

# Sonda de infrarrojo cercano como herramienta para evaluar la composición de grasa subcutánea de cerdos alimentados con CLA

María Pérez-Juan<sup>a</sup>, Nils K. Afseth<sup>b</sup>, Joel González<sup>a</sup>, Marina Gispert<sup>a</sup>, Maria Font i Furnols<sup>a</sup>, Isabel Díaz<sup>a</sup>, M. Àngels Oliver<sup>a</sup>, Carolina E. Realini<sup>a</sup>

<sup>a</sup>IRTA Finca Camps i Armet, Monells (Girona), E-17121 Spain.

<sup>b</sup>NOFIMA Mat AS, Osloveien 1, NO-1430 Ås, Norway.

**La espectroscopia de infrarrojo cercano (NIR) es una técnica rápida y no destructiva. En este artículo se presentan los resultados de la aplicación directa de una sonda NIR de contacto sobre tejido adiposo de cerdo.**

**Resumen.** El objetivo de este trabajo fue la utilización de la tecnología de Infrarrojo cercano por aplicación directa de una fibra óptica en tejido adiposo de cerdos alimentados con diferentes dietas (CONTROL, CÍTRICOS y CLA). Para ello, 265 animales fueron alimentados con tres dietas diferentes y se analizó el perfil de ácidos grasos en la grasa del jamón mediante cromatografía de gases y FT-NIR (espectroscopia de infrarrojo cercano con transformada de Fourier). La adquisición de espectros se realizó con un espectrómetro *Optics Matrix-F duplex* de *Bruker* equipado con una sonda de contacto IN-268-2. Los cerdos que fueron alimentados con la dieta enriquecida en CLA mostraron diferencias significativas tanto en la composición de ácidos grasos como en los espectros de NIR ya que la ingesta de CLA aumentó el porcentaje de ácidos grasos saturados (SAT) y poliinsaturados (PUFA) mientras que los monoinsaturados (MUFA) disminuyeron con respecto a las otras dietas. Los resultados sugieren que la espectroscopia de infrarrojo cercano es un método rápido y de fácil implementación para identificar animales alimentados con diferentes dietas.

## I. INTRODUCCIÓN

La espectroscopia de infrarrojo cercano es una técnica rápida y no destructiva que requiere poca o ninguna preparación de muestra y puede conseguir una precisión elevada. En contraste con los métodos químicos tradicionales, no se requieren reactivos y no se producen residuos. La espectroscopia de infrarrojo cercano se ha utilizado para determinar la composición o la ternura de la carne, así como, para el estudio del contenido en ácidos grasos en cortes y músculos de bovino y en canales de cerdo ibérico (Pla et al. 2007).

El ácido linoleico conjugado es un término que engloba los isómeros de posición y geométricos del ácido linoleico (ácido octadecadienoico-*cis*-9, -*cis*-12). Los *cis*-9, *trans*-11 y *trans*-10, *cis*-12 son los más abundantes en la naturaleza (Fritsche et al. 1999). La suplementación de cerdos con CLA se planteó para mejorar los parámetros productivos tales como la eficiencia del índice de conversión y la disminución del espesor de grasa dorsal (Dugan et al. 2004). También para mejorar la calidad tecnológica de los productos cárnicos en aspectos como: el aumento de la firmeza de la grasa (Eggert et al. 2001), las propiedades antioxidantes (Richardson et al. 2006) y la mejora de los beneficios relacionados con la salud en la alimentación humana (Ip et al. 1994). Debido al interés del uso de CLA en la alimentación animal algunos autores han analizado su efecto en el perfil de ácidos grasos (Ramsay et al., 2001; Ostrowska et al., 2003; Szymczyk, 2005; Martin et al., 2007) y en los parámetros de calidad en canal y carne (Martin et al., 2007; Martin et al., 2008; Corino et al., 2008; Dunshea et al., 2002). El objetivo de este trabajo fue la utilización de la tecnología NIR mediante la aplicación directa de la sonda de fibra óptica para la evaluación de la composición de la grasa de cerdos alimentados con diferentes dietas (CONTROL, CÍTRICOS y CLA).

