# <u>Clasificación de cerdos ibéricos según el régimen de alimentación a partir de cromatografía de gases (CG-FID) y espectrometría de masas de relaciones isotópicas (GC-C-IRMS)</u>

Por Carmen L. Delgado-Chavero<sup>a</sup>, Elena Zapata-Márquez<sup>a</sup>, Juan M<sup>a</sup> García-Casco<sup>b</sup> y Andrés Paredes Torronteras<sup>a</sup>\*

(\*autor para la correspondencia: asici@asici.com)

## **RESUMEN**

Se han analizado un total de 734 muestras de tejido subcutáneo procedentes de 38 lotes de cerdos ibéricos a lo largo de tres años consecutivos, 2009-2011. Estos animales se han clasificado según información de campo, conforme a la Norma de Calidad, en cuatro categorías: Bellota, Recebo, Campo y Cebo. Se han extraído los lípidos de la grasa subcutánea de rabadilla, y después de su esterificación, se han analizado tanto por cromatografía de gases (GC-FID) como por espectrometría de masas de relaciones isotópicas (GC-C-IRMS). Las medias del porcentaje de ácidos grasos y de las relaciones isotópicas muestran que existen diferencias según la campaña, factor que debería tenerse en cuenta a la hora de clasificar los animales. Después de aplicar distintos modelos de predicción basados en un análisis discriminante, se ha comprobado que la unión de ambas técnicas permite la clasificación de los animales según el tipo de alimentación, con un porcentaje de aciertos del 85% utilizando tres o cuatro categorías de clasificación (Bellota, Recebo, Campo y/o Cebo) y del 91% utilizando dos o tres categorías (Bellota, Campo y/o Cebo). Este modelo podría sentar las bases para una clasificación adecuada del cerdo ibérico en función de su alimentación.

PALABRAS-CLAVE: Ácidos Grasos - Cerdo Ibérico - Cromatografía de Gases - Espectrometría de masas de relaciones isotópicas - GC-C-IRMS - Grasa subcutánea

## 1. INTRODUCCIÓN

El análisis de la composición en ácidos grasos de los lípidos del tejido adiposo subcutáneo de cerdos ibéricos por GC-FID, fue, hasta 2005, considerada una herramienta eficaz y objetiva a la hora de clasificar la materia prima en función de la alimentación recibida por los animales en su etapa de engorde (Ruiz y Pretón, 2001). De hecho, ha sido la única reconocida oficialmente (Boletín Oficial del Estado, 2004). La utilización en los piensos de grasas de origen vegetal ricas en oleico, que logran en los animales un perfil de ácidos grasos similar al que tienen aquellos que han consumido sólo pasto y bellotas, cuestionó la utilidad de la GC-FID para determinar la procedencia de los ácidos grasos depositados en las canales y productos del cerdo Ibérico. La Norma de Calidad eliminó esta técnica para la clasificación de las canales (Boletín Oficial del Estado, 2007a), pero en la práctica es un método que sigue siendo utilizado por los industriales del sector, debido a que la composición de la grasa intramuscular de la carne juega un papel decisivo en el proceso de curación de la piezas nobles y determina, por ejemplo, el número de días de salazón y de postsalado en el caso de jamones y paletas (Cava y Andrés, 2001). También influye en la consistencia, el color y la oxidación de la grasa, factores decisivos en la calidad de la carne, tanto fresca como curada (Melgar, 1991; Ruiz, 2000; Ventanas, 2006; Ventanas, 1999; Gilles, 2009).

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup>ASICI. Ctra. Ex101, km 4,7, 06300, Zafra (Badajoz).

<sup>&</sup>lt;sup>b</sup>Centro de I+D en Cerdo Ibérico – INIA. Ctra. Ex101, km 4,7. 06300. Zafra (Badajoz).

Como técnica alternativa, González-Martín y colaboradores, utilizaron la determinación de la relación isotópica <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C del carbono total de la grasa subcutánea de cerdos ibéricos para la diferenciación del régimen de alimentación (González-Martín, 1999; González-Martín, 2001; González-Martín, 1998) pues prácticamente es un reflejo de la relación existente en su dieta (De Niro, 1978). Sin embargo, la utilización de ciertos piensos en la alimentación de los cerdos pueden enmascarar los resultados, por lo que se ha recurrido a la separación de los ésteres metílicos de ácidos grasos (FAMEs) por cromatografía de gases y posterior combustión y análisis mediante espectrometría de masas de las relaciones isotópicas <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C de los productos obtenidos, que crean un perfil isotópico característico de cada muestra (Recio, 2010). Esta técnica, denominada GC-C-IRMS, se utiliza actualmente para la detección de adulteración en aceites vegetales (Spangenberg y col. 1998; Kelly, 1997; Kelly y Rhodes, 2002) y en vino (Reglamento CEE, 1990). Aunque el método propuesto para el cerdo ibérico indica la determinación de, al menos, cuatro relaciones isotópicas de los FAMEs mayoritarios en la grasa (oleico, palmítico, linoleico y esteárico), que serían los mínimos imprescindibles para proporcionar una información de identificación positiva en el caso de un cerdo ibérico de Bellota (Recio, 2013), en la actualidad algunas industrias están utilizando sólo la relación isotópica <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C del oleico para la diferenciación de la alimentación de cerdos ibéricos, aplicando un índice a partir del cual establecen valores límite para clasificar los animales en la categoría de Bellota.

Con el objetivo de comparar la eficacia de dichas técnicas, de forma conjunta o separada, se han analizado muestras de tejido adiposo subcutáneo de cerdos Ibéricos tanto por espectrometría de masas de relaciones isotópicas (GC-C-IRMS) como por cromatografía de gases (GC-FID) y se ha llevado a cabo un estudio estadístico de los resultados comparándose, mediante análisis discriminante, cinco modelos distintos para la clasificación de las muestras, calculándose el porcentaje de aciertos en varios supuestos en función del número de categorías de alimentación consideradas.

# 2. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 2.1. Muestras

Se han tomado un total de 734 muestras, procedentes de 38 lotes de cerdos Ibéricos, criados y engordados en dehesas y explotaciones de Extremadura, Andalucía y Salamanca. El tipo de alimentación de estas partidas en la etapa final de engorde era conocido y su clasificación, en función del método oficial (Boletín Oficial del Estado, 2007a), se muestra en la Tabla 1. Una descripción detallada de las partidas y de la información de campo se puede encontrar en García Casco y col., 2013. La toma de muestra del tejido subcutáneo de los lotes de animales sacrificados se llevó cabo siguiendo el método oficial establecido (Boletín Oficial del Estado, 2004), al igual que la extracción y la esterificación de los lípidos.

Tabla 1

Clasificación de las muestras analizadas en función de las cuatro categorías de alimentación según los requisitos de campo establecidos por la Norma de Calidad (Boletín Oficial del Estado, 2007a)

Campaña	Total	Bellota	Recebo	Campo	Cebo
2008/2009	200	69	67	33	31
2009/2010	200	52	50	74	24
2010/2011	334	135	72	47	80
Total	734	256	189	154	135

## 2.2. Cromatografía de gases

La Cromatografía de Gases (GC-FID) se llevó a cabo siguiendo el método oficial (Boletín Oficial del Estