. *Poultry Science*, 66, 1483–1489.
- Sánchez del Pulgar, J., Carrapiso, A. I., Reina, R., Biasioli, F., & García, C. (2013). Effect of IG-II genotype and pig rearing system on the final characteristics of dry-cured Iberian hams. *Meat Science*, 95, 586–592.
- Sarraga, C., Guardia, M. D., Díaz, I., Guerrero, L., Regueiro, J. A. G., & Arnau, J. (2007). Nutritional and sensory quality of porcine raw meat, cooked ham and dry-cured shoulder as affected by dietary enrichment with docosahexaenoic acid (DHA) and alpha-tocopheryl acetate. *Meat Science*, 76, 377–384.



- Šimek, J., Grolchová, M., Steinhäuserová, I., & Steinhauser, L. (2004). Carcass and meat quality of selected final hybrids of pigs in the Czech Republic. *Meat Science*, 66, 383–386.
- Thun, R., Gajewski, Z., & Janett, F. (2006). Castration in male pigs: Techniques and animal welfare issues. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 57(Suppl. 8), 189–194.
- Ventanas, S. (2006). *Influencia de la raza y de la alimentación sobre el contenido y características de la grasa intramuscular del lomo de cerdo Ibérico: efecto sobre parámetros determinantes de calidad*. PhD Thesis Universidad de Extremadura.
- Ventanas, S., Ventanas, J., Ruiz, J., & Estévez, M. (2005). Iberian pigs for the development of high-quality cured products. In Pandalai (Ed.), *Recent research in development in agricultural and food chemistry* (pp. 27–53). Kerala, India: Trivandrum, Research Sing post.
- Wood, J. D., Richardson, R. I., Nute, G. R., Fisher, A. V., Campo, M. M., Kasapidou, E., et al. (2003). Effects of fatty acids on meat quality: A review. *Meat Science*, 66, 21–32.
- Zamaratskaia, G., Chen, G. And, & Lundstrom, K. (2006). Effects of sex, weight, diet and hCG administration on levels of skatole and indole in the liver and hepatic activities of cytochromes P4502E1 and P4502A6 in pigs. *Meat Science*, 72, 331–338.
- Zamaratskaia, G., Rydhmer, L., Andersson, H. K., Chen, G., Lowagie, S., Andersson, K., et al. (2008). Long-term effect of vaccination against gonadotropin-releasing hormone, using ImprovacTM, on hormonal profile and behaviour of male pigs. *Animal Reproduction Science*, 108, 37–48.



9.3. ARTÍCULO 3: Immune-spaying as an alternative to surgical spaying in Iberian x Duroc females: Effect on the VOC profile of dry-cured shoulders and dry-cured loins as detected by PTR-ToF-MS

Meat Science 110 (2015) 169–173



Contents lists available at ScienceDirect

Meat Science

journal homepage: www.elsevier.com/locate/meatsci

Immune-spaying as an alternative to surgical spaying in Iberian × Duroc females: Effect on the VOC profile of dry-cured shoulders and dry-cured loins as detected by PTR-ToF-MS



Rafael Gamero-Negrón^a, José Sánchez del Pulgar^{b,*}, Luca Cappellin^b, Carmen García^a, Flavia Gasperi^b, Franco Biasioli^b

^a Food Technology, Facultad de Veterinaria, UEx, Campus Universitario s/n, 10003 Cádiz, Spain

^b Food Quality and Nutrition Department, IASMA Research and Innovation Centre, Fondazione Edmund Mach, Via E. Mach, 38010 San Michele all'Adige, TN, Italy

ARTICLE INFO

Article history:

Received 14 January 2015
Received in revised form 22 June 2015
Accepted 23 July 2015
Available online 27 July 2015

Keywords:

Immunocastration
Castration
PTR-ToF-MS
VOCs
Dry-cured loin
Dry-cured shoulders

ABSTRACT

Immunocastration in pigs has been proposed as a cruelty-free alternative to surgical castration. In this work the effect of immune-spaying of female pigs on the volatile compound profile of Iberian dry-cured products was evaluated. The head-space volatile compound of dry-cured shoulders and loins from surgically spayed, immune-spayed and entire Iberian × Duroc females was characterized by proton transfer reaction-time of flight-mass spectrometry. It was not possible to identify a significant effect of the castration modality on dry-cured shoulders, probably because of the heterogeneity of samples. Contrarily, Principal Component Analysis of dry-cured loins indicates a better homogeneity of samples and the separation of loins from surgically spayed and immune-spayed females. Some mass peaks tentatively identified as important flavor compounds in dry-cured products, 3-methylbutanal, 2,3-butanedione and 3-methylbutanoic acid, were significantly higher in the immune-spayed females. Therefore, immune-spaying seems to have a negligible effect on the volatile compound profile of dry-cured shoulders, whereas it could affect the VOC profile in the case of dry-cured loins.

© 2015 Published by Elsevier Ltd.

1. Introduction

Surgical castration without anesthesia is the most common practice to control boar taint and aggressive behavior in males (Fredriksen et al., 2009) as well as sexual behavior, both in males and females, throughout the rearing and pre-slaughter periods. Iberian pigs are sacrificed at heavy weights (> 150 kg), which is a peculiarity of the production system and allows time for the animals to reach sexual maturity. Moreover, some Iberian pigs are raised under free-range conditions, which can lead to unwanted pregnancies by wild boars (Gómez-Fernández, Horcajada, Tomás, Gómez-Izquierdo, & Mercado, 2013). For this reason, surgical spaying is allowed in Spain, only for pigs reared outdoors, and with prolonged analgesia and anesthesia (Real Decreto 1221/2009, 1221/2009, 1221/2009, 2009). In Europe there is a plan for the voluntary end of pig surgical castration by 2018 (Federation of Veterinarians of Europe, 2009; PIGCAS, 2009). In this direction, a vaccine against gonadotrophin releasing factor (Improvac®, Zoetis) approved for use in more than 60 countries including the EU, has been proposed as a more welfare friendly alternative to surgical castration (Thun, Gajewski, & Janett, 2006). Research has shown that immunocastrated pigs show less aggressive and sexual behaviors (Cronin

et al., 2003; Fabrèga et al., 2010) and have fewer skin lesions compared to entire males (Rydhmer, Lundstrom, & Andersson, 2010). Immune-spaying has a positive impact on animal welfare and production characteristics such as average daily gain, feed intake and feed conversion ratio when compared with surgically spayed females (Gómez-Fernández et al., 2013; McCauley et al., 2003; Oliver, McCauley, Harrell, Suster, & Dunshea, 2003), allowing to maintain or even improve the physicochemical characteristics of fresh meat and dry-cured products (Gamero-Negrón, Sánchez del Pulgar, & García, 2015b; Gamero-Negrón, Sánchez del Pulgar, Ventanas, & García, 2015a).

Iberian pigs are usually used for the production of dry-cured meat products such as hams, shoulders and loins. These are valuable traditional foodstuff with peculiar quality traits which are influenced mainly by the characteristics of the raw meat (geographical origin, pigs' breed, feeding regime and rearing system) and by processing (salting, curing and ripening) (García et al., 1991). Iberian dry-cured loins are manufactured from the *Longissimus dorsi* muscle of pigs and are subjected to a curing process for at least 60 days, whereas the ripening period of dry-cured shoulders is about 14–18 months. Throughout this long ripening period, the meat becomes progressively and partially dried and develops its characteristic aroma and flavor, mainly due to changes in proteins and lipids (Hernández, Navarro, & Toldrá, 1999; Ventanas, Estévez, Tejada, & Ruiz, 2006). Most volatile organic compounds (VOCs) develop during the curing process, resulting from chemical

* Corresponding author.

E-mail addresses: jose.sanchez@fmach.it, jsapuri@hotmail.com (J. Sánchez del Pulgar).



and biochemical lipid oxidation and further interaction with proteins, peptides and free amino acids. Other VOCs are formed in Strecker reactions of free amino acids and Maillard reactions with products of the lipid oxidation (Toldra, 1998). Therefore, castration could affect the final VOC profile of dry-cured products because it increases fat deposits, thus influencing the lean/fat ratio, which is directly linked to the release of volatile compounds (Ventanas, Estévez, Andrés, & Ruiz, 2008).

Proton Transfer Reaction Time-of-Flight Mass Spectrometry (PTR-ToF-MS) is a rapid, non-invasive and high-sensitivity technique employed for the rapid detection of VOCs released from several food matrices. It is based on the reaction of protonated water with molecules with a proton affinity higher than that of water and the successive detection by a high-resolution time-of-flight mass analyzer (Jordan et al., 2009). The high mass resolution of PTR-ToF-MS allows the estimation of the sum formula of the detected ions and the tentative identification of the volatile compound/s detected at each mass peak. This technique has some advantages when compared with other techniques with better identification capability (gas chromatography–mass spectrometry), in terms of lower analysis time (a few seconds), higher sensitivity and direct injection of the headspace without extraction or pre-concentration steps, allowing to analyze more samples in less time and to reduce artifacts related to sample preparation.

