



Aplicaciones de la espectroscopía en el infrarrojo cercano (NIRS) para el control de calidad de la carne

EDUARDO ARIAS GONZÁLEZ. Área de Sistemas de Producción Animal. eduarías8@gmail.com

YOLANDA DINEIRO GARCÍA. Área de Sistemas de Producción Animal. ydineiro@serida.org

PEPA GARCÍA ESPINA. Área de Sistemas de Producción Animal. mjgarcia@serida.org

MAMEN OLIVÁN GARCÍA. Área de Sistemas de Producción Animal. mcolivan@serida.org

VERÓNICA SIERRA SÁNCHEZ. Área de Sistemas de Producción Animal. veroniss@serida.org

Introducción

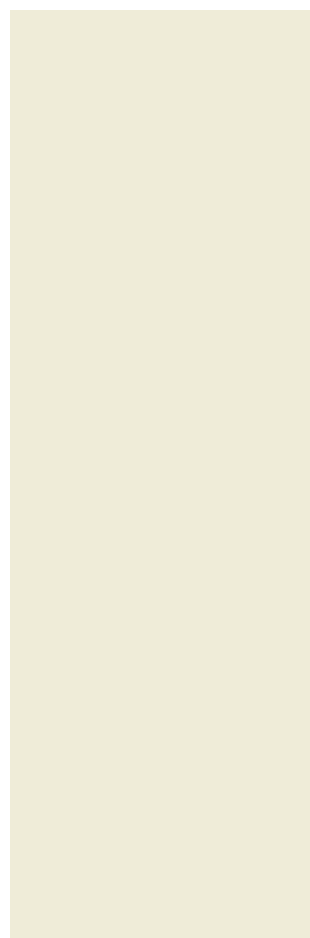
Garantizar la calidad de los productos que llegan al mercado es crucial para el sector agroalimentario; para ello es fundamental el desarrollo de técnicas fiables que permitan monitorizar la calidad y seguridad de los productos y asegurar su trazabilidad a lo largo de la cadena productiva.

La espectroscopía en el infrarrojo cercano o Tecnología NIRS (acrónimo del inglés "Near Infrared Spectroscopy") es una técnica de creciente implantación en la industria agroalimentaria, debido a sus ventajas sobre los métodos de análisis de calidad tradicionales. La técnica NIRS es rápida, limpia, no destructiva y no invasiva, además, permite obtener información de distintas variables de calidad del producto de forma simultánea y una vez implantada no requiere personal especializado. Esto, junto con el avance tecnológico y el desarrollo de equipamientos cada vez más portables y económicos, ha permitido aumentar su implantación como herramienta analítica eficaz para el control de calidad y seguridad de alimentos y bebidas.

Fundamentos de la espectroscopía NIR

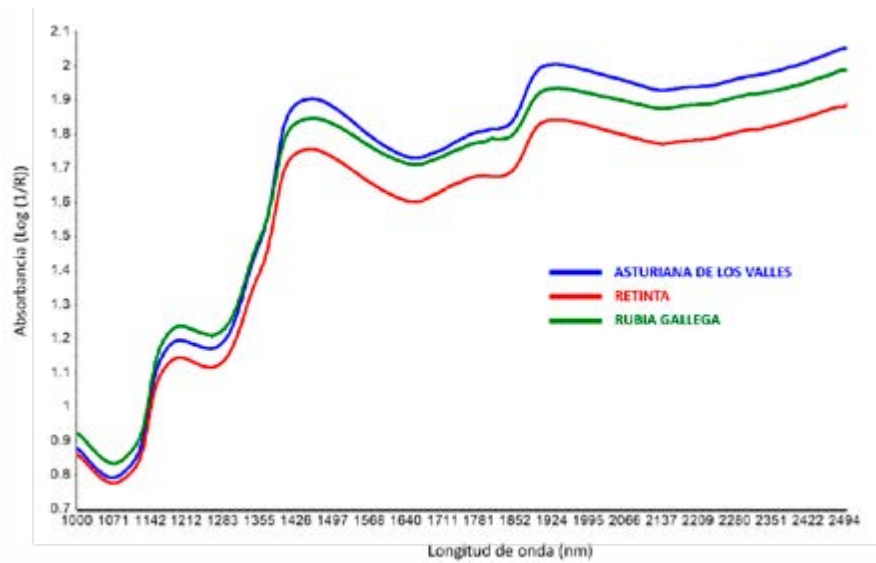
La espectroscopía NIR estudia la interacción de la radiación electromagnética de origen infrarrojo con la materia. La región del infrarrojo abarca la zona del espectro electromagnético comprendida entre el rango visible y las microondas y se divide en tres regiones (cercano, medio y lejano) en función del intervalo de longitudes de onda que abarcan y las variaciones en el estado energético que producen, siendo la de mayor energía la radiación del infrarrojo cercano "NIR", que está comprendida entre 750nm y 2500nm.

