

ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO CERCANO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE GRASA DE ORIGEN ANIMAL PRESENTE EN MEZCLAS LIPÍDICAS

J. Bautista, A. Garrido, J.E. Guerrero, D. Pérez Marín
Dpto. Producción Animal. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos y de Montes.
Universidad de Córdoba. Campus Rabanales, Edif. Producción Animal, 14014 Córdoba.
pa1gavaa@uco.es

INTRODUCCIÓN

Las grasas animales son uno de los subproductos de origen animal más apreciados en el mundo de la fabricación de piensos, tanto desde el punto de vista nutricional como comercial (Woodgate y Jvan der Veen, 2004). A pesar de que a nivel de la comunidad científica se ha manifestado en numerosos documentos (Horn *et al.*, 2001) que la transmisión de la Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB) se atribuye a la ingestión de proteína de origen animal infectada por el agente infeccioso (prión), la mayor parte de estos documentos también abordan ciertas dudas sobre la posibilidad de transmisión que podrían poseer las grasas animales, debido fundamentalmente a su mayor o menor contenido en impurezas de tipo proteico. De ahí que, como medida preventiva, el Comité Científico Director que aconseja a la Comisión Europea sobre temas multidisciplinares, incluidos los temas relacionados con la EEB (SSC, 2003), recomendara no usar las grasas fundidas de rumiantes en la alimentación de éstos. La falta de prohibiciones concretas ha provocado una cierta flexibilidad en la interpretación de las recomendaciones de los dictámenes científicos en relación al uso de grasas. Así, Francia y Alemania han prohibido el uso de todas las grasas animales (CE, 2005) y EEUU ha prohibido el uso de la grasa animal proveniente de países afectados por la EEB (FDA, 2005).

Cumplir de una forma eficiente, ágil, innovadora y de bajo coste con las exigencias del mercado y de la legislación, relativas a la comercialización y uso de grasas animales, precisa de un salto cualitativo en la estrategia de control analítico de grasas y aceites. La Espectroscopía de Infrarrojo Cercano (NIRS) ha demostrado que es una candidata idónea para poder abordar dicho salto cualitativo con garantías de éxito. Sin embargo, existe una ausencia de conocimiento en relación a la utilización de métodos rápidos, precisos y automatizados, para la cuantificación de la presencia de grasa de origen animal en mezclas lipídicas (Garrido *et al.*, 2004). El objetivo del presente trabajo es el desarrollo y la evaluación de modelos quimiométricos NIRS cuantitativos para la predicción del porcentaje de diferentes tipos de grasas de origen animal presentes en mezclas lipídicas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han utilizado dos colectivos de trabajo. El grupo de calibración estaba formado por 88 muestras, de las cuales 56 eran mezclas experimentales realizadas en laboratorio, 16 eran muestras de grasa animal recogidas de plantas de procesamiento de subproductos animales y 16 muestras eran aceite de soja y provenían de una planta de producción de fuentes lipídicas vegetales. El colectivo de validación estuvo constituido por un total de 20 muestras (grasa animal, aceite vegetal de soja y mezclas artificiales). Las mezclas fueron realizadas mediante adición de porcentajes de grasa animal del 0,5 al 32%, en intervalos de 0,5%.

Las muestras de grasa animal fundida fueron analizadas en un espectrofotómetro monocromador de espectro continuo FOSS NIRSystems 6500 I, equipado con módulo de giro, que trabaja en reflectancia en la región del espectro comprendida entre 400 y 2500 nm. Se eligió la doble transmisión como modo de análisis, empleando para ello la cápsula circular con fondo reflectante de oro y 0,1 mm de paso óptico. Se recogieron dos espectros por muestra en dos cápsulas diferentes, utilizándose para el estudio posterior el espectro medio.

Para el tratamiento quimiométrico de los datos espectroscópicos y químicos generados se empleó el software WinISI 1.05 (ISI, 2000). Los espectros fueron pre-tratados mediante derivación y tratamiento para la reducción del efecto “scatter”, previamente a la obtención de modelos de regresión MPLS (Modified Partial Least Squares) entre los datos espectroscópicos y el porcentaje de grasa animal/soja en una mezcla. Los estadísticos utilizados para la selección de las mejores ecuaciones de calibración fueron: el error típico de los residuales para el colectivo de calibración (ETC) y para el de validación cruzada (ETVC), el coeficiente de determinación para el proceso de validación cruzada y de validación externa (R^2), el RPD (DT/ETVC) y el RER (Rango/ETVC). Para el proceso de validación se utilizó el procedimiento desarrollado por Shenk *et al.* (1989) que, entre otros, utiliza los valores de error típico de predicción con y sin corregir por el sesgo (ETP y ETP (C)).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las ecuaciones obtenidas tanto para la predicción del porcentaje de aceite vegetal como de grasa animal (Tabla 1) presentan una elevada capacidad predictiva, con porcentajes de la varianza explicada de más del 99% en todos los casos y valores de RPD y RER muy elevados.

Tabla 1. Estadísticos de calibración para la predicción del porcentaje de grasa animal y de vegetal en mezclas de aceite de soja y grasa animal.