Sánchez del Pulgar et al. (2011) showed the first application of PTR-ToF-MS for dry-cured ham analysis, allowing for a complete discrimination of ham samples produced according to different protected denominations of origin (PDO). After that, this technique was used for the discrimination of dry-cured Iberian hams from pigs fattened with different diets (Sánchez del Pulgar et al., 2013b): an almost complete discrimination was achieved providing also information about the possible compounds and mechanisms underlying the differences identified. In a follow up study, PTR-ToF-MS was used to evaluate the effect of the insulin-like growth factor-II genotype on the final characteristics of Iberian dry-cured ham (Sánchez del Pulgar, Carrapiso, Reina, Biasioli, & García, 2013a). Further analytical works were devoted to study the effect of the genotype for the genetic markers stearoyl-CoA desaturase (SCD) and sterol regulatory binding factor 1 (SREBF1), involved in the lipid metabolism (Sánchez del Pulgar et al., 2014). These results indicate that PTR-ToF-MS can be efficiently used as a rapid technique and non-invasive fingerprinting method, which provides valuable analytical information.

To the best of our knowledge, there is a lack of scientific literature on the effect of surgical and/or immunocastration on the final quality of dry-cured products. Therefore, the purpose of this study was to assess the effect of immune-spaying on the VOC profile of dry-cured loins and dry-cured shoulders from Iberian × Duroc females slaughtered at the same age, while considering the implementation of immune-spaying as a cruelty-free alternative to surgical spaying. A second purpose of this work was also to test the discrimination and analytical capability of PTR-ToF-MS in these sorts of studies.

2. Materials and methods

2.1. Animals

A total of 192 Iberian × Duroc female pigs (64 surgically spayed females, 64 immune-spayed females and 64 entire females) (Gómez-Fernández et al., 2013), 110 days old, were used to test the effect of immunological castration with Improvac® in the center ITACYL (Hontalbilla, Spain). Animals were identified and classified into three treatment groups with the same average weight (44.94 ± 3.41 kg): immune-spayed females, surgically spayed females and entire females. The feed was the same for all females from the beginning to the end of the fattening period (Gómez-Fernández et al., 2013). Vaccination was performed twice as per the manufacturer's instructions, 4 weeks apart. Doses were injected at 60 kg (18 weeks of age) and 82.4 kg

(22 weeks of age), while the surgical spaying was performed close to weaning. The experimental animals were slaughtered 14.5 weeks after the second Improvac® doses (Gómez-Fernández et al., 2013).

2.2. Sampling and processing

The 192 Iberian × Duroc female pigs were slaughtered at the abattoir of MAZAFRA (Zafra, Spain), by CO₂ stunning and exsanguination with a live weight of 165.9 ± 14.5 kg at 8.2 months of age. The right side of the carcass of six animals were randomly selected from each treatment group (surgically spayed females ($N = 6$), immune-spayed females ($N = 6$) and entire females ($N = 6$)) and the fresh loins (*Longissimus dorsi*) and shoulders were taken at Argal S.A. industry (Fregenal de la Sierra, Spain). The caudal halves of these fresh loins were used in a previous study concerning fresh meat quality characteristics (Gamero-Negrón, Sánchez del Pulgar, Ventanas, & García, 2015). Processing of loins and shoulders was carried out at the commercial plant La Teresina (Guijuelo, Spain) and at Argal S.A. (Fregenal de la Sierra, Spain) respectively. Dry-cured loins were produced from the cranial half of the *Longissimus dorsi* muscle of the animals. Loins were seasoned by rubbing in a mixture of salt, nitrite, olive oil and spices such as Spanish paprika (*Capsicum annum*, L.), oregano (*Origanum vulgare* L.) and garlic (*Allium sativum*, L.). Loins were kept at 2–4 °C for 4 days to allow the seasoning mixture to penetrate. Then, the loins were stuffed into collagen casings and held at 3–5 °C at a relative humidity of 75–80% for at least 25 days. Finally, the loins were ripened at 10–15 °C and 65–70% relative humidity until completing a minimum of 60 days. The dry-cured shoulders were processed according to the following phases:

- Salting** The shoulders were placed fat side down, entirely surrounded by salt and arranged in single layers without touching each other during 1 day per kilogram of weight at 2–4 °C and 90–95% relative humidity.
- Postsalting** The shoulders were brushed to get rid of the salt left on their surfaces. Then, the shoulders were taken to a chamber for 45–90 days at 3–6 °C and a relative humidity of 80–90%.
- Ripening** The temperature was then increased from 10 °C to 30 °C and the relative humidity was decreased from 85% to 70%. These conditions were maintained for at least 6 months.
- Maturation** Eventually, the dry-cured shoulders were stored in ripening rooms, at a temperature of around 14–18 °C and a relative humidity of around 60–70% until completing a period of 14 months.

Loins and shoulders were properly identified to monitor traceability. Analytical samples were selected in the cranial region of the loins, and sliced from the *Biceps brachii* muscle of the dry-cured shoulders using a commercial slicer. Dry-cured loin samples were individually vacuum-packaged, while dry-cured shoulders were sliced (1.5 mm) and vacuum-packed in trays of approximately 100 g per sample. Samples were kept refrigerated (0–4 °C) until the analysis.

2.3. Sample preparation for PTR-ToF-MS

Samples were prepared following the procedure described by Sánchez del Pulgar et al. (2011) with slight modifications. After removing the subcutaneous fat, a 1 cm³ meat cube (1.2 g approx.) was cut from 3 slices from the *Biceps brachii* muscle of every shoulder sample. This procedure was repeated three times from three different trays of each dry-cured shoulder. In the case of the dry-cured loin, a 1 cm slice was removed from the piece and three meat cubes (3 replicates) of 1 cm³ and 1.2 g approx. were prepared from the central region. Each individual sample was placed in 20 ml glass vials (Gerstel, Germany) screw-capped with silicon/PTFE septa (Gerstel, Germany).

2.4. Proton transfer reaction-time of flight-mass spectrometry (PTR-ToF-MS)

PTR-ToF-MS measurements were carried out using an autosampler (MPS MultiPurposeSample, Gerstel, Germany). Before the analysis a 200 sccm (standard cubic centimeters per minute) flux of purified air produced by a Gas Calibration Unit (GCU, Ionimed Analytik, Austria) was applied to the vials for 1 min. These were then equilibrated at 37 °C for 30 min°. The headspace of the samples was then analyzed by direct injection in a PTR-ToF-MS 8000 (Ionicon Analytik GmbH, Innsbruck, Austria) in its standard configuration (V mode) via a heated (110 °C) PEEK inlet for 30 s, taking 30 average spectra (Fabris et al., 2010). The PTR-ToF-MS flow rate was 40 sccm, and the headspace extracted during the analysis was continuously replaced with clean air provided by the GCU.

2.5. Spectra analysis

Internal calibration of ToF spectra was performed off-line (Cappellin et al., 2011a) after dead time correction (Cappellin et al., 2011). Baseline removal, peak detection and area extraction were performed according to the procedure described by Cappellin, Biasioli, Granitto, et al. (2011a). Throughout this paper VOC volume mixing ratios are expressed in ppbv (parts per billion by volume) and were calculated from peak areas according to the formula described by Lindinger, Hansel, and Jordan (1998). A constant reaction rate coefficient of $2 \times 10^{-9} \text{ cm}^3/\text{s}$ was employed in the calculations. This introduces a systematic error of up to typically 30% that can be accounted for if the actual rate coefficient is known (Cappellin et al., 2012).

2.6. Statistical analysis

Principal component analysis (PCA) was applied on the average spectra of the three replicates of each sample. One-way ANOVA and post hoc Tukey test were carried out in order to find the masses of significant difference between the treatment groups for each product. Due to the large number of studied variables, the significance level was set at $p < 0.01$. Both analyses were performed using SPSS version 19.0 (SPSS Inc., Chicago, IL).

3. Results

3.1. PTR-ToF-MS headspace analysis of dry-cured shoulders

The rapid analysis (30 s) of the headspace of dry-cured shoulders from Iberian \times Duroc females with PTR-ToF-MS resulted in more than 400 mass peaks. From all these peaks, only those with an average concentration of at least one ppbv (parts per billion by volume) were considered. The mass peaks corresponding to the primary ions and their isotopologues were also removed. With the new data matrix (125 mass peaks), principal component analysis (PCA) was performed as an exploratory and non-supervised data analysis using the average spectra of the three replicates of each sample. The principal components (PC) 1 and 2 of the dry-cured shoulders matrix PCA explain 60% of the total variance, and the plot (Fig. 1) shows a separated distribution of the dry-cured shoulders from surgically spayed females regarding immune-spayed ones, whereas the entire females showed more heterogeneity as group. ANOVA showed no significant differences among the studied groups at the chosen confidence value ($p < 0.01$).