## II. MATERIALY MÉTODOS

### **Animales y Dietas**

265 animales (hembras y machos enteros) fueron alimentados con tres dietas con diferente composición. CONTROL: comercial estándar; CÍTRICOS: control enriquecida con antioxidantes (flavonoides y vitamina C derivados de la industria de los cítricos, Biocitro®) y CLA: control enriquecida con ácido linoleico conjugado. Los cerdos se sacrificaron con un peso vivo de 115 kg.

### **Muestras de grasa subcutánea del jamón**

Muestras de 10x6 cm con la piel se extrajeron del *Gluteus medius* de cada canal a las 24h *post mortem*. 1, 2 y 3 fueron los puntos de medida (Figura 1).

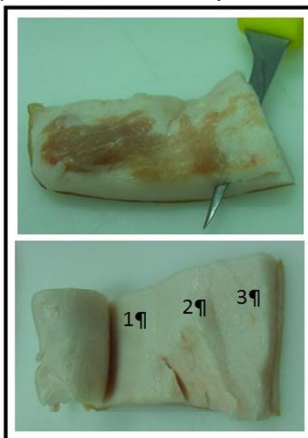


Figura 1. Muestras de grasa subcutánea del jamón.

### **Espectroscopia de Infrarojo cercano (FT-NIR)**

Las medidas de NIR se hicieron en 3 puntos diferentes a lo largo de la muestra. Los espectros FT-NIR se adquirieron utilizando un espectrómetro Bruker Optics Matrix-F duplex (Figura 2) equipado con una sonda de reflectancia difusa de fibra óptica para sólidos (IN-268-2) que trabaja en el rango de  $11000\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$  (909–2500 nm). La resolución espectral se fijó a  $8\text{ cm}^{-1}$ . Los espectros se adquirieron realizando 24 scans en la referencia y en la muestras.



Figura 2. Espectrómetro Bruker Optics Matrix-F duplex equipado con una sonda de reflectancia difusa de fibra óptica para sólidos.

### **Análisis de Ácidos Grasos**

Los lípidos de las muestras de grasa se extrajeron con cloroformo-metanol siguiendo el procedimiento de Folch et al., (1957), convirtiéndolos a ésteres metilados de los ácidos grasos (FAME) siguiendo el método ISO 5509-1978 y analizados en un cromatógrafo de gases (Hewlett-Packard 5890 Series II GC, S.A, Barcelona, Spain) utilizando tripentadecanoín (T4257, Sigma-Aldrich, Madrid, Spain) como patrón interno.

### **Análisis estadístico**

Se realizó un análisis de componentes principales (ACP) de los 18 ácidos grasos más abundantes obtenidos tanto por cromatografía de gases como de los espectros de NIR. Todos los modelos de ACP se validaron utilizando validación cruzada con segmentos de 3 como tamaño de muestra. Las muestras de todos los segmentos fueron seleccionadas aleatoriamente.

### III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### A. Análisis de Ácidos Grasos

La tabla 1 muestra la composición de los ácidos grasos de las muestras de grasa de los cerdos alimentados con las tres dietas (CONTROL, CÍTRICOS y CLA). No se observaron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) en la composición de ácidos grasos entre la dieta CONTROL y la de cítricos excepto para el ácido mirístico que fue superior en la grasa de los animales alimentados con la dieta cítricos. La grasa de los cerdos alimentados con CLA mostró diferencias para todos los ácidos grasos excepto para C18:2 n-6 y C18:3 n-3. Los cerdos alimentados con CLA mostraron un mayor porcentaje de mirístico, palmítico, esteárico y los dos isómeros del CLA *cis*-9,*trans*-11 y *trans*-10,*cis*-12 y menor porcentaje de oleico y vaccénico en comparación a los cerdos alimentados con la dieta CONTROL. La grasa de los cerdos alimentados con CLA presentó un mayor porcentaje de ácidos grasos saturados totales y poliinsaturados pero un menor porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados totales en comparación con la dieta CONTROL y con CÍTRICOS. Estos resultados concuerdan con los datos previamente publicados que indican que la alimentación de los cerdos con CLA modifica el perfil de ácidos grasos, aumentando la proporción de ácidos grasos saturados de los diferentes depósitos grasos mientras que la proporción de monoinsaturados disminuye (Fritsche et al., 1999; Glaser et al., 2002). Esto produce que la grasa sea más fluida y se considera como una característica positiva de calidad para las industrias cárnicas (Ruiz y Lopez-Bote, 2002). Aunque el aumento de los ácidos grasos saturados podría ser negativo desde el punto de vista de la salud humana, simultáneamente existe un incremento de los isómeros de CLA (ácidos grasos poliinsaturados) en el tejido adiposo del cerdo alimentado con dietas enriquecidas en CLA, que podría contrarrestar este efecto negativo (Ruiz y Lopez-Bote, 2002).

