ARMONIZACIÓN DEL ANÁLISIS NIRS DE GRASA DE CERDO IBÉRICO: TRANSFERENCIA DE CALIBRACIONES DE ÁCIDOS GRASOS.

J. García Olmo[1], A. Garrido Varo[1], E. De Pedro Sanz[1], F. Muñoz[2], A. Puigdomenech[3] y D. Andueza[2].

1. Dpto. Producción Animal. ETSIAM. Universidad de Córdoba
2. Unidad de Tecnología de la Producción Animal. SIA-DGA. Zaragoza
3. Laboratori Agrari de Cabrils. DARP. Generalitat de Catalunya.

INTRODUCCIÓN

Los criterios de calidad definidos en el contrato tipo de compra-venta de cerdos Ibéricos homologado por el Ministerio de Agricultura y Pesca incluyen, entre otros parámetros, el porcentaje de los ácidos palmítico (C16:0), esteárico (C18:0), oleico (C18:1) y linoleico (C18:2) que ha de presentar la grasa subcutánea de cerdo Ibérico, analizada mediante cromatografía de gases. Dependiendo de los niveles de dichos ácidos y de los resultados de las visitas a las explotaciones, los animales son clasificados dentro de la categoría comercial de "Bellota", "Recebo" o "Pienso". Para poder aplicar estos criterios de calidad, sólo es posible analizar un número reducido de animales debido a las limitaciones inherentes de la cromatografía de gases como son el elevado coste analítico por muestra y el alto tiempo empleado para realizar el análisis.

De acuerdo con García-Olmo et al. (1999, 2001) es posible determinar el contenido de los ácidos grasos en grasa de cerdo Ibérico mediante Espectroscopía de Infrarrojo Cercano (NIRS) con la misma precisión que cromatografía de gases y con las ventajas añadidas de poder analizar un alto número de muestras a un mínimo coste. Para ello, es necesario obtener ecuaciones de predicción NIRS robustas, desarrolladas a partir de muestras procedentes de animales sacrificados en diferentes campañas y que cubran todo el rango de variabilidad (en cuanto a composición de ácidos grasos) existente en la grasa de cerdo Ibérico. Estas ecuaciones NIRS así obtenidas (García Olmo et al., 1999) tienen un alto valor, tanto científico como económico, por lo que sería deseable que pudieran ser aplicadas en diferentes instrumentos NIRS localizados en industrias o laboratorios del sector.

A pesar de que en los últimos años se han realizado esfuerzos importantes para que los equipos de un mismo fabricante sean similares, aún continúan existiendo pequeñas diferencias entre instrumentos que imposibilitan el uso directo de una ecuación generada en un equipo a otro del mismo fabricante (Garrido et al., 1999). Esta situación se agrava cuando se desea transferir ecuaciones NIRS entre instrumentos de diferentes marcas comerciales y/o modelos. Por ello, Shenk y Westerhaus (1990, 1991) desarrollaron un algoritmo de estandarización espectral o procedimiento de clonación, a partir de muestras selladas, que lograba corregir las diferencias espectrales entre instrumentos. El uso de cápsulas selladas asegura que tanto en el instrumento donde se han desarrollado las ecuaciones (máster) como en los instrumentos a los cuales las ecuaciones van a ser transferidas (satélites) se obtengan idénticos espectros y se evita los cambios de temperatura y humedad de la muestra durante la medida. Sin embargo, en numerosas ocasiones no es posible el uso de cápsulas selladas por motivos económicos (alto coste de las cápsulas) o prácticos (muestras con alto contenido en humedad o grasa).

El objetivo del presente trabajo es mostrar la posibilidad de transferir ecuaciones de calibración para la determinación de ácidos grasos en grasa de cerdo Ibérico en diferentes instrumentos NIRS, empleando para ello cápsulas no selladas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Instrumentos:

Córdoba (máster) = Foss NIRSystems 6500 con módulo de giro; Cabrils (satélite) = Foss NIRSystems 6500 con módulo de transporte; Zaragoza (satélite) = Foss NIRSystems 6500 con módulo de giro.

Ecuaciones:

Las ecuaciones NIRS empleadas en este trabajo fueron desarrolladas por el grupo de la Universidad de Córdoba (García Olmo et al., 1999). A partir de ellas, es posible predecir la composición de ácido palmítico (C16:0), esteárico (C18:0), oleico (C18:1) y linoleico (C18:2) en grasa líquida de cerdo Ibérico.

Clonación:

Básicamente, el procedimiento de clonación consistió en la recogida de datos espectrales NIRS, en cápsula no sellada, de una única muestra líquida de grasa de cerdo Ibérico (grasa de referencia), en los tres instrumentos indicados (García-Olmo et al., 2001). La composición en ácidos grasos de la grasa de referencia es similar a la media existente en grasa de cerdo Ibérico. A los espectros obtenidos se les aplicó el algoritmo de ajuste espectral desarrollado por Shenk y Westerhaus (1991). Dicho procedimiento consiste en la obtención de la denominada "matriz de estandarización o clonación", que corrige las diferencias existentes entre los espectros de la muestra de grasa de referencia recogidos en el máster y en cada uno de los satélites.

Transferencia de ecuaciones y validación:

Para la validación de la clonación y de la transferencia de ecuaciones se procedió a recoger el espectro de 10 muestras de grasa líquida de cerdo en los 3 instrumentos. Los valores de ácidos grasos de dichas muestras cubrían los rangos de composición de dichos parámetros en grasa de cerdo Ibérico. A los espectros obtenidos se les aplicó la matriz de estandarización obtenida para ajustar cada uno de los satélites al instrumento máster.