3.2. PTR-ToF-MS headspace analysis of dry-cured loins (Longissimus dorsi)

The rapid analysis (30 s) of the headspace of dry-cured loins from Iberian \times Duroc females by PTR-ToF-MS resulted in more than 350 mass peaks. Also in this case mass peaks with an average concentration lower than one ppbv and those corresponding to the primary ions and their isotopologues were removed. The new data matrix accounted for

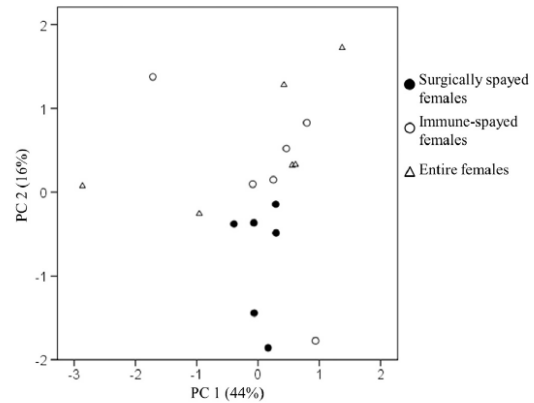


Fig. 1. Score plot obtained by the PCA analysis (PC1 vs PC2) of the PTR-ToF-MS fingerprint of the headspace of dry-cured shoulders from surgically spayed, immune-spayed and entire female pigs.

114 mass peaks. A PCA was performed on the dry-cured loin data using the average spectra of the three replicates of each sample. The results of the PCA are shown in Fig. 2. As displayed in the figure, the PC 1 and 2 of the dry-cured loin matrix PCA explain 52% of the total variance. The PC1 (36%) indicates a possible separation of dry-cured loins from surgical spayed animals regarding those from immune-spayed and entire ones, the latter showing a larger variability. Confirming this, the ANOVA and post hoc Tukey test showed some mass peaks significantly different between surgically spayed and immune-spayed females, with entire females presenting intermediate values (Table 1). The mass peaks tentatively identified as short chain alcohols were higher in the immune-spayed females in comparison with surgically spayed and entire ones, except methanol where the highest values were for the surgically spayed group. Analogously, the mass peaks tentatively identified as short chain aldehydes showed higher values in the immune-spayed females compared to surgically spayed ones, where the intermediate scores were for the entire group. However, in the case of heptanal, long chain aldehyde, the highest values were found in the surgically spayed females (Table 1). Following the same trend as short chain aldehydes, the mass peaks tentatively identified that acids and esters

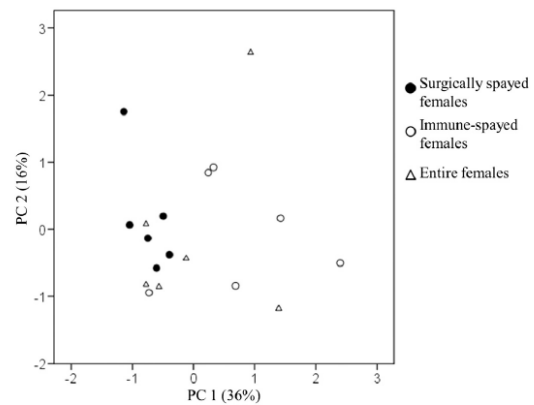


Fig. 2. Score plot obtained by the PCA analysis (PC1 vs PC2) of the PTR-ToF-MS fingerprint of the headspace of dry-cured loins from surgically spayed, immune-spayed and entire female pigs.



Table 1
Mass peaks with concentration (ppbv, mean \pm SEM) significantly different between dry-cured loins from different treatment groups ($p < 0.01$) and tentative identification according to the predicted sum formula.

Measured mass	Theoretical mass	Sum formula	Tentative identification ^a	Surgically-spayed females	Immune-spayed females	Entire females	Sig.
27.025	27.0229	C ₂ H ₅ ⁺	Alkyl fragment ^b	3.1 \pm 0.1 ^a	7.2 \pm 0.7 ^c	5.0 \pm 0.5 ^b	***
29.040	29.0386	C ₂ H ₅ ⁺	Ethanol fragment	364 \pm 19 ^a	1228 \pm 186 ^b	724 \pm 97 ^a	***
34.038	34.0368	¹³ C ₃ H ₇ O ⁺	Methanol	44 \pm 2 ^b	30 \pm 2 ^a	33 \pm 2 ^a	***
43.018	43.0178	C ₃ H ₇ O ⁺	Acetic acid fragment	404 \pm 27 ^a	683 \pm 54 ^b	478 \pm 31 ^a	***
46.037	46.0368	C ¹³ H ₅ O ⁺	Acetaldehyde	71 \pm 3 ^a	137 \pm 12 ^b	109 \pm 8 ^b	***
48.053	48.0525	C ¹³ H ₇ O ⁺	Ethanol	122 \pm 6 ^a	364 \pm 48 ^b	227 \pm 27 ^a	***
57.034	57.0335	C ₃ H ₇ O ⁺	Propanoic acid fragment	5.0 \pm 0.1 ^a	8.3 \pm 0.6 ^b	6.9 \pm 0.7 ^b	**
61.062	61.0648	C ₃ H ₇ O ⁺	Propanol	5.1 \pm 0.2 ^a	7.9 \pm 0.4 ^b	6.2 \pm 0.5 ^a	***
63.045	63.0441	C ₂ H ₄ O · H ₃ O ⁺	Cluster acetaldehyde	6.3 \pm 0.3 ^a	14.4 \pm 1.4 ^c	10.9 \pm 0.9 ^b	***
67.057	67.0542	C ₅ H ₇ ⁺	2-Pentenal fragment	1.9 \pm 0.05 ^a	3.3 \pm 0.3 ^b	2.7 \pm 0.2 ^b	***
69.070	69.0699	C ₅ H ₉ ⁺	3-Methylbutanal fragment + Pentanal fragment	24 \pm 1 ^a	36 \pm 4 ^b	32 \pm 2 ^{ab}	*
71.050	71.0491	C ₄ H ₇ O ⁺	Butanoic acid fragment + 2-methylpropanoic acid fragment	17 \pm 3 ^a	61 \pm 15 ^b	17 \pm 5 ^a	*
75.081	75.0804	C ₄ H ₉ O ⁺	Butanol	3.3 \pm 0.2 ^a	39 \pm 12 ^b	14 \pm 3 ^a	*
82.068	82.0651	C ₅ H ₉ N ⁺	1-Methylpyrrol	2.0 \pm 0.1 ^b	2.2 \pm 0.2 ^b	1.4 \pm 0.1 ^a	*
85.067	85.0648	C ₅ H ₉ O ⁺	3-Methylbutanoic acid fragment	1.0 \pm 0.1 ^a	1.8 \pm 0.2 ^b	1.2 \pm 0.1 ^a	**
87.046	87.0441	C ₄ H ₇ O ₂ ⁺	2,3-Butanedione	6.3 \pm 0.4 ^a	10.7 \pm 1.6 ^b	6.7 \pm 0.5 ^a	*
89.063	89.0597	C ₄ H ₉ O ₂ ⁺	Butanoic acid + 2-methylpropanoic acid	27 \pm 4 ^a	120 \pm 21 ^b	48 \pm 10 ^a	***
91.079	91.0754	C ₄ H ₁₁ O ₂ ⁺	2,3-Butanediol	0.65 \pm 0.09 ^a	5.9 \pm 0.7 ^c	2.8 \pm 0.7 ^b	***
115.115	115.1117	C ₇ H ₁₅ O ⁺	Heptanal + 2-heptanone	6.9 \pm 0.9 ^b	2.5 \pm 0.3 ^a	3.2 \pm 0.3 ^a	***
117.091	117.0910	C ₆ H ₁₃ O ₂ ⁺	Hexanoic acid + butanoic acid, ethyl ester	3.4 \pm 0.2 ^a	8.0 \pm 1.0 ^b	4.9 \pm 0.7 ^a	**

^{a, b, c} Different letters in the same row indicate significant differences between treatment groups.

Sig.: Significance level.

* $p < 0.01$.

** $p < 0.001$.

*** $p < 0.0001$.

^a Reported in dry-cured loin by Muriel, Antequera, Petró, Andrés, and Ruiz (2004), Soto et al. (2008) and Ventanas et al. (2008).

^b Molecule fragmentation according to Aprea, Biasioli, Mark, and Gasperi (2007).

presented the highest scores in samples from immune-spayed females. The mass peak detected at $m/z = 82.068$ and tentatively identified 1-methylpyrrol to be higher in both surgically spayed and immune-spayed females than in the entire ones (Table 1).

