LA HUELLA ESPECTRAL NIRS PARA LA IDENTIFICACIÓN DEL TIPO Y/O LA ESPECIE ANIMAL EN MEZCLAS DE HARINAS DE CARNE

Mª J. de la Haba, A. Garrido-Varo, J. E. Guerrero, D. Pérez Marín
Dpto. Producción Animal. ETSIAM. Universidad de Córdoba.
Avda. Menéndez Pidal, s/n. 14080. Córdoba

INTRODUCCIÓN

En octubre de 2002, la Comisión Europea adopta el Reglamento nº 1774/2002 en el que se establecen las normas sanitarias aplicables a los subproductos animales no destinados al consumo humano (CE, 2002). En el artículo 22, se prohíbe la alimentación de especies con proteínas animales transformadas derivadas de animales o partes de animales de la misma especie, evitando así el canibalismo.

Es evidente, que para poder controlar de forma sistemática el cumplimiento de esta normativa es imprescindible el disponer de métodos analíticos que permitan diferenciar la especie animal de la cual procede un determinado tipo de harina usada en la fabricación de piensos. Métodos como la microscopía y otros, como la PCR, han mostrado ciertas limitaciones para la identificación de la especie en harinas y piensos (Jorgensen, 1998; van Raamsdonk y van der Voet, 2003, Boix et al., 2004;).

Diferentes trabajos publicados hacen referencia al uso de la tecnología NIRS para la identificación, en diferentes piezas de carne y productos cárnicos, de la especie animal de la cual proceden (Mc Elhinney et al., 1999; Thyholt et al., 1997; Naes y Hildrum, 1997; Downey, 2000). Murray et al. (2001) indican que la tecnología NIRS permite detectar la adicción de harina de carne y hueso en mezclas con harina de pescado, a niveles de adición tan bajos como el 3% y que el error de los modelos predictivos es aproximadamente del 1%.

El objetivo del presente trabajo es el de mostrar el valor de la *huella espectral NIRS,* de harinas de origen animal, para identificar la especie o especies de la cual proceden dichas harinas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material experimental

Un total de 280 muestras de harinas proteicas de origen animal fueron suministradas por diferentes plantas de transformación de subproductos animales, entre octubre de 2002 y abril de 2004. La información de la referencia fue proporcionada por el proveedor indicando el tipo y/o la especie animal a la que pertenecía la harina. Este colectivo espectral se utilizó, para construir una biblioteca espectral NIRS de muestras autentificadas (colectivo de aprendizaje UCO).

Un segundo colectivo formado por 29 muestras proporcionadas por la Asociación Europea de Productores de Grasas y Proteínas de Origen Animal (EFPRA) fue utilizado como grupo de validación. Estas muestras suministradas por EFPRA no poseían ningún tipo de información sobre la especie y/o especies de procedencia.

Análisis espectroscópico NIRS

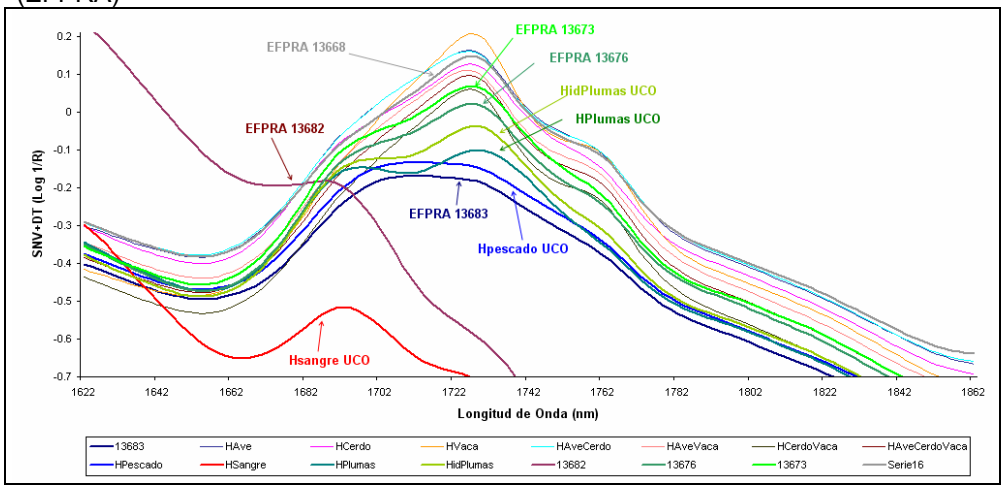
El análisis NIRS de las muestras de harinas proteicas de origen animal se realizó en un instrumento monocromador FOSS NIRSystems 6500 SY-I provisto de módulo giro, que trabaja en reflectancia en la región del espectro comprendida entre 400-2500 nm. Las medidas se realizaron en cápsulas circulares de paso óptico de 0.1 mm. Cada muestra se analizó por duplicado, en dos cápsulas diferentes, utilizándose para el estudio posterior el espectro medio.