La tecnología NIRS se basa en la aplicación de radiación infrarroja sobre una muestra o matriz a analizar, la cual, en función de su composición, es decir, de la naturaleza de los enlaces de sus moléculas, absorberá una cierta cantidad de energía. Este proceso cumple la ley de Lambert-Beer de modo que la absorbancia (A), es decir, la cantidad de energía absorbida por una muestra es directamente proporcional a la concentración de los distintos componentes de dicha muestra. La forma más habitual de



→

Figura 1.- Espectro NIR de absorbancia (1000nm-2500nm) de carne de distintas razas bovinas: Asturiana de los Valles (azul), Retinta (rojo) y Rubia Gallega (verde).



cuantificar dicha absorción de energía es a partir de la medida de la energía reflejada ($A = \log (1/R)$) o transmitida ($A = \log (1/T)$) por la muestra, donde R y T son el valor de reflectancia o transmitancia respectivamente. La representación gráfica de los valores de absorbancia de la muestra a las diferentes longitudes de onda en el rango NIR (750nm-2500nm) dará lugar a una curva denominada espectro NIR.

Las absorciones moleculares en la región NIR están causadas principalmente por enlaces del tipo -CH, -NH y -OH. La suma de las propiedades de absorción y de radiación dispersa de una muestra, determinan el espectro de esa muestra y sus características dependerán tanto de parámetros propios de la muestra a analizar (composición, tamaño, forma y distribución de las partículas, índice de refracción, etc.) como de las características físicas del instrumento de medida (geometría óptica, compartimento de colocación de la muestra, etc.) (Shenk et al., 2001). Por todo ello, el espectro vibracional de una muestra proporciona información de sus características químicas, físicas y sensoriales, y aunque no sea apreciable a simple vista, es único y distinto del de otras muestras semejantes, comportándose como una "huella dactilar" de la muestra.

La aplicación de la espectroscopía NIR permite obtener información tanto cuantitativa como cualitativa de la calidad del producto

analizado. El análisis cuantitativo es el más extendido y se basa en el desarrollo de ecuaciones de calibración que establecen la relación entre los datos espectrales ($\log 1/R$ o $\log 1/T$) y los valores de un determinado atributo de interés, analizado mediante el método de referencia habitual, en un grupo de muestras o población de calibración. A partir de la ecuación de calibración desarrollada y basándose únicamente en la información espectral, se puede predecir el atributo de interés en muestras desconocidas y de características similares a las incluidas en el colectivo de calibración (Figura 2). La capacidad predictiva de una ecuación de calibración se evalúa en función de los valores de distintos estadísticos de calibración como son:

- Coeficientes de determinación (R^2) de calibración y validación, que indican la bondad de ajuste del modelo de regresión y que son mejores cuanto más próximos sean a 1.
- Errores estándar (ET) de calibración o validación, que son los errores asociados a las diferencias existentes entre las medidas de referencia y las predichas, por lo que cuanto menor sea el ET mejor será el modelo.
- La relación entre la desviación estándar y el error típico de validación o de predicción (RPD), cuyo valor debe ser superior a 2.