4. Discussion

The PCA of dry-cured shoulders indicated a large heterogeneity of the samples which is not related to the different spaying modalities: in fact, PC 1, which explains 44% of the total variance, did not allow to separate the experimental groups and only PC 2 (16%) indicates a possible separation between surgically spayed and immune-spayed females. Accordingly, ANOVA of the dry-cured shoulders did not show significant differences among the studied groups. This may be due to the wide internal variability of the dry-cured shoulder samples, which is comparable to the variability related to the effects of spaying. These results are in agreement with the absence of significant differences on physicochemical composition previously reported in these samples (Gamero-Negrón, Sánchez del Pulgar, & García, 2015b). Dry-cured loins, on the contrary, showed a higher homogeneity, which allowed the effects of spaying to be observed: in fact, in this case, PC 1 (36%) indicates a clear separation between surgically spayed and immune-spayed groups. In the same direction, ANOVA of the dry-cured loins showed some mass peaks significantly different between surgically spayed and immune-spayed females, with entire females presenting intermediate values (Table 1). Also, in this case the data are in agreement with the differences found in the physicochemical composition of the same dry-cured loins (Gamero-Negrón, Sánchez del Pulgar, & García, 2015b).

As a general rule, volatile organic compounds (VOCs) found in different concentrations among treatment groups were higher in dry-cured loins from immune-spayed females. Short chain aldehydes, acids and esters arise mainly from the microorganism metabolism (Kandler, 1983; Ruiz, García, Muriel, Andrés, & Ventanas, 2002; Sunesen, Dorigoni, Zanardi, & Stahnke, 2001), and also are important flavor compounds in dry-cured meat products (Carrapiso, Jurado, Timón, & García, 2002; Ruiz et al., 2002; Stahnke, 1994), which showed higher values in

the dry-cured loins from immune-spayed females. On the other hand, 3-methylbutanal and 2-methylbutanal come from Strecker reactions of amino acids leucine and isoleucine respectively (Barbieri et al., 1992; Ruiz et al., 2002), and from the microorganism metabolism (Hinrichsen & Pedersen, 1995; Ruiz et al., 2002). These compounds were identified as important VOCs in Iberian dry-cured loins (Muriel et al., 2004; Soto et al., 2008; Ventanas et al., 2008) and they were higher in the immune-spayed group. Similarly, 3-methylbutanoic acid and 2-methylbutanoic acid scored higher in the dry-cured loins from immune-spayed females. These compounds arise from the microbial metabolism of amino acids leucine and isoleucine respectively (Stahnke, 1995), and have been found in the VOC profile of Iberian dry-cured loin (Muriel et al., 2004; Ventanas et al., 2008). In the same direction, 2,3-butanedione showed higher values in the immune-spayed group. Also, this compound comes from Maillard reactions, lipid oxidation and microbial metabolism (Ruiz et al., 2002), and has been identified in the VOC profile of Iberian dry-cured loin (Ventanas et al., 2008). On the other hand, 1-methylpyrrol was higher in both surgically spayed and immune-spayed females in comparison with the entire ones. This compound has been found in Iberian dry-cured loin (Muriel et al., 2004; Soto et al., 2008), and seems to arise from the Spanish paprika (Mateo, Aguirrezábal, Domínguez, & Zumalacárregui, 1997; Vidal Aragón, Lozano, & Montero de Espinosa, 2005), which is one of the spices used for the dry-curing of Iberian loins. The higher concentration of this compound in surgically spayed and immune-spayed females could be due to the higher intramuscular fat content found in these treatment groups (Gamero-Negrón, Sánchez del Pulgar, & García, 2015b), which would allow better diffusion of the internal part of the dry-cured loins. The obtained results suggest a higher formation of VOCs throughout Maillard and Strecker type reactions and microbial metabolism in dry-cured loins from immune-spayed females. Some of these VOCs have been described as major odorants in dry-cured Iberian ham (Carrapiso et al., 2002; Sánchez del Pulgar, García, Reina, & Carrapiso, 2013) and fermented sausages (Stahnke, 1994). Therefore, the higher concentration of these compounds could be interesting from the sensory quality point of view.



5. Conclusions

In this work, the effect of surgical- and immune-spaying of female pigs on the volatile compound profile of Iberian dry-cured products has been evaluated for the first time; additionally, the effects on these spayed animals have been compared with those of entire ones. Dry-cured shoulders and dry-cured loins have been considered and measured by PTR-ToF-MS.

No significant effects have been identified in the case of dry-cured shoulders, probably due to the higher variability observed in the volatile compound emission. Contrarily, in the case of dry-cured loins, it is possible to separate the products obtained with immune-spayed females from the ones obtained with surgically spayed females. Immune-spaying seems to favor the production of compounds with a key role in the final flavor development of dry-cured products. The current work suggests that immune-spaying could be a valuable, cruelty-free alternative to surgical spaying. Additional sensory studies are needed to evaluate if this effect is perceived in the case of dry-cured loins.

PTR-ToF-MS is a useful technique, with good discriminant capability, for volatile organic compound analysis in dry-cured meat products, providing valuable analytical information.

Acknowledgments

This research was partially financed by Zoetis by a contract with SiPA (Servicio de Análisis e Innovación en Productos de origen Animal) of the University of Extremadura. Rafael Gamero-Negrón was beneficiary of a grant from the Junta de Extremadura (Regional Government Board of Extremadura), Spain and the European Social Fund. José Sánchez del Pulgar was beneficiary of a postdoctoral grant from the Fundación Alfonso Martín Escudero. Authors also thank the Centro de Prueba de Porcino del Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León ITACYL (Hontalbilla, Segovia, Spain).