**Tabla 1.** Porcentaje relativo de los ácidos grasos de la grasa subcutánea de cerdos alimentados con tres dietas diferentes (CONTROL, CÍTRICOS y CLA) determinados por cromatografía de gases. Los resultados se expresan como medias por mínimos cuadrados  $\pm$  error estándar.

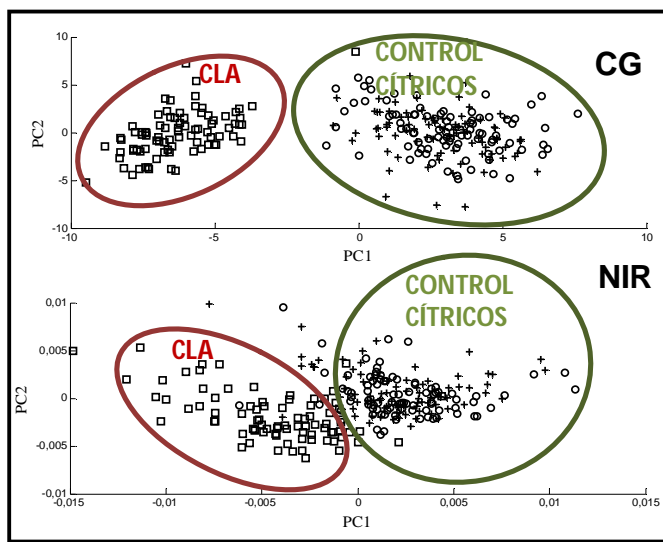
Ácidos grasos	DIETA		
	CONTROL	CÍTRICOS	CLA
<b>C14:0 (mirístico)</b>	1.31 <sup>b</sup> $\pm$ 0.02	1.38 <sup>c</sup> $\pm$ 0.02	1.81 <sup>a</sup> $\pm$ 0.02
<b>C16:0 (palmítico)</b>	19.13 <sup>b</sup> $\pm$ 0.16	19.48 <sup>b</sup> $\pm$ 0.16	20.57 <sup>a</sup> $\pm$ 0.17
<b>C18:0 (esteárico)</b>	8.98 <sup>b</sup> $\pm$ 0.11	9.01 <sup>b</sup> $\pm$ 0.11	13.47 <sup>a</sup> $\pm$ 0.11
<b>C18:1 n-9 (oleico)</b>	38.02 <sup>a</sup> $\pm$ 0.14	37.82 <sup>a</sup> $\pm$ 0.14	30.24 <sup>b</sup> $\pm$ 0.14
<b>C18:1 n-7 (vaccénico)</b>	2.75 <sup>a</sup> $\pm$ 0.02	2.79 <sup>a</sup> $\pm$ 0.02	2.15 <sup>b</sup> $\pm$ 0.02
<b>C18:2 n-6 (linoleico)</b>	22.51 <sup>ab</sup> $\pm$ 0.20	22.17 <sup>b</sup> $\pm$ 0.20	22.76 <sup>a</sup> $\pm$ 0.20
<b>C18:3 n-3 (<math>\alpha</math>-linolénico)</b>	1.59 <sup>a</sup> $\pm$ 0.02	1.59 <sup>a</sup> $\pm$ 0.02	1.57 <sup>a</sup> $\pm$ 0.02
<b>CLA9_11</b>	0.02 <sup>b</sup> $\pm$ 0.01	0.03 <sup>b</sup> $\pm$ 0.01	1.63 <sup>a</sup> $\pm$ 0.01
<b>CLA10_12</b>	0.00 <sup>b</sup> $\pm$ 0.01	0.01 <sup>b</sup> $\pm$ 0.01	0.90 <sup>a</sup> $\pm$ 0.01
<b>SAT</b>	29.90 <sup>b</sup> $\pm$ 0.24	30.37 <sup>b</sup> $\pm$ 0.24	36.52 <sup>a</sup> $\pm$ 0.25
<b>MUFA</b>	44.49 <sup>a</sup> $\pm$ 0.16	44.38 <sup>a</sup> $\pm$ 0.16	35.34 <sup>b</sup> $\pm$ 0.16
<b>PUFA</b>	25.60 <sup>b</sup> $\pm$ 0.22	25.25 <sup>b</sup> $\pm$ 0.22	28.14 <sup>a</sup> $\pm$ 0.23