Por otro lado, el análisis cualitativo consiste en el desarrollo de modelos de clasificación que permiten el agrupamiento o separación de muestras en función de las similitudes o diferencias de sus características espectrales. Estos métodos pueden dividirse en métodos supervisados y no supervisados dependiendo de que se disponga o no de información previa acerca de los grupos o categorías existentes en el colectivo de muestras. La calidad de los modelos cualitativos se evalúa en base al número de muestras correctamente adscritas a su grupo o categoría y el número de falsos positivos y negativos obtenidos.

Equipamientos y métodos quimiométricos

La espectroscopia NIR ha sufrido una evolución muy importante en las últimas décadas, gracias a los grandes avances tecnológicos en instrumentación, computacionales y a la mejora de los métodos quimiométricos. Básicamente todos los equipos NIRS se componen de los elementos que se muestran en la Figura 3. Si se compara el sentido de la vista con un espectrofotómetro, nuestros ojos serían los detectores que perciben la luz reflejada por la materia, y nuestro cerebro, el ordenador que procesa

Figura 2.- Esquema del flujo de trabajo para realizar un modelo de calibración.

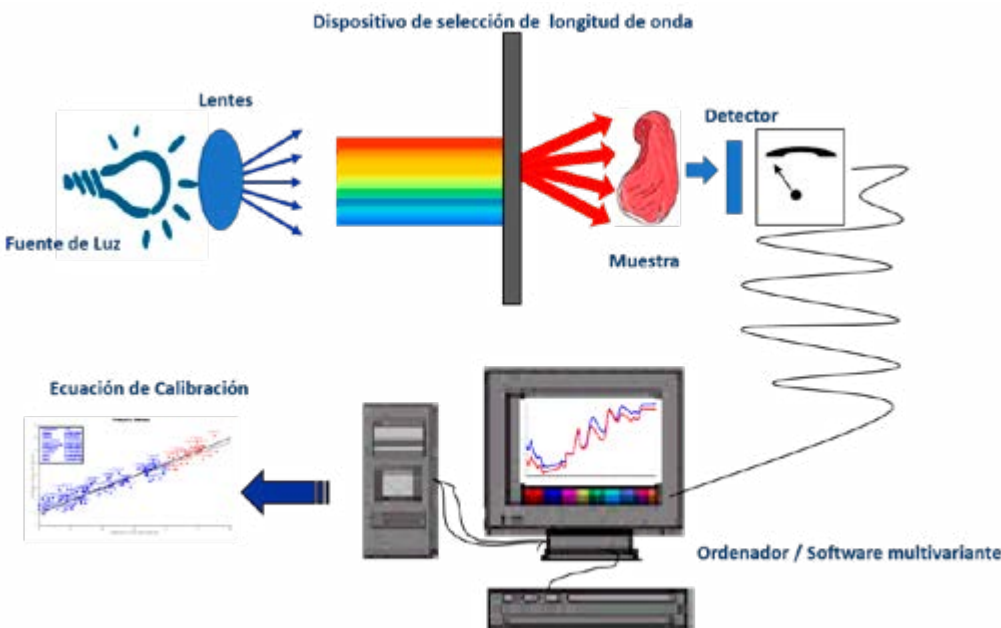
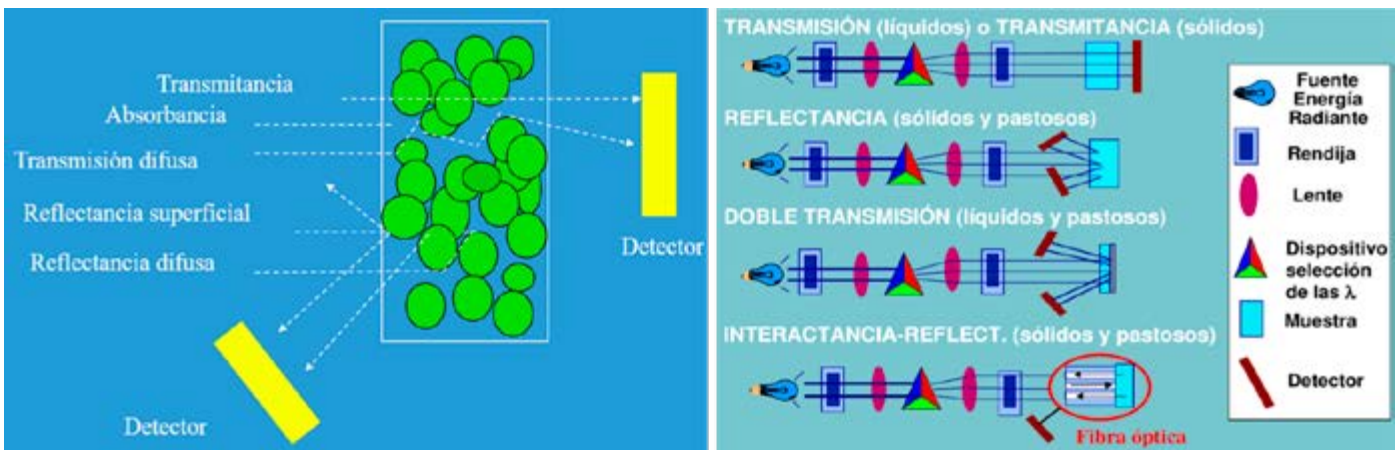