References

- Aprea, E., Biasioli, F., Mark, T.D., & Gasperi, F. (2007). PTR-MS study of esters in water and ethanol solutions: Fragmentation patterns and partition coefficients. *International Journal of Mass Spectrometry*, *262*, 114–121.
- Barbieri, G., Bolzoni, L., Parolari, G., Virgili, R., Buttini, R., Careni, M., et al. (1992). Flavor compounds of dry cured ham. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *40*, 2389–2394.
- Cappellin, L., Biasioli, F., Granitto, P., Schuhfried, E., Soukoulis, C., Costa, F., et al. (2011a). On data analysis in PTR-TOF-MS: From raw spectra to data mining. *Sensors and Actuators B: Chemical*, *155*, 183–190.
- Cappellin, L., Biasioli, F., Schuhfried, E., Soukoulis, C., Märk, T.D., & Gasperi, F. (2011b). Extending the dynamic range of proton transfer reaction time-of-flight mass spectrometers by a novel dead time correction. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, *25*, 179–183.
- Cappellin, L., Karl, T., Probst, M., Ismailova, O., Winkler, P.M., Soukoulis, C., et al. (2012). On quantitative determination of volatile organic compound concentrations using proton transfer reaction time-of-flight mass spectrometry. *Environmental Science and Technology*, *46*, 2283–2290.
- Carrapiso, A.I., Jurado, A., Timón, M.L., & García, C. (2002). Odor-active compounds of Iberian hams with different aroma characteristics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*, 6453–6458.
- Cronin, G.M., Dunshea, F.R., Butler, K.L., McCauley, I., Barnett, J.L., & Hemsworth, P.H. (2003). The effects of immuno-castration and surgical-castration on the behaviour and consequently growth of group-housed, male finisher pigs. *Applied Animal Behaviour Science*, *81*, 111–126.
- Fabrèga, E., Velarde, A., Cros, J., Gisbert, M., Suárez, P., Tibau, J., et al. (2010). Effect of vaccination against gonadotropin-releasing hormone, using Improvac, on growth performance, body composition, behaviour and acute phase proteins. *Livestock Science*, *132*, 53–59.
- Fabris, A., Biasioli, F., Granitto, P.M., Aprea, E., Cappellin, L., Schuhfried, E., et al. (2010). PTR-TOF-MS and data-mining methods for rapid characterization of agro-industrial samples: influence of milk storage conditions on the volatile compounds profile of Trentingrana cheese. *Journal of Mass Spectrometry*, *45*, 1065–1074.
- Federation of Veterinarians of Europe (2009). *Pig Castration, FVE Position Paper*.
- Fredriksen, B., Font iFumols, M., Lundström, K., Migdal, W., Prunier, A., Tuytens, F.A.M., et al. (2009). Practice on castration of piglets in Europe. *Animal*, *3*, 1480–1487.
- Gamero-Negrón, R., Sánchez del Pulgar, J., & García, C. (2015b). Immune-spaying as an alternative to surgical spaying in Iberian × Duroc females: Effect on quality characteristics and fatty acid profile in dry-cured shoulders and loins. *Meat Science*, *104*, 52–57.
- Gamero-Negrón, R., Sánchez del Pulgar, J., Ventanas, J., & García, C. (2015a). Immunespaying as an alternative to surgical spaying in Iberian × Duroc females: Effect on carcass traits and meat quality characteristics. *Meat Science*, *99*, 99–103.
- García, C., Berdagué, J.J., Antequera, T., López-Bote, C., Córdoba, J.C., & Ventanas, J. (1991). Volatile components of dry-cured ham. *Food Chemistry*, *41*, 23–32.
- Gómez-Fernández, J., Horcajada, S., Tomás, C., Gómez-Izquierdo, E., & Mercado, E. (2013). The effect of immunocastration and surgically castration on growth performance and carcass quality in fattening period of Iberian female pigs. *ITEA—Información Técnica Económica Agraria*, *109*, (pp. 33–48), 33–48.
- Hernández, P., Navarro, J.L., & Toldrá, F. (1999). Lipolytic and oxidative changes in two Spanish pork loin products: dry-cured loin and pickled-cured loin. *Meat Science*, *51*, 123–128.
- Hinrichsen, L.L., & Pedersen, S.B. (1995). Relationship among flavor, volatile compounds, chemical changes and microflora in Italian-type dry-cured ham during processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *43*, 2932–2940.
- Jordan, A., Haidacher, S., Hanel, G., Hartungen, E., Herbig, J., Märk, L., et al. (2009). An online ultra-high sensitivity proton-transfer-reaction mass-spectrometer combined with switchable reagent ion capability (PTR + SRI – MS). *International Journal of Mass Spectrometry*, *286*, 32–38.
- Kandler, O. (1983). Carbohydrate metabolism in lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, *49*, 209–224.
- Lindinger, W., Hansel, A., & Jordan, A. (1998). On-line monitoring of volatile organic compounds at pptv levels. *Chemical Society Reviews*, *27*, 347–354.
- Mateo, J., Aguirrezábal, M., Domínguez, C., & Zumalacárregui, J.M. (1997). Volatile compounds in Spanish paprika. *Journal of Food Composition and Analysis*, *10*, 225–232.
- McCauley, I., Watt, M., Suster, D., Kerton, D.J., Oliver, W.T., Harrell, R.J., et al. (2003). An immunocastration vaccine (Improvac®) and porcine somatotropin (Reporcin®) have synergistic effects upon growth performance in both boars and gilts. *Australian Journal of Agricultural Research*, *54*, 11–20.
- Muriel, E., Antequera, T., Petró, M.J., Andrés, A.J., & Ruiz, J. (2004). Volatile compounds in Iberian dry-cured loin. *Meat Science*, *68*, 391–400.
- Oliver, W.T., McCauley, I., Harrell, R.J., Suster, D., & Dunshea, F.R. (2003). A GnRF vaccine (Improvac®) and porcine somatotropin have synergistic and additive effects on growth performance in group-housed boars and gilts, respectively. *Journal of Animal Science*, *81*, 1959–1966.
- PIGCAS (2009). Report on attitudes, practices and state of the art regarding piglet castration in Europe. Deliverable D4.1. *Report on Recommendations for Research and Policy Support*.
- Real Decreto 1221/2009 (2009). *de 17 de julio, por el que se establecen normas básicas de ordenación de las explotaciones de ganado porcino extensivo y por el que se modifica el Real Decreto 1547/2004, de 25 de junio, por el que se establecen las normas de ordenación de las explotaciones cunícolas*, 187, (pp. 66585–66597). B.O.E. 66585–66597.
- Ruiz, J., García, C., Muriel, E., Andrés, A., & Ventanas, J. (2002). The flavour of Iberian ham. In F. Toldrá (Ed.), *Research Advances in the Quality Of meat and Meat Products*. Kerala, India: Trivandrum.
- Rydhmer, L., Lundström, K., & Andersson, K. (2010). Immunocastration reduces aggressive and sexual behaviour in male pigs. *Animal*, *4*, 965–972.
- Sánchez del Pulgar, J., Carrapiso, A.I., Reina, R., Biasioli, F., & García, C. (2013a). Effect of IGF-II genotype and pig rearing system on the final characteristics of dry-cured Iberian hams. *Meat Science*, *95*, 586–592.
- Sánchez del Pulgar, J., García, C., Reina, R., & Carrapiso, A.I. (2013c). Study of the volatile compounds and odor-active compounds of dry-cured Iberian ham extracted by SPME. *Food Science and Technology International*, *19*, 225–233.
- Sánchez del Pulgar, J., Renaville, B., Soukoulis, C., Cappellin, L., Romano, A., Gasperi, F., et al. (2014). Stearoyl-CoA desaturase and sterol regulatory binding protein 1 markers: Effect on the volatile profile of dry-cured Parma, San Daniele and Toscano hams as detected by PTR-TOF-MS. *International Journal of Mass Spectrometry*, *365–366*, 343–350.
- Sánchez del Pulgar, J., Soukoulis, C., Biasioli, F., Cappellin, L., García, C., Gasperi, F., et al. (2011). Rapid characterization of dry cured ham produced following different PDOs by proton transfer reaction time of flight mass spectrometry (PTR-ToF-MS). *Talanta*, *85*, 386–393.
- Sánchez del Pulgar, J., Soukoulis, C., Cappellin, L., Carrapiso, A.I., Gasperi, F., Granitto, P., et al. (2013b). Effect of the pig rearing system on the final volatile profile of Iberian dry-cured ham as detected by PTR-ToF-MS. *Meat Science*, *93*, 420–428.
- Soto, E., Hoz, L., Ordóñez, J.A., Hierro, E., Herranz, B., López-Bote, C., et al. (2008). Impact of feeding and rearing systems of Iberian pigs on volatile profile and sensory characteristics of dry-cured loin. *Meat Science*, *79*, 666–676.
- Stahnke, L.H. (1994). Aroma components from dried sausages fermented with *Staphylococcus xylosum*. *Meat Science*, *38*, 39–53.
- Stahnke, L.H. (1995). Dried sausages fermented with *Staphylococcus xylosum* at different temperatures and with different ingredient levels. Part II. Volatile components. *Meat Science*, *41* (2), 193–209.
- Sunesen, L.O., Dorigoni, V., Zanardi, E., & Stahnke, L. (2001). Volatile compounds released during ripening in Italian dried sausage. *Meat Science*, *58*, 93–97.
- Thun, R., Gajewski, Z., & Janett, F. (2006). Castration in male pigs: Techniques and animal welfare issues. *Journal of Physiology and Pharmacology*, *57*(8), 189–194.
- Toldrá, F. (1998). Proteolysis and lipolysis in flavour development of dry-cured meat products. *Meat Science*, *49*, 101–110.
- Ventanas, S., Estévez, M., Andrés, A.I., & Ruiz, J. (2008). Analysis of volatile compounds of Iberian dry-cured loins with different intramuscular fat contents using SPME-DED. *Meat Science*, *79*, 172–180.
- Ventanas, S., Estévez, M., Tejada, J.F., & Ruiz, J. (2006). Protein and lipid oxidation in Longissimus dorsi and dry cured loin from Iberian pigs as affected by crossbreeding and diet. *Meat Science*, *72*, 647–655.
- Vidal Aragón, M.C., Lozano, M., & Montero de Espinosa, V. (2005). Evolution of the aromatic fraction in red pepper for paprika during La Vera region traditional drying process. *Journal of Food Quality*, *28*, 211–221.



9.4. ARTÍCULO 4: Immune-spaying as an alternative to surgical spaying in Iberian x Duroc females: Effect on the sensory traits and VOC profile of dry-cured shoulders and dry-cured loins

Rafael Gamero-Negrón^a, José Sánchez del Pulgar^{b*}, Raquel Reina^a and Carmen García^a

^a Food Technology, Facultad de Veterinaria, UEx, Campus Universitario s/n, 10003 Cáceres, Spain.

^b Research Center for Food and Nutrition (CRA-NUT), Agricultural Research Council, Via Ardeatina, 546, 00100 Rome, Italy.

ABSTRACT

The aim of this study was to assess the effect of immune-spaying on sensory characteristics and the VOC profile of dry-cured shoulders and loins by comparing Iberian × Duroc surgically spayed females, immune-spayed females and entire females. The sensory evaluation of dry-cured shoulders showed no significant differences among treatment groups. In the same direction, the lack of differences observed in the VOC profile could be due to the large heterogeneity of dry-cured shoulders as a product. However, the dry-cured loins showed some differences concerning sensory traits, such as brightness and marbling, where the highest values were found in immune-spayed females. Moreover, these dry-cured loins showed a higher homogeneity that allowed the effects of spaying to be observed, thus the Principal Component Analysis performed on VOC profile data indicated a better separation of samples among treatment groups. Consequently, immune-spaying could be a viable alternative to surgical spaying from the point of view of meat quality.

Keywords: Immunocastration; Castration; Sensory analysis; VOC; SPME.