El tratamiento quimiométrico de los datos espectroscópicos generados se realizó utilizando el software WinISI II 1.50 (ISI, 2000). La estrategia quimiométrica utilizada consistió en el uso de los datos espectroscóspicos “per se”, para el estudio e identificación de zonas de absorción diferencial para cada tipo de harina (porcino, ovino, ave, mezcla de varias especies, pescado, sangre, plumas e hidrolizado de plumas). Para ello se utilizaron tanto los datos espectroscópicos brutos (log 1/R), como dichos datos tras aplicación de derivadas (2,10,5,1) y el tratamiento de corrección de la radiación dispersa denominado “Standar Normal Variate and Detrending” (ISI, 2000).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir del espectro de las muestras del colectivo de aprendizaje UCO, se obtuvieron valores medios para los espectros de vacuno (n = 1), ave (n = 56), porcino (n = 16), mezcla de vacuno-ave (n = 1), mezcla de vacuno-porcino (n = 3), mezcla de ave-porcino (n = 1), sangre (n = 1), pescado (n = 8), hidrolizado de pluma (n = 1), pluma (n = 1) y mezcla de vacuno-ovino-porcino-ave (n = 189). Si bien en algunos casos las diferencias son evidentes, entre algunos tipos de harinas, incluso cuando se utilizan los datos sin ningún tipo de pre-tratamiento, en general la corrección de los datos espectroscópicos mediante el tratamiento SNV + DT permite un mejor rescate de información relevante para cada tipo de harina y en diferentes regiones espectrales. En la figura 1 se pueden observar los espectros medios de los distintos tipos y/o especies de harinas proteicas del colectivo de aprendizaje, para una de las regiones en las que de forma visible es posible observar diferencias entre diferentes tipos de harinas.

Figura 1. Espectros medios de los tipos de harinas pertenecientes a la biblioteca de referencia (colectivo de aprendizaje UCO) y de las muestras de validación externa (EFPRA)



En ella se observa que independientemente de la harina de sangre, que claramente se distingue del resto, no sólo en esta región, sino a largo de todo el rango de medida del instrumento utilizado (400-2500 nm), los diferentes tipos de harinas muestran diferencias evidentes en la región comprendida entre los 1680 y los 1780 nm.

Así mientras el espectro medio de harina de pescado no presenta ningún pico prominente en las proximidades de los 1700 nm, otras harinas como por ejemplo la harina de plumas presenta dos picos relevantes a 1694 y 1728 nm. En cambio, la harina de plumas hidrolizada, si bien mantiene a 1728 nm un pico de absorción relevante, el existente a 1694 nm es menos acentuado que en el caso de la harina de plumas. El resto de harinas del colectivo de aprendizaje, presentan un máximo de absorción claramente diferenciado aproximadamente a 1728 nm y un pequeño hombro aproximadamente a 1762 nm. La existencia de diferencias netas entre los diferentes tipos de harinas en esta región próxima a los 1700 nm podría tener su origen en la existencia de diferencias en el contenido y tipo de ácidos grasos en cada una de estas harinas. De hecho diferentes autores han mostrado la importancia de las bandas de absorción a 1680, 1710, 1725, 1760 y 1800 nm para describir diferencias en las características del perfil de ácidos grasos de una determinada grasa y, particularmente, en la relación de ácidos grasos saturados *vs.*insaturados (Murray. 1987; Sato et al, 1991; Hourant, et al. 2000; Garrido et al., 2004).

Una vez identificadas las características de absorción relevantes en dicha región, para el espectro medio del colectivo de aprendizaje UCO, se unieron a dicha

biblioteca espectral los espectros de las muestras suministradas por EFPRA como muestras ciegas, sin ningún tipo de identificación. Las muestras denominadas 13673 y 13676 fueron identificadas como harina de plumas hidrolizada, por su similitud con el espectro medio de las muestras de pluma hidrolizada de la biblioteca espectral UCO. De igual forma la muestra 13682 fue identificada como harina de sangre y la muestra 13683, como harina de pescado. Estas identificaciones realizadas únicamente en base a la información espectral fueron confirmadas como correctas posteriormente por el EFPRA.