<sup>a,b,c</sup> indican diferencias significativas para cada ácido graso entre las dietas ( $P < 0.05$ ).

#### B. NIR

En la figura 3 se comparan los resultados de los análisis de componentes principales (ACP) de los ácidos grasos más abundantes obtenidos tanto por CG como de los datos espectrales (NIR). Al analizar el gráfico que corresponde al análisis por cromatografía de gases se observa que la información química disponible permite diferenciar 2 grupos mediante el análisis por componentes principales. El grupo mayoritario incluye las muestras de los animales alimentados con la dieta CONTROL Y CÍTRICOS. Los perfiles de ácidos grasos de estas muestras fueron similares ya que los flavonoides presentes en la dieta CÍTRICOS no parecen interferir significativamente en el metabolismo de los ácidos grasos. El segundo grupo,

minoritario, corresponde a las muestras de los animales alimentados con CLA que mostraron mayores porcentajes de ácidos grasos saturados y poliinsaturados y menor porcentaje de monoinsaturados comparados con las otras dos dietas (tabla 1). La misma tendencia a separar dos grupos, aunque en menor grado, se observó en el gráfico correspondiente a los espectros de NIR. El gráfico de ACP utilizando los datos químicos muestra que las primeras dos componentes explican el 94% de la variación de los datos, mientras que el ACP utilizando los espectros NIR explica el 71% de la variación. Sin embargo, estos espectros se obtuvieron de muestras de grasa sin ningún tratamiento previo lo que evidencia el potencial uso del NIR para una separación rápida de los efectos de la dieta en el tejido adiposo.



**Figura 3.** Análisis CP de los ácidos grasos más abundantes obtenidos por Cromatografía de Gases (gráfico superior, CP1 y CP2 explican el 74 y 20%, respectivamente) y análisis CP de los espectros NIR de las mismas muestras (gráfico inferior, CP1 y CP2 explican 45% y 26%, respectivamente). Las muestras se representan por el tipo de dieta (CONTROL: círculos, CÍTRICOS: signo de suma, y CLA: cuadrados).

#### IV. CONCLUSIÓN

Los datos químicos y los espectros de NIR mostraron diferencias en la composición de los ácidos grasos de la grasa de cerdos alimentados con CLA (incrementa el porcentaje relativo de los ácidos grasos saturados y poliinsaturados y disminuye el porcentaje de monoinsaturados) en comparación con las dietas CONTROL y CÍTRICOS. La espectroscopia de infrarrojo cercano mostró un alto potencial como método rápido y fácilmente implementable para la identificación de canales de animales alimentados con diferentes dietas que produzcan diferente grado de saturación de la grasa.

#### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el Grup Baucells Alimentació S.A (Tona, Barcelona, España).