1. INTRODUCTION

Surgical castration without anesthesia is the most common practice to control boar taint and aggressive behavior in males (Fredriksen et al., 2009) as well as sexual behavior, both in males and females, throughout the rearing and pre-slaughter periods. Iberian pigs are sacrificed at heavy weights (> 150 kg), which is a peculiarity of the production system and allows time for the animals to reach sexual maturity. Moreover, some Iberian pigs are raised under free-range conditions, which can lead to



unwanted pregnancies by wild boars (Gómez-Fernández, Horcajada, Tomás, Gómez-Izquierdo & Mercado, 2013). For this reason, surgical spaying is allowed in Spain, only for pigs reared outdoors, and with prolonged analgesia and anesthesia (Real Decreto 1221/2009, 2009). In Europe there is a plan for the surgical castration of pigs to be voluntarily ended by 2018 (FVE-Federation of Veterinarians of Europe, 2009; PIGCAS, 2009). Moreover, the new regulations on animal welfare indicate that the Iberian pig sector must find an alternative to surgical gonadectomy of males and, most urgently, of females, since female surgical spaying jeopardizes animal welfare (Commission Directive 2001/93/EC), increases the risk of infection and affects production costs (Serrano, Valencia, Fuentetaja, Lázaro & Mateos, 2009). In this direction, immunocastration is presented as a potential alternative to traditional castration. Research has shown that immune-castrated pigs show less aggressive and sexual behavior (Fabrèga et al., 2010) and have fewer skin lesions compared to entire males (Rydhmer, Lundstrom & Andersson, 2010).

Immune-spaying has a positive impact on animal welfare and production characteristics such as average daily gain, feed intake and feed conversion ratio in comparison with surgically spayed females (McCauley et al., 2003). Furthermore, immunocastration could directly affect meat quality, which is shown in several articles where carcasses from castrated males are fatter than those from entire pigs (Gispert et al., 2010), and thus could be better suited for processing dry-cured meat products. In this direction, pioneer work concerning Iberian x Duroc females (Gamero-Negrón, Sánchez del Pulgar, Ventanas & García, 2015) showed scarce differences in the quality parameters of fresh meat among experimental batches (immune-spayed females, surgical-spayed females and entire ones), but higher ham fat thickness was obtained in both spayed batches regarding entire females. This fact is important from a technological point of view for the manufacture of high-quality dry-cured hams, since a high fattening level is required to provide correct ripening during maturation for the development of their sensory characteristics (Gandemer, 2002). Also, dry-cured loins and shoulders from the same experimental animals were evaluated in another work (Gamero-Negrón, Sánchez del Pulgar & García, 2015), in which it was observed that the intramuscular fat (IMF) content of dry-cured loins was significantly higher in



immune-spayed females. A high content of IMF leads to high sensory quality of cured products (Ruiz-Carrascal, Ventanas, Cava, Andrés & García, 2000; Ventanas, Ventanas, Ruiz & Estévez, 2005). Therefore, immune-spaying could have some effect on quality characteristics of dry-cured products, such as shoulders and loins, due to the fact that castration increases fat deposits (Barton-Gade, 1987; Neuper, Claus, Herbert & Weiler, 1995).

Iberian dry-cured loins are manufactured from the *Longissimus thoracis et lumborum* (LTL) muscle and subjected to a curing process / maturation of at least 2 months, whereas in dry-cured shoulders the ripening period is about 14-18 months. Throughout ripening period, the meat becomes progressively and partially dried and acquires its characteristic properties of appearance, texture, aroma and flavor, mainly due to complex chemical and biochemical changes in the principal components of raw meat (proteins and lipids) (Hernández, Navarro & Toldrá, 1999; Ventanas, Estévez, Tejeda & Ruiz, 2006), which lead to the generation of volatile compounds with distinct aromatic notes and/or low olfaction thresholds (Ruiz, Muriel & Ventanas, 2002). For this reason, the sensory properties in dry-cured products have been widely evaluated in previous studies (Muriel, Ruiz, Martin, Petron & Antequera, 2004; Reina, Sánchez del Pulgar, Tovar, López-Buesa & García, 2013) by means of a quantitative–descriptive analysis method (QDA), which is the most useful method for the evaluation of the overall sensory characteristics in these products (Ruiz, Ventanas, Cava, Timon & García, 1998). In addition, in these kind of Iberian dry-cured products, the aforementioned changes throughout ripening give rise to a large number of volatile compounds, which contribute to their unique characteristics of flavor (Ruiz et al., 2002b) and is also appreciated by consumers. In this direction, castration could also affect the final volatile organic compound (VOC) profile of dry-cured products because it increases fat deposits, thus influencing the lean/fat ratio, which is directly linked to the release of VOCs (Ventanas, Estévez, Andrés & Ruiz, 2008). In whole meat products such as hams, shoulders and loins, IMF could act as a reservoir of precursors which subsequently undergo transformations leading to volatile compound formation (Ruiz et al., 2002b; Ventanas et al., 1992).



The aim of this study was to assess the effect of immune-spaying on the sensory features and the VOC profile of dry-cured shoulders and loins from Iberian x Duroc female pigs slaughtered at the same age, paying special attention to the role of IMF.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Animals

A total of 192 Iberian x Duroc pigs (Gómez-Fernández et al., 2013), 110 days old and weighing 44.94 ± 3.41 kg on average, were used to test the effect of immunological castration with Improvac® at the ITACYL center (Hontalbilla, Spain). Animals were identified and classified into three groups with the same average weight: immune-spayed females, surgically spayed females and entire females. The feed was the same for all females from the beginning to the end of the fattening period (Gómez-Fernández et al., 2013). Vaccination was performed twice as per the manufacturer's instructions, 4 weeks apart. Doses were injected at 60 kg (18 weeks of age) and 82.4 kg (22 weeks of age), while the surgical spaying was performed close to weaning. The experimental animals were slaughtered 14.5 weeks after the second Improvac doses (Gómez-Fernández et al., 2013).

2.2. Sampling and processing

The 192 animals (64 surgically spayed females, 64 immune-spayed females and 64 entire females) were slaughtered at the abattoir of MAZAFRA (Zafra, Spain), by CO₂ stunning and exsanguination with a live weight of 160-170 kg at 8.2 months of age. The right side of the carcass of six animals were randomly selected from each batch (surgically spayed, immune-spayed and entire females) and the fresh loins (LTL) and shoulders were taken, at Argal S.A. industry (Fregenal de la Sierra, Spain). Processing of loins and shoulders was carried out at the commercial plant La Teresina (Guijuelo, Spain) and at Argal S.A. (Fregenal de la Sierra, Spain) respectively. Dry-cured loins were made using the cranial half of the LTL muscle of the animals. The ripening period was



65 days for loins and 14 months for shoulders, under customary processing conditions for these products. This study was carried out with 18 dry-cured loins and 18 dry-cured shoulders from the experimental animals divided into three batches: immune-spayed females ($N = 6$), surgically spayed females ($N = 6$) and entire females ($N = 6$). Loins and shoulders were properly identified to monitor traceability. Analytical samples were selected in the cranial region of the loins, and sliced from the *Biceps brachii* muscle of the dry-cured shoulders using a commercial slicer.

2.3. Descriptive sensory test

The 18 dry-cured shoulders and 18 loins were assessed by a trained panel of 12 members, using a quantitative–descriptive analysis method (QDA) (Ruiz et al., 1998) for 19 different attributes. Panelists were trained and had previously participated in sensory evaluation of dry-cured products. Members of the panel had more than 120 h of training in preparation for descriptive analysis. Consistency of panelists was validated using the Rasch model (García et al., 1996). Questions were specifically selected for Iberian dry-cured shoulder and loin evaluation after reviewing available literature (García et al., 1996; Muriel et al., 2004; Ruiz et al., 1998). The questions were presented to different trained members in the normal order of perception: visual analysis, odor perception, fat texture and flavor.

A total of 12 sessions were carried out, 6 sessions for each dry-cured product, in which three different samples were processed and evaluated in each daily session. Sample order was also randomized. Two thin slices (1.5–2 mm) of each shoulder and loin were given to each trained member. On glass plates, the panelists were served slices of dry-cured shoulder from 100 gram commercially vacuum packed trays, and dry-cured loin which was sliced immediately before each session from the entire loin using a commercial slicer. Both the slices and the plates were kept at room temperature (20 - 23 °C). A glass of approximately 200 mL of water at 12 °C was provided to each panelist. All sessions were done in a six booth sensory panel room at 22 °C equipped with white fluorescent lighting. The panelists evaluated the sensory characteristics using a 10 cm unstructured scale, ranging from “less” to “more”. The



FIZZ Network (version 1.01: Biosystemes, France) program was used for the sessions and the recorded data obtained.

The mean of all panelist scores for each attribute of each evaluated dry-cured shoulder and loin was calculated to perform the statistical analysis.

2.4. Intramuscular fat content

Intramuscular fat (IMF) content data was obtained from Gamero-Negrón et al. (2015b) and was analyzed following the procedure described by Folch, Lees and Stanley (1957).