Programa estadístico:

La recogida de datos espectrales, el desarrollo de calibraciones y el proceso de clonación y validación se realizó mediante el paquete estadístico ISI NIRS 3 ver. 3.11 (ISI, 1998), haciendo uso de los programas Scan, Calibration, Clone1 y Evaluate respectivamente, todos ellos incluidos en dicho paquete.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 muestra los resultados (media y desviación típica) del contenido en ácidos grasos para las 10 muestras de grasa líquida empleadas como colectivo de validación, analizadas en los 3 instrumentos (1 máster y 2 satélites), tanto antes como después de la clonación. Al mismo tiempo, se indican los valores del sesgo o diferencia sistemática entre los valores medios obtenidos en el instrumento máster y satélite antes y tras el proceso de clonación.

De la observación de los resultados de dicha Tabla puede apreciarse que existen grandes diferencias entre los valores de composición en ácidos grasos para las 10 muestras analizadas en el instrumento máster de Córdoba (21,6% C16:0, 10,5% C18:0, 52,8% C18:1 y 9,3% C18:2) y en los satélites de Zaragoza (33,6% C16:0, 7,9% C18:0, 50,8% C18:1 y 29,7% C18:2) y Cabrils (9,8% C16:0, 10,4% C18:0, 54,5% C18:1 y 9,8% C18:2) antes de la clonación. Estas diferencias son muy elevadas para el ácido graso C16:0 (sesgos de –12,3 para el satélite Zaragoza y 11,5 para Cabrils) y para el C18:2 (sesgo de –20,4 para el instrumento de Zaragoza) presentando valores más moderados (inferiores a 3 en valor absoluto) para los ácidos grasos C18:0 y C18:1 en ambos satélites. A pesar de ello, los valores de DT en el máster y en los 2 instrumentos satélites antes de la clonación son similares.

Tras realizar el proceso de estandarización entre los instrumentos, los valores medios de los ácidos grasos predichos en los instrumentos satélite de Zaragoza (21,0% C16:0, 10,3% C18:0, 52,6% C18:1 y 8,7% C18:2) y Cabrils (21,3% C16:0, 10,5% C18:0, 52,5% C18:1 y 9,2% C18:2) son prácticamente idénticos a los predichos en el instrumento máster, reduciéndose sensiblemente los valores del sesgo (inferiores a 0,6 para todos los ácidos grasos e instrumentos satélite). Estas diferencias entre los valores medios obtenidas tras la clonación son similares e incluso inferiores a las que cabe esperar entre duplicados de una misma muestra analizados en un mismo laboratorio mediante el método de referencia (cromatografía de gases).

Tabla 1. Media, DT y sesgo del contenido (%) en ácidos grasos para 10 muestras de grasa de cerdo Ibérico analizadas en 3 instrumentos.

		MÁSTER	SATÉLITES ANTES CLONACIÓN		SATÉLITES TRAS CLONACIÓN	
		Córdoba	Zaragoza	Cabrils	Zaragoza	Cabrils
C16:0	Media ± DT	21,3 ± 2,0	33,6 ± 1,9	9,8 ± 2,0	21,0 ± 1,7	21,3 ± 2,0
	Sesgo	-	-12,3	11,5	0,3	0
C18:0	Media ± DT	10,5 ± 1,5	7,9 ± 1,5	10,4 ± 1,5	10,3 ± 1,2	10,5 ± 1,6
	Sesgo	-	2,6	0,1	0,2	0
C18:1	Media ± DT	52,8 ± 3,5	50,8 ± 3,5	54,5 ± 3,2	52,6 ± 2,9	52,5 ± 3,2
	Sesgo	-	2,0	-1,7	0,2	0,3
C18:2	Media ± DT	9,3 ± 1,2	29,7 ± 1,5	9,8 ± 1,2	8,7 ± 1,0	9,2 ± 1,2
	Sesgo	-	-20,4	-0,5	0,6	0,1

Por tanto, los resultados muestran que es posible transferir las ecuaciones desarrolladas para la determinación de ácidos grasos en grasa de cerdo en un instrumento (máster) a otros instrumentos (satélite) del mismo fabricante. Al mismo tiempo, se muestra que es posible la clonación entre instrumentos a partir de una única muestra de grasa de cerdo y mediante el empleo de cápsulas no selladas.

AGRADECIMIENTOS

Al personal del SIA (Zaragoza) y del LAG (Cabrils) por su colaboración en el control y diagnóstico de los instrumentos. A la Unidad de Espectroscopía NIR/MIR del S.C.A.I. (Córdoba), SIA y LAG por posibilitar el uso de la instrumentación y programas quimiométricos.

BIBLIOGRAFÍA

García Olmo, J., De Pedro E. y Garrido, A. *ITEA*, vol. extra 20 (2): 167-169 (1999).

García Olmo, J., Garrido, A. and De Pedro E., *Journal of Near Infrared Spectroscopy* (2001). En prensa.

Garrido A., De la Roza, B. y Puigdomenech A., *ITEA*, vol. extra 20 (2): 553-555 (1999).

ISI. *The complete software solution for routine analysis, robust calibrations, and networking manual.* FOSS NIRSystems. Infrasoft International, LLC. Sylver Spring MD, USA (1998).

Shenk, J.S. and Westerhaus, M.O., *Proceedings of the 3rd International Conference on Near Infrared Spectroscopy*. Ed. by R. Biston and N. Bartiaux-Thill. Agricultural Research Centre Publishing, Gembloux, Belgium, p. 649 (1990).

Shenk, J.S. and Westerhaus, M.O., *Crop Science* 31, 6 (1991).