Figura 3.- Esquema de las distintas partes y procesos de un equipo NIR.



↑

Figura 4.- Esquema de las formas de interacción de la luz con la materia y de diferentes configuraciones instrumentales (adaptado de Núñez, 2003).

los datos para obtener información de lo que vemos.

Cuando un haz de luz incide sobre una muestra esa luz incidente puede ser absorbida, transmitida, reflejada y/o dispersada, por lo que, en función del tipo de muestra, existen equipos NIRS con diferentes configuraciones instrumentales, tal y como se muestra en la Figura 4.

Así, para productos sólidos como las carnes, pescados o frutas de piel fina se suelen utilizar equipos que miden en reflectancia, mientras que para el análisis de productos líquidos como leche, vinos o incluso frutos de pequeño tamaño los sistemas de medida de transmitancia son los más extendidos. La transmitancia también se ha utilizado con éxito para realizar medidas de propiedades internas de productos sólidos, como por ejemplo vegetales y carne, o para analizar defectos internos en frutas y frutos secos.

Además de estas modalidades de análisis, en la actualidad se han extendido mucho otras metodologías como la medida en doble transmitancia para líquidos o sustancias pastosas y la modalidad de interactancia-reflectancia en la que se recogen directamente los espectros de una muestra mediante el uso de fibra óptica y que se utiliza para productos sólidos y pastosos.

Dada su versatilidad, la tecnología NIRS se ha convertido en una de las técnicas más usadas para el análisis cualitativo y cuantitativo en distintos sectores como la industria farmacéutica o química, medicina, diagnóstico clínico, petroquímica, medio

ambiente, etc., y sobre todo en la industria agroalimentaria.

Aplicaciones NIRS en el sector agroalimentario

La aplicación inicial y más extendida de la tecnología NIRS en la industria agroalimentaria ha sido la predicción cuantitativa de la composición química (humedad, grasa y proteína) en distintas matrices alimentarias como granos y semillas, forrajes, carne y soja. Sin embargo, los avances tecnológicos, en instrumentación y computacionales han permitido el desarrollo de esta tecnología y la extensión de su aplicación a muchos otros ámbitos dentro del sector agroalimentario, existiendo en la actualidad numerosas aplicaciones, no solo para determinar la composición química de los alimentos (pescados, frutas, aceites, carne, leche y productos lácteos) sino también para el análisis más detallado del contenido y composición de las grasas (perfil de ácidos grasos en pescados y carnes), la determinación del grado de maduración, del contenido en azúcares y de la textura en frutas, la determinación del grado de acidez y oxidación lipídica en aceites comestibles, así como para la determinación de parámetros reológicos en grano de trigo y en harinas.

Por otro lado, se han desarrollado diversas aplicaciones NIRS para la discriminación o clasificación de productos agroalimentarios en base al sistema productivo, origen, dieta, raza, especie o variedad, para la detección de enfermedades o defectos internos en frutas y frutos secos y para la detección de fraudes o adulteraciones alimentarias.

Para más información se refiere al lector a diversas revisiones bibliográficas que resumen las principales aplicaciones NIRS en agroalimentación (Ozaki et al., 2007; Huang et al., 2008; Woodcock et al., 2008; Sun et al., 2009).