2.5. Analysis of volatile compounds by SPME combined with GC–MS

Volatile compounds were extracted by solid-phase microextraction (SPME) fibre coated with carboxen-poly dimethylsiloxane (75 µm thickness) and subsequently analyzed by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS). Volatile extraction was carried out using 1 g of grinded sample into 4 mL glass vials. Before extraction, samples were pre-conditioned in a water bath at 37 °C for 30 minutes. The SPME fibre was inserted into the sample vial through the septum and then exposed to the headspace for 30 minutes. After extraction, the SPME fibre was immediately transferred to the injector of the chromatograph which was in splitless mode at 250 °C. The compounds were identified (i) by comparison of their mass spectra with those contained in the Wiley and Nist library, (ii) by comparison of LRI with those on the online database of Nist [<http://webbook.nist.gov>] and (iii) by comparison with commercial reference compounds (Sigma-Aldrich).

2.6. Statistical analyses

The effect of castration on sensory characteristics was evaluated by means of a two-way ANOVA (panelist and castration) and a post hoc Tukey test performed on the three studied batches. The effect was considered significant at $P < 0.05$. In addition, Pearson correlations between sensory traits and intramuscular fat content were researched. Principal components analyses were performed with the dry-cured shoulder and dry-cured loin volatile compound data.



3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Sensory Analysis

The sensory evaluation of dry-cured shoulders and loins was carried out applying quantitative-descriptive analysis method (QDA) for 19 different attributes. In the obtained results for dry-cured shoulders no significant differences among the three treatment groups were observed (Table 1). In this way, no significant Pearson correlations were found between sensory attributes and intramuscular fat (IMF) content (data not shown). This fact could be due to the heterogeneity of the dry-cured shoulders as a product, which was reported in previous studies in dry-cured shoulders from Iberian females (IB x D) (Gamero-Negrón et al., 2015b). These researches observed how the wide internal variability of the dry-cured shoulder as a product was comparable to the variability related to the effects of spaying.

In the case of dry-cured loins, the panelists perceived some differences in appearance traits (Table 2). Significant differences were observed in brightness and marbling, where the highest values in both attributes corresponded to dry-cured loins from immune-spayed females. These data are in accordance with the highest percentage of intramuscular fat also being observed in the same dry-cured loins from the immune-spayed group, which was reported in a previous study (Gamero-Negrón et al., 2015b). For this reason, correlations between IMF content and the overall sensory attributes were performed (Table 3). As reflected in the table, the IMF content was positively correlated with the brightness. These results are in agreement with previous studies in Iberian dry-cured meat products (Muriel et al., 2004; Ruiz-Carrascal et al., 2000), where the positive influence of IMF content on brightness and marbling attributes has been described.

Concerning texture traits in dry-cured loins, significant differences were not perceived by the trained panel among the treatment groups. The IMF content, however, was positively correlated with juiciness, which is considered a positive attribute and widely appreciated by consumers as an index of quality. Contrarily, chewiness was negatively correlated with IMF. It is well established that the IMF



content influences texture traits such as juiciness, hardness, dryness and fibrousness (Cava, Ventanas, Ruiz, Andres & Antequera, 2000; Ruiz-Carrascal et al., 2000).

The odor intensity of dry-cured loins was not significantly influenced by immune-spaying. Similarly, no significant differences were found in cured and marinade odors, among immune-spayed, spayed and entire females. However, the IMF content was positively correlated with the odor intensity. Also, a positive correlation between IMF and marinade odor was observed, which could be due to IMF helping the diffusion of volatile organic compounds (VOCs), most of them with low polarity, to the inner region of the dry-cured loin. Sensory perception related to odor is one of the most influential sensory attributes on the acceptability of Iberian dry-cured products, and is positively linked to the consumers' choice (Ruiz, García, Muriel, Andrés & Ventanas, 2002).

In general, flavor traits were not affected by spaying status in dry-cured loins. The panelists did not perceive any kind of difference as far as rancid flavor perception despite the immune-spayed females having the highest percentage of IMF (Gamero-Negrón et al., 2015b). This could be due to the fact that the immune-spayed group presented the highest percentage of saturated fatty acids (SFA) and the lowest values of polyunsaturated fatty acids (PUFA), whereas entire females reflected the inverse, and spayed ones showed intermediate scores (Gamero-Negrón et al., 2015b). This lower PUFA content found in dry-cured loins from the immune-spayed group could prevent excessive fat oxidation responsible for rancid flavor generation.

3.2. Volatile Compound Profile by SPME-GC-MS

The volatile compound profile was analyzed in dry-cured shoulders and loins from all treatment groups. In the case of dry-cured shoulders, volatile organic compounds (VOCs) described as important odor-active compounds in dry-cured ham (Flores, Grimm, Toldrá & Spanier, 1997; Blank et al., 2001; Carrapiso, Ventanas & García, 2002; Carrapiso, Jurado, Timón & García, 2002; Carrapiso & García, 2004, 2007; Song, Cadwallader & Singh, 2008; Song & Cadwallader, 2008; Carrapiso, Martín, Jurado & García, 2010; Thèron et al., 2010; Sánchez del Pulgar, García, Reina & Carrapiso, 2013) or with a distinct odor characteristic were selected (Table 4) in order to evaluate



the possible differences related to the odor perception. With this data matrix, principal component analysis (PCA) was performed as an exploratory and non-supervised data analysis. The principal components (PC) 1 and 2 of the dry-cured shoulder matrix PCA explain 53.5 % of the total variance, and the plot (Figure 1a) shows a mixed distribution of the samples without any kind of relation to their original study groups. The PCA of dry-cured shoulders indicated a large heterogeneity of the samples which is not related to the different spaying modalities. This may be due to the broad internal variability of the dry-cured shoulders as a product, which is in agreement with previous studies performed in the same dry-cured shoulders (Gamero-Negrón et al., 2015b). However, the PC3 – PC4 plot (Figure 1b) suggested a separated distribution of samples from the entire females regarding both spayed groups through PC3 (14.6 %); likewise, PC 4 (9.1 %) indicated a possible separation between surgically spayed females and immune-spayed ones. Therefore, the main source of variance in dry-cured shoulders was related with the wide internal variability of these products. The second source of variance could be the differences in the physiological status (entire versus spayed), whereas the third one could be partially explained by the spaying modality (surgical versus immune-spaying). For this reason, the differences between dry-cured shoulders from the three treatment groups were not great enough to be perceived by the trained panelists, since the described variability could mask these differences in the sensory analysis.

The VOC profile of dry-cured loins was also studied by SPME-GC-MS. From the obtained VOC data matrix, only those appearing in at least 80 percent of the samples were selected (Table 5). As in the case of dry-cured shoulders, PCA was performed on the dry-cured loin data. As displayed in Figure 2, the PC 1 and 2 of the dry-cured loin matrix PCA explain 42.1 % of the total variance. Moreover, dry-cured loins showed a higher homogeneity than dry-cured shoulders (Figure 1a), which is in agreement with earlier studies performed in the same dry-cured products (Gamero-Negrón b). This higher homogeneity allowed the effects of spaying to be observed: in fact, PC 1 (24.6 %) indicated a clear separation between entire females regarding both spayed groups, whereas PC 2 (17.5 %) suggested a probable separation of dry-cured loins from surgically spayed females and immune-spayed ones. In spite of this, no significant



differences were found in the sensory traits related to odor and flavor perception among the three treatment groups.

4. CONCLUSIONS

In this study, the sensory characteristics and the volatile organic compound profile as affected by immune-spaying were researched in dry-cured shoulders and loins from Iberian × Duroc females. Regarding sensory traits, in the case of dry-cured shoulders, non-significant differences were found between surgical spayed females, immune-spayed and entire ones. Moreover, the VOC profile of dry-cured shoulders was rather similar among the three treatment groups. This fact could be due to the wide internal variability of the dry-cured shoulder as a product, which could mask the differences in the sensory analysis and volatile organic compound profile.

On the other hand, the analysis of VOCs allowed for a clear separation among dry-cured loins from the three experimental groups. This could be due to the higher homogeneity observed in the dry-cured loins, which permitted the effects of spaying to be observed. In spite of this, the sensory properties of the dry-cured loins were almost unaffected, with the exception of marbling, brightness and juiciness, which were higher in dry-cured loins from immune-spayed females. However these and some other sensory traits, such as odor intensity, were positively correlated with the intramuscular fat content which, as demonstrated in a previous study, was higher in the immune-spayed group. Therefore, immune-spaying could have some positive effect on quality characteristics of dry-cured products, since castration increases fat deposits.

Immune-spaying, with a proven advantage from the point of view of animal welfare, is a good alternative to surgical castration, which could permit the current characteristics of dry-cured products to be maintained.



ACKNOWLEDGEMENTS

This research was partially financed by Zoetis (formerly Pfizer Animal Health) by a contract (ref. N-2525498) with SiPA (Servicio de Análisis e Innovación en Productos de Origen Animal) of the University of Extremadura. Rafael Gamero-Negrón was the beneficiary of a grant from the Junta de Extremadura (Regional Government Board of Extremadura), Spain, and the European Social Fund. Authors also thank the Centro de Prueba de Porcino del Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León ITACYL (Hontalbilla, Segovia, Spain).