Aunque, con excepción de la muestra 13668, el resto de muestras del EFPRA que constituían el colectivo de validación no se muestren en la figura, es de resaltar que todas ellas, al igual que la muestra 13668 presentaban un máximo prominente a 1728 nm y un pequeño hombro aproximadamente a 1762 nm. Ello de una parte las excluye como muestras de pluma, sangre o pescado, y las asimila al resto de categorías, siendo por el momento imposible el asignar las mismas a una categoría o especie concreta. Es evidente que la estrategia de detección de bandas de absorción relevantes no parece ser suficiente para distinguir entre aves, cerdo, rumiantes y sus mezclas, siendo más recomendable el utilizar otras estrategias de análisis quimiométrico cuantitativo y cualitativo, que permitan un mayor rescate de características genuinas de cada una de estas clases. De hecho trabajos preliminares realizados en nuestro Departamento, muestran que es posible utilizar modelos cuantitativos, para predecir el porcentaje de un determinado tipo de harina (ave, cerdo, rumiante, no rumiante) en una muestra de harina de origen animal y asimismo clasificar mediante análisis discriminante dicha harina en la categorías ave, cerdo, mezcla o rumiantes y no rumiantes (de la Haba et al., 2004).

En conclusión, la identificación clara de tres categorías comerciales de harinas de origen animal (sangre, plumas y pescado) del resto de harinas (ave, cerdo, rumiantes, mezcla), en base únicamente a su huella espectral NIRS, es de enorme repercusión económica tanto para el sector productor de dichas harinas, como para el sector de fabricación de piensos, en tanto que abre expectativas, para facilitar el posible levantamiento de la prohibición de uso de estas harinas en piensos de animales de producción.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Boix A., von Holst C., Baeten V., Berben G., Vancutsem, J. 2004. Final report. Nº SANCO/17 04 02/04/SI2.373351.

CE 2002. EC Reglamento Nº 1774/2002 de 10 Octubre 2002. *Diario Oficial de la Unión Europea.* **273,** 0001 (2002).

De la Haba, M.J., Garrido-Varo, A., Guerrero, J.E, Pérez-Marín, D. y Burón. T. 2004, en *Near Infrared Spectroscopy: Proceedings of the 11th International Conference*. Ed. by A.M.C. Davies y A. Garrido-Varo. NIR Publications, Chichester, p. 647.

Downey, G. 2000, en D. Bertrand and E. Dufour (ed) La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques. Editions TEC & DOC, Paris, France, p. 397-422

Garrido, A, García Olmo, J., Pérez Marín, D. 2004, en: NIRSpectroscopy in Agriculture. C.Roberts, J. Workman and J. Reeves, eds. American Society of Agronomy (ASA), Crop Science Society of America (CSSA) and Soil Science Society of America (SSSA), 487-558).

Hourant, P., V. Baeten, M.T. Morales. M. Meurens, R. Aparicio. 2000. Appl. Spectrosc. 54:1168-1174.

ISI, 2000. Manual. FOSS NIRSystems/TECATOR. Infrasoft International, LLC. Sylver Spring MD, USA.

Jorgensen, J.S. (ed) 1998. Report of the Workshop on Identification of animal ingredients in compound feeds focusing on the microscopic method for identification, 25-26 May, Lyngby, Denmark. European Union, Committee of Experts of Methods Analysis (CEMA), Directorate General VI, SMT Program, Brussels, 1-8.

Mc Elhinney, J., Downey, G. y Fearn, T. 1999. *J. Near Infrared Spectroscopy*. **7**, 145.

Murray, I. 1987, en Int. NIR/NIT Conference, Akadémiai Kiadó. Budapest. Hungary. p.13-28.

Murray, I., Aucott, L.S. y Pike, I.H. 2001 *J. Near Infrared Spectroscopy*. **9**, 297.

Naes, T. y Hildrum, K.I. 1997. Applied Spectroscopy, **51 (3)**, 350.

Sato, T., S. Kawano,M. Iwamoto. 1991. J. Am. Oil Chem. Soc. 68:827-833.

Thyholt, K., Indahl, U.G., Hildrum, K.I. y Ellekjaer, M.R. 1997. *J. Near Infrared Spectroscopy*. **5**, 195.

van Raamsdonk, L.W.D, van der Voet, H. 2003. Report 2003.012.