Aplicaciones de la tecnología NIRS en el sector cárnico

El sector cárnico ha mostrado un interés creciente en el desarrollo de la espectroscopía NIR en los últimos años, de modo que se han generado numerosas aplicaciones en diferentes especies cárnicas (ternera, cerdo, pollo, pavo, cordero, e incluso otras menos comunes como avestruz o camello) para una gran variedad de productos tanto frescos como elaborados (piezas enteras, carne picada, hamburguesas, salchichas, embutidos... etc.), estando centradas, la mayoría, en la predicción cuantitativa de la composición química y de diversos parámetros tecnológicos o sensoriales de la carne (Alomar et al., 2003; Ripoll et al., 2008; Sierra et al., 2008; Prieto et al., 2017; Cafferky et al., 2020).

En el Área de Sistemas de Producción Animal del SERIDA se han desarrollado con éxito ecuaciones de calibración a partir de espectros recogidos en transmitancia (NIT) de 850nm a 1050nm en carne picada del lomo (músculo *Longissimus dorsi*) de terneros añejos de las razas autóctonas "Asturiana de los Valles" (AV) y "Asturia-

na de la Montaña" (AM) para estimar el contenido en humedad, grasa, proteína y pigmentos hemínicos, en concreto mioglobina (Tabla 1).

Las recomendaciones nutricionales sugieren la necesidad de equilibrar la ingesta de ácidos grasos saturados (SFA) respecto a la de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA). Por ello, el consumidor muestra un interés creciente en conocer el contenido y el perfil lipídico de los alimentos. En este sentido, el SERIDA ha desarrollado con éxito modelos de calibración para determinar el porcentaje de ácidos grasos saturados (SFA) y monoinsaturados (MUFA) a partir de espectros NIT tomados sobre carne de vacuno picada de las razas AV y AM, obteniendo unos coeficientes de determinación de calibración y validación cruzada superiores a 0,8 y RPD > 2,5.

También hemos desarrollado modelos de calibración para los ácidos grasos de forma individual, obteniendo buenos resultados para algunos de los ácidos grasos mayoritarios como C14:0, C16:0, C16:1 cis9, C17:0, C18:1 cis9, C18:1 cis11 y para algunos minoritarios como C13:0, C15:0, C17:1 cis9, C18:1 cis13, con coeficientes de determinación superiores a 0,7 y RPD>2 (Sierra et al., 2008). Estos resultados coinciden con la mayoría de los trabajos publicados en este campo, que muestran, en general, mejores resultados para las predicciones de los porcenta-

	ETC	R ²	ETVC	Rvc ²
Humedad	0,297	0,912	0,308	0,904
Grasa	0,241	0,919	0,250	0,914
Proteína	0,192	0,888	0,220	0,852
Mioglobina	0,316	0,906	0,373	0,870
ETC y ETVC: Error típico de calibración y validación cruzada				
R² y Rvc²: Coeficientes de determinación de calibración y validación cruzada				

←
Tabla 1.- Estadísticos de calibración NIT para composición química de la carne de razas AV y AM.



↑

Figura 2.- Equipos NIRS del Área de sistemas de Producción Animal del SERIDA.

A) MeatAnalyzer INFRATEC 1265 que mide en transmitancia de 850nm a 1050nm sobre muestras de carne picada.

B) LABSPEC 5000 que mide en reflectancia de 350nm a 2500nm dotado con distintos accesorios que permiten recoger espectros tanto sobre la muestra intacta como picada.

→

Tabla 2.- Porcentaje de muestras bien clasificadas en función del tiempo de maduración.

	48 horas	7 días	14 días
48 horas	93%	5%	3%
7 días	7%	61%	26%
14 días	0%	34%	71%
TOTAL	100%	100%	100%

jes de ácidos grasos por grupos que de forma individual y mejores predicciones para el porcentaje de SFA y MUFA que para los PUFA, probablemente debido a su menor concentración en la carne. Por otro lado, los modelos de calibración en carne picada mostraron en todos los casos mejores resultados que los obtenidos en carne intacta (Prieto et al., 2017).