Constituyente	Derivada	N	Media	DT	Rango	R^2	ETVC	RER	RPD	CV
% Aceite Vegetal	1,10,5,1	79	87,77	10,79	0-100	0,9987	1,072	93,27	27,84	1,38
	2,10,5,1	82	87,77	10,79	0-100	0,9989	1,067	93,64	29,68	1,41
% Grasa Animal	1,10,5,1	79	26,68	29,83	0-100	0,9980	1,076	92,89	27,72	4,85
	2,10,5,1	80	27,64	30,79	0-100	0,9989	0,983	101,6	30,17	4,45

N: número de muestras de calibración; DT: desviación típica; R^2 : coeficiente de determinación; ETVC: error típico de validación cruzada; RER: ratio rango/ETVC; RPD: ratio DT/ETVC; CV: coeficiente de variación

Tabla 2. Estadísticos de validación externa (N = 20) de las calibraciones mostradas en la Tabla 1.

Constituyente	Derivada	Media	ETP	ETP(c)	Sesgo	R^2_v	Pendiente
% Aceite Vegetal	1,10,5,1	62,875	1,304	1,306	0,281	0,999	0,982
	2,10,5,1	62,875	1,84	1,888*	0,026	0,998	0,985
% Grasa Animal	1,10,5,1	37,125	1,317	1,319	0,288	0,999	0,982
	2,10,5,1	37,125	1,565	1,605*	0,043	0,999	0,988

R^2_v : coeficiente de determinación para la validación externa; ETP: error típico de predicción; ETP(c): error típico de predicción corregido por el sesgo

Los estadísticos de validación externa de las ecuaciones reflejadas en la Tabla 1 se presentan en la Tabla 2. En dicha tabla se observa que, para la segunda derivada, los valores de ETP son superiores a los valores obtenidos con la primera derivada, e incluso los valores de ETP(c) superan los límites de control establecidos por Shenk *et al.* (1989), esto

es (ETP (C) limite = ETC x 1,3). Teniendo en cuenta el procedimiento estadístico de validación externa recomendado por dichos autores, las calibraciones obtenidas utilizando primera derivada resultan excelentes, tanto para la predicción del porcentaje de aceite vegetal como de grasa animal, en muestras que no han intervenido en el desarrollo de las calibraciones. Un Proyecto de Investigación recientemente financiado por la Food Standard Agency del Reino Unido, ha puesto de manifiesto que el contenido en más de una decena de fracciones de colesterol analizados mediante métodos cromatográficos sólo permite detectar, con una fiabilidad del 95%, un nivel de adicción del 10% de grasa animal en grasas vegetales y de pescado (Brereton, 2003).

Como se deduce de los datos de la Tabla 2, teniendo en cuenta el valor más bajo del ETP obtenido (1,30%), podemos afirmar que las ecuaciones desarrolladas permitirían detectar correctamente en el 90, 95 y 99 % de los casos, las muestras de aceite de soja que han sido mezcladas con porcentajes de grasa animal de 1,30, 2,60 y 3,60 %, respectivamente. Estos niveles de detección son muy inferiores a los obtenidos por Brereton (2003), el cual utilizando métodos químicos de alto coste y tiempo de análisis (HPLC), sólo pudo detectar, con un nivel de probabilidad del 95%, la presencia de grasa animal en mezclas que contienen un 10% de grasa animal.

Podemos concluir que la elevada precisión y exactitud de las ecuaciones NIRS desarrolladas, las cuales permiten detectar cantidades tan bajas como el 0,5% de grasa animal en aceite de soja, confirman que la tecnología NIRS podría ser utilizada para asegurar el cumplimiento de normativas vigentes relativas a la prohibición de usos de grasas de origen animal.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se ha desarrollado en el marco de los Proyecto INIA CAL02-018-C2-2 financiado por el MAPA, utilizando el equipamiento e infraestructura del SCAI (Unidad NIR/MIR) de la UCO y del Dpto. de Producción Animal de la ETSIAM de Córdoba. Nuestro agradecimiento a las empresas que han colaborado en el suministro de muestras (ARTABRA, S.A. RENDERGRASAS, S.L. RIOSA, SAPROGAL y CANUTO VILLA)

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Brereton, P. (2003). Research Project Final Report. FSA, London. pp. 39
- CE (2005). Diario Oficial No L205 de 06.08.2005. pp. 0003-0011.
- FDA. (2005). Environmental Assessment for amendments to 21 CFR 589. Substances prohibited from use in animal food and feed. Federal Drug Administration. www.fda.gov/oc/opacom/hottopics/bse.html
- Garrido A., García Olmo, J., Pérez Marín D. (2004). Near-Infrared Spectroscopy in Agriculture. Roberts C.A., Workman J. y Reeves III J.B. (eds.). ASA, CSSA y SSSA, Inc., Madison, Wisconsin, EEUU, pp. 487-558.
- Horn, G., Bobrow, M., Bruce, M., Goedert, M., McLean, A., Webster, J. (2001). Review of the origin of BSE. Published by Department for Environment, Food & Rural Affairs: www.defra.gov.uk/animalh/bse/bseorigin.pdf. London, pp. 68.
- ISI. (2000). The complete software solution using a single screen for routine analysis, robust calibrations, and networking. Manual. FOSS NIRSystems/TECATOR. Infrasoft International, LLC. Sylver Spring MD, EEUU
- Shenk, J.S., Westerhaus, M.O., Abrams S.M. En: Near Infrared Spectroscopy (NIRS): Analysis of Forage Quality. USDA. ARS. Agriculture Handbook, nº 643 pp. 104-110.
- SSC (2003). Scientific Steering Committee. [http://www.apag.org/issues / Safety%20Tallow%20Derivatives.pdf](http://www.apag.org/issues/Safety%20Tallow%20Derivatives.pdf)
- Woodgate, S., Jvan der Veen, J. (2004). Biotechno.Agrom.Soc.Environ 8 (4), 283-294.