REFERENCES

- Barton-Gade, P. A. (1987). Meat quality in boars, castrates and gilts. *Livestock Production Science*, 16, 187–196.
- Blank, I., Devaud, S., Fay, L. B., Cerny, C., Steiner, M. & Zurbriggen, B. (2001). Odor-active compounds of dry-cured meat: Italian-type salami and Parma ham. In: G. R. Takeoka, M. Günter, M. & K. H. Engel (Eds) *Aroma active compounds in foods* (pp 9-20). ACS Symposium series, 794, Washington.
- Carrapiso, A. I. & García, C. (2004). Iberian ham headspace: odorants of intermuscular fat and differences with lean. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, 2047-2051.
- Carrapiso, A. I., Jurado, A., Timón, M. L. & García, C. (2002). Odor-active compounds of Iberian hams with different aroma characteristics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 6453-6458.
- Carrapiso, A. I., Martín, L., Jurado, A. & García, C. (2010). Characterization of the most odour-active compounds of bone tainted dry-cured Iberian ham. *Meat Science*, 85, 54-58.
- Cava, R., Ventanas, J., Ruiz, J., Andres, A. I. & Antequera, T. (2000). Sensory characteristics of Iberian ham: influence of rearing system and muscle location. *Food Science and Technology International*, 6(3), 235–242.
- Commission Directive 2001/93/EC of 9 November 2001. Amending Directive 91/630/EEC laying down minimum standards for the protection of pigs. 316: 36–38.



- Fabréga, E., Velarde, A., Cros, J., Gispert, M., Suárez, P., Tibau, J. and Soler, J. (2010). Effect of vaccination against gonadotropin-releasing hormone, using Improvac, on growth performance, body composition, behaviour and acute phase proteins, *Livestock Science*, 132, 53-59.
- Federation of Veterinarians of Europe (2009). *Pig Castration*. FVE Position Paper.
- Folch, J., Lees, M. & Stanley, G.H. S. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids of animal tissues. *The Journal of Biological Chemistry*, 226, 497–509.
- Fredriksen, B., Font i Furnols, M., Lundström, K., Migdal, W., Prunier, A., Tuytens, F. A.M. & Bonneau, M. (2009). Practice on castration of piglets in Europe. *Animal*, 3, 1480–1487.
- Gamero-Negrón, R., Sánchez del Pulgar, J. & García, C. (2015b). Immune-spaying as an alternative to surgical spaying in Iberian × Duroc females: Effect on quality characteristics and fatty acid profile in dry-cured shoulders and loins. *Meat Science*, 104, 52-57.
- Gamero-Negrón, R., Sánchez del Pulgar, J., Ventanas, J. & García, C. (2015a). Immunospaying as an alternative to surgical spaying in Iberian × Duroc females: Effect on carcass traits and meat quality characteristics. *Meat Science*, 99, 99–103.
- Gandemer, G. (2002). Lipids in muscles and adipose tissues, changes during processing and sensory properties of meat products. *Meat Science*, 62, 309-321.
- García, C., Ventanas, J., Antequera, T., Ruiz, J., Cava, R. & Alvarez, P. (1996). Measuring sensorial quality of Iberian ham by Rasch model. *Journal of Food Quality*, 19, 397–410.
- Gispert, M., Oliver, M. A., Velarde, A., Suarez, P., Perez, J. & Font i Furnols, M. (2010). Carcass and meat quality characteristics of immunocastrated male, surgically castrated male, entire male and female pigs. *Meat Science*, 85, 664–670.
- Gómez-Fernández, J., Horcajada, S., Tomás, C., Gómez-Izquierdo, E. & Mercado, E. (2013). The effect of immunocastration and surgically castration on growth performance and carcass quality in fattening period of Iberian female pigs. *ITEA- Informacion Tecnica Economica Agraria*, 109, 33-48.



- Hernández, P., Navarro, J. L. & Toldrá, F. (1999). Lipolytic and oxidative changes in two Spanish pork loin products: dry-cured loin and pickled-cured loin. *Meat Science*, 51, 123–128.
- McCauley, I., Watt, M., Suster, D., Kerton, D.J., Oliver, W.T., Harrell, R.J. & Dunshea, F.R. (2003). An immunocastration vaccine (Improvac®) and porcine somatotropin (Reporcin®) have synergistic effects upon growth performance in both boars and gilts. *Australian Journal of Agricultural Research*, 54, 11-20.
- Muriel, E., Ruiz, J., Martin, L., Petrón, M. J. & Antequera, T. (2004). Physico-chemical and sensory characteristics of dry-cured loin from different Iberian pig lines. *Food Science and Technology International*, 10(2), 117–123.
- Neuper, B., Claus, R., Herbert, E. & Weiler, U. (1995). Influence of sex, energy supply and light on fattening traits and carcass composition and their relation to androstenone and skatole concentrations in adipose tissue of pigs. *Zuechtungskunde*, 67(4), 317–331.
- NIST: <http://webbook.nist.gov> (last consulting date 1st May 2015).
- PIGCAS (2009). *Report on attitudes, practices and state of the art regarding piglet castration in Europe*. Deliverable D4.1. Report on recommendations for research and policy support.
- Real Decreto 1221/2009 (2009). de 17 de julio, por el que se establecen normas básicas de ordenación de las explotaciones de ganado porcino extensivo y por el que se modifica el Real Decreto 1547/2004, de 25 de junio, por el que se establecen las normas de ordenación de las explotaciones cunícolas. B.O.E., n. 187. (pp. 66585-66597).
- Reina, R., Sánchez del Pulgar, J., Tovar, J., López-Buesa, P. & García, C. (2013). Quality of Dry-Cured Ham Compared with Quality of Dry-Cured Shoulder. *Journal of Food Science*, 78, 1282-1289.
- Ruiz, J., García, C., Muriel, E., Andrés, A. I. & Ventanas, J. (2002a). Influence of the sensory characteristics on the acceptability of dry-cured ham. *Meat Science*, 61, 347–354.
- Ruiz, J., Muriel, E. & Ventanas, J. (2002b). The flavour of Iberian ham. In F. Toldrá (Ed.), *Research advances in the quality of meat and meat products* (pp. 290–309). Trivandrum, Kerala, India: Research Singpost.



- Ruiz, J., Ventanas, J., Cava, R., Timon, M. L. & García, C. (1998). Sensory characteristics of Iberian ham: influence of processing time and slice location. *Food Research International*, 31(1), 53–58.
- Ruiz-Carrascal, J., Ventanas, J., Cava, R., Andrés, A.I. & García, C. (2000). Texture and appearance of dry cured ham as affected by fat content and fatty acid composition. *Food Research International*, 33, 91-95.
- Rydhmer, L., Lundstrom, K. & Andersson, K. (2010). Immunocastration reduces aggressive and sexual behaviour in male pigs. *Animal*, 4, 965-972.
- Sánchez del Pulgar, J., García, C., Reina, R. & Carrapiso, A.I. (2013). Study of the volatile compounds and odor-active compounds of dry-cured Iberian ham extracted by SPME. *Food Science and Technology International*. 19, 225-233.
- Serrano, M. P., Valencia, D. G., Fuentetaja, A., Lázaro, R. & Mateos, G. G. (2009). Effect of castration on productive performance, carcass characteristics and meat quality of Iberian pig females reared under intensive management systems. *Livestock Science*, 123, 147–153.
- Song, H. & Cadwallader, K.R. (2008). Aroma components of American country ham. *Journal of Food Science*, 73, 29-35.
- Song, H., Cadwallader, K.R. & Singh, T.K. (2008). Odour-active compounds of Jinhua ham. *Flavour and Fragrance Journal*, 23, 1-6.
- Ventanas, J., Córdoba, J. J., Antequera, T., García, C., López-Bote, C. & Asensio, M. A. (1992). Hydrolysis and maillard reactions during ripening of Iberian ham. *Journal of Food Science*, 57, 803–815.
- Ventanas, S., Estevez, M., Andrés, A.I. & Ruiz, J. (2008). Analysis of volatile compounds of Iberian dry-cured loins with different intramuscular fat contents using SPME–DED. *Meat Science*, 79, 172-180.
- Ventanas, S., Estévez, M., Tejeda, J. F. & Ruiz, J. (2006). Protein and lipid oxidation in Longissimus dorsi and dry cured loin from Iberian pigs as affected by crossbreeding and diet. *Meat Science*, 72, 647–655.
- Ventanas, S., Ventanas, J., Ruiz, J. & Estévez, M. (2005). Iberian pigs for the development of high-quality cured products. In Pandalai (Ed.), *Recent research in development in agricultural and food chemistry* (pp. 27–53). Kerala, India: Trivandrum, Research Sing post.