También se ha analizado el potencial de la espectroscopía NIR para la estimación de parámetros tecnológicos de la carne tales como el pH, la capacidad de retención de agua (CRA), el color, la textura, la calidad sensorial o la carga microbiana. Sin embargo, los resultados obtenidos varían bastante en función del tipo de carne y el modo de presentación de la muestra, así como del tipo de equipo NIRS empleado (Prieto et al., 2009; Prieto et al., 2017).

Otra aplicación de interés creciente en el sector agroalimentario y, en concreto,

en el cárnico es la detección de posibles adulteraciones o fraudes. Por ello, se han desarrollado distintas aplicaciones de la espectroscopía NIR para garantizar la seguridad, trazabilidad y autenticidad de los productos cárnicos.

Así, por ejemplo, se ha estudiado el potencial de la espectroscopía NIR para determinar la frescura (tiempo de maduración) de la carne o para discriminar carne fresca de carne que ha sido sometida a un proceso de congelado/descongelado (Prieto et al., 2008; Reis et al., 2017). En nuestro laboratorio, hemos demostrado que la espectroscopía NIR permite clasificar muestras de carne picada de las razas asturianas AV y AM en función del tiempo de maduración con un acierto global del 75%, pudiendo clasificar correctamente el 93% de las muestras con 48 horas de maduración y un 71% de las muestras maduras 14 días, bajando el índice de aciertos al 61% en el caso de la carne madurada 7 días (Tabla 2).

	AV (mh/mh)	AV (mh/+)	AV (+/+)	AM (+/+)
AV (mh/mh)	87%	27%	7,5%	0%
AV(mh/+)	7%	47%	31%	20%
AV (+/+)	7%	13%	54%	7%
AM (+/+)	0%	13%	7,5%	73%
TOTAL	100%	100%	100%	100%

←
Tabla 3.- Porcentaje de muestras bien clasificadas en cada biotipo.

Además de garantizar la frescura de la carne, la tecnología NIRS también ha permitido la discriminación o autenticación de carnes procedentes de distintos sistemas de cría o regímenes alimenticios, por ejemplo, carne de ternera alimentada con pasto o silo de maíz, pollo de producción industrial o campera, carne de corderos alimentados en base a pasto o concentrados, carne de conejo de producción orgánica o convencional, así como la clasificación de canales de porcino en función del tipo de alimentación (bellota, recebo y pienso). También se han desarrollado aplicaciones NIRS para discriminar carne procedente de diferentes razas y orígenes geográficos, así como para detectar fraudes por la sustitución de carnes de alto valor, como la ternera, por otras carnes más baratas (cerdo, equino o pavo) en mezclas de carne picada (Prieto et al., 2017).

En nuestro laboratorio, pudimos demostrar la capacidad de la tecnología NIRS para discriminar carnes de distintas razas (AV, AM y Pirenaica) obteniendo un acierto del 85% en la clasificación global (Oliván et al., 2003). También hemos desarrollado modelos de clasificación de carne procedente de los distintos biotipos amparados por la IGP "Ternera Asturiana", que engloba carnes de las razas autóctonas AV y AM y distintos genotipos con respecto al gen de la hipertrofia muscular: culón AV (mh/mh), heterocigoto AV (mh/+) y normal AV (+/+) (Tabla 3). En este caso, demostramos que el espectro NIR permite clasificar adecuadamente un 87% de la carne de terneros de genotipo culón (mh/mh) de la raza AV (de menor engrasamiento, y pro-

cesos de tenderización y oxidación más rápidos) y un 73% de la carne procedente de la raza AM (mayor engrasamiento y maduración más lenta), siendo menor el porcentaje de acierto para los biotipos de características intermedias (hererocigotos y normales de raza AV).