#### BIBLIOGRAFÍA

- Corino, C., M. Musella, G. Pastorelli, R. Rossi, K. Paolone, L. Costanza, A. Manchisi, and G. Maiorano. 2008. Influences of dietary conjugated linoleic acid (CLA) and total lysine content on growth, carcass characteristics and meat quality of heavy pigs. *Meat Science* 79 (2):307-316.
- Dugan, M. E. R., J. L. Aalhus, and J. K. G. Kramer. 2004. Conjugated linoleic acid pork research. *American Journal of Clinical Nutrition* 79 (6):1212S-1216S.
- Dunsha, F. R., E. Ostrowska, B. Luxford, R. J. Smits, R. G. Campbell, D. N. D'Souza, and B. P. Mullan. 2002. Dietary conjugated linoleic acid can decrease backfat in pigs housed under commercial conditions. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 15 (7):1011-1017.
- Eggert, J. M., M. A. Belury, A. Kempa-Steczko, and S. E. S. Mills, A.P. 2001. Effects of conjugated linoleic acid on the belly firmness and fatty acid composition of genetically lean pigs. *Journal of Animal Science* 79:2866-2872.

- Fritsche, J., R. Rickert, H. Steinhart, M. P. Yurawecz, M. M. Mossoba, N. Sehat, J. A. G. Roach, J. K. G. Kramer, and Y. Ku. 1999. Conjugated linoleic acid (CLA) isomers: formation, analysis, amounts in foods, and dietary intake. *Fett-Lipid* 101 (8):272-276.
- Glaser, K. R., C. Wenk, and M. R. L. Scheeder. 2002. Effects of feeding pigs increasing levels of C 18 : 1 trans fatty acids on fatty acid composition of backfat and intramuscular fat as well as backfat firmness. *Archives of Animal Nutrition-Archiv Fur Tierernahrung* 56 (2):117-130.
- Ip, C., M. Singh, H. J. Thompson, and J. A. Scimeca. 1994. Conjugated linoleic acid suppresses mammary carcinogenesis and proliferative activity of the mammary gland in the rat. *Cancer Research. (Oxf.)*. 54:1212-1215.
- Martin, D., T. Antequera, E. Gonzalez, C. Lopez-Bote, and J. Ruiz. 2007. Changes in the fatty acid profile of the subcutaneous fat of swine throughout fattening as affected by dietary conjugated linoleic acid and monounsaturated fatty acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55 (26):10820-10826.
- Martin, D., E. Muriel, E. Gonzalez, J. Viguera, and J. Ruiz. 2008. Effect of dietary conjugated linoleic acid and monounsaturated fatty acids on productive, carcass and meat quality traits of pigs. *Livestock Science* 117 (2-3):155-164.
- Ostrowska, E., R. F. Cross, M. Muralitharan, D. E. Bauman, and F. R. Dunshea. 2003. Dietary conjugated linoleic acid differentially alters fatty acid composition and increases conjugated linoleic acid content in porcine adipose tissue. *British Journal of Nutrition* 90 (5):915-928.
- Pla, M., P. Hernandez, B. Arino, J. A. Ramirez, and I. Diaz. 2007. Prediction of fatty acid content in rabbit meat and discrimination between conventional and organic production systems by NIRS methodology. *Food Chemistry* 100 (1):165-170.
- Ramsay, T. G., C. M. Evoke-Clover, N. C. Steele, and M. J. Azain. 2001. Dietary conjugated linoleic acid alters fatty acid composition of pig skeletal muscle and fat. *Journal of Animal Science* 79 (8):2152-2161.
- Richardson, R. I., J.D. Wood, K. Hallett, A.V. Fisher, and K. J. Shingfield. 2006. Effect of encapsulated conjugated linoleic acid on meat quality, carcass and fatty acid composition of beef steers. *52nd International Congress of Meat Science and Technology* (689-690):689.
- Ruiz, J., and C. Lopez-Bote. 2002. Improvement of dry-cured ham quality by lipid modification through dietary means. *Research Advances in the Quality of Meat and Meat Products*:255-271.
- Szymczyk, B. 2005. Effects of conjugated linoleic acid (CLA) on fatty acid composition, lipid oxidation and quality of pork meat. *Annals of Animal Science* 5 (1):145-157.