



Detección y cuantificación de proteínas animales en piensos por micrografía y reflectancia en el infrarrojo cercano más inteligencia artificial. Diferenciación de especies por polimerasas

Referencia: AGL2002-03131. Organismo financiador: Ministerio de Educación y Ciencia. Importe: 96.600 €. Duración: 2003–2006.

| <i>Equipo investigador</i> | <i>Organismo</i> |
|----------------------------|------------------|
| Begoña de la Roza Delgado | SERIDA |
| Adela Martínez Fernández | SERIDA |
| Ana Soldado Cabezuelo | SERIDA |
| Fernando Vicente Mainar | SERIDA |
| Félix María Goyache Goñi | SERIDA |
| Antonio Bahamonde | Univ. Oviedo |
| José Ramón Quevedo | Univ. Oviedo |
| Pablo Presa Martínez | Univ. Vigo |
| Montserrat Pérez Rodríguez | Univ. Vigo |

Equipo técnico

Sagrario Madroño Lozano (Analista Laboratorio)
Alfonso Carbayal (Operario Ordenador)
Reyes Galiano García (Analista Laboratorio)
Roxana González Álvarez (Aux. Laboratorio)
Cristina Cueto Álvarez (Aux. Laboratorio)

Resumen y avance de resultados

Se pretende estandarizar una metodología de determinación de harinas animales en alimentos para ganado haciendo uso de la tecnología NIR con el apoyo de la inteligencia artificial, e identificar la especie animal de procedencia de las harinas mediante PCR.

Modelos de predicción NIR con apoyo de Inteligencia Artificial (Support Vector Machin: SVM)

Se estableció una población de calibración con 714 muestras de piensos compuestos, recogiendo la información espectral de cada una de las muestras en forma intacta en un equipo 6500 FossNIRSystem, en el rango 400-2500 nm. Dichas muestras se utilizaron como

colectivo de entrenamiento para el desarrollo del sistema de aprendizaje automático, haciendo uso de las máquinas de soporte de vectores (SVM). Se desarrollaron sistemas de clasificación para discriminar entre muestras contaminadas (C) y no contaminadas (NC), en tres categorías: contaminadas con harinas animales (HA); contaminadas sólo con harina de carne (HC) y/o harina de pescado (HP). En la tabla 1, se muestran los resultados de clasificación obtenidos en el desarrollo de los modelos.

Tabla 1.–Clasificación espectral NIRS de piensos compuestos con apoyo de Inteligencia Artificial

| | Categoría | C | NC | Dudosa |
|----|-----------|-----|-----|--------|
| HA | C | 188 | 0 | 0 |
| | NC | 4 | 341 | 1 |
| HC | C | 107 | 1 | 0 |
| | NC | 6 | 348 | 1 |
| HP | C | 90 | 0 | 0 |
| | NC | 3 | 267 | 2 |

HA; HC y HP: Modelos de clasificación para detección de harinas animales; harinas de carne y harinas de pescado, respectivamente; C: Contaminadas; NC: No contaminadas.

Se puede afirmar que el sistema comete un error pequeño en la clasificación del colectivo de aprendizaje. Todos los modelos fueron validados externamente con un colectivo de 18 muestras reales de piensos compuestos, clasificando todas ellas correctamente.

PCR a tiempo real

Se estableció una metodología analítica para la identificación de las especies animales integrantes de las harinas cárnicas (cerdo, vaca,



conejo, etc.) así como de pescado, mediante PCR cuantitativa, empleando un termociclador fluorimétrico (7500 System, Applied Biosystems). Sobre el gen mitocondrial del citocromo b y usando el "Sequence Detection Software 1.2, Primer Express 2.0", se diseñó una pareja de primers, directo e inverso y una sonda TaqMan® MGB para cada una de las especies establecidas. La cuantificación de aves fue realizada con SYBR® Green, fluoróforo intercala-

tivo que se une a todo el ADN que esté en forma de doble cadena, produciendo fluorescencia cuando se intercala en el surco menor bicatenario. En el colectivo de muestras de validación (n= 18) no ofreció ningún resultado falso positivo o falso negativo, si bien en la cuantificación de ADN de aves, se situó en la mayoría de los casos por debajo del límite de cuantificación de la técnica (0.5 ± 0.1 ng de ADN).