A la vista del creciente número de aplicaciones NIRS y los resultados obtenidos hasta la fecha, podemos concluir que esta tecnología muestra un enorme potencial para el sector cárnico, aunque aún requiere de un mayor desarrollo para su implementación de forma definitiva, ya que muchas de las aplicaciones de las que hemos hablado en este resumen se han realizado en muestras y condiciones de laboratorio. Por ello, en el Área de Sistemas de Producción Animal del SERIDA estamos trabajando en el desarrollo de nuevas aplicaciones NIRS que permitan detectar defectos de calidad en la carne con medidas realizadas sobre la canal intacta a las pocas horas del sacrificio del animal.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido realizado gracias a la financiación obtenida en los proyectos CAL03-074-C2 y RTA 2014-00034-C04-01 (Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria y Fondo Europeo de Desarrollo Regional) y en el proyecto RTI2018-096162-R-C21 (Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades, Agencia Estatal de Investigación y Fondo Europeo de Desarrollo Regional).

Referencias bibliográficas

- ALOMAR D., GALLO C., CASTAÑEDA M., FUCHSLOCHER R. (2003). Chemical and discriminant analysis of beef meat by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS). *Meat Science*, 63: 441-450.
- CAFFERKY J., SWEENEY T., ALLEN P., SAHAR A., DOWNEY G., CROMIE A., HAMILL R. (2020). Investigating the use of visible and near infrared spectroscopy to predict sensory and texture attributes of beef *M. longissimus thoracis et lumborum*. *Meat Science*, 159:1079-15.
- HUANG H., YU H., XU H., YING Y. (2008). Near infrared spectroscopy for on-line monitoring of quality in foods and beverages: A review. *Journal of Food Engineering*, 87: 303-313.
- NÚÑEZ M.N. (2003). Control de calidad de leche y queso de oveja mediante espectroscopía de infrarrojo cercano (NIRS). Universidad de Córdoba. pp.24.
- OLIVÁN M., MOCHA M., MARTÍNEZ A., CASTRO P., OSORO K. (2003). Evolución post-mortem de la dureza instrumental de la carne de distintos genotipos de las razas bovinas asturianas. *ITEA*, 24: 43-45.
- OZAKI Y., MCCLURE W., CHRISTY A.A. (2007). Near-Infrared Spectroscopy in food science and technology. Ozaki Y., McClure W., Christy A.A. (Eds). *Wiley Inter science*. New Jersey.
- PRIETO N., ANDRÉS S., GIRÁLDEZ F.A., MANTECÓN A.R., LAVÍN P. (2008) Ability of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to estimate physical parameters of adult steers (oxen) and young cattle meat samples. *Meat Science*, 79: 692-699.
- PRIETO N., PAWLUCZYK O., DUGAN M., AALHUS J., (2017). A review of the principles and applications of near-infrared spectroscopy to characterize meat, fat, and meat products. *Applied spectroscopy*. 71.
- PRIETO N., ROEHE R., LAVÍN P., BATTEN G., ANDRÉS S. (2009). Application of near infrared reflectance spectroscopy to predict meat and meat products quality; A review. *Meat Science*, 83: 175-186.
- REIS M.M. (2017). Near infrared spectroscopy (Vis-NIRS) applied to differentiation between chilled and frozen/thawed meat. *NIR news*. 28.
- RIPOLL G., ALBERTÍ P., PANEA B., OLLETA J.L., SAÑUDO C. (2008). Near-infrared reflectance spectroscopy for predicting chemical, instrumental. and sensory quality of beef. *Meat Science*, 80: 697-702.
- SHENK J.S., WORKMAN J.J., WESTERHAUS M.O. (2001). Application of NIR Spectroscopy to Agricultural Products. Handbook of Near Infrared Analysis. Second Edition. Burns D.A. y Ciurczak E.W. (Eds.). *Practical Spectroscopy Series*, Vol. 27. Marcel Dekker, USA.
- SIERRA V., ALDAI N., CASTRO P., OSORO K., COTO-MONTES A., OLIVAN M. (2008). Prediction of the fatty acid composition of beef by near infrared transmittance spectroscopy. *Meat Science*, 78: 248-255.
- SUN D.W. (2009). Infrared spectroscopy for food quality analysis and control. Academic Press / Elsevier, San Diego, California, USA.
- WOODCOCK T., DOWNEY G., O'DONNELL C.P. (2008). Review: Better quality food and beverages: the role of near infrared spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 16: 1-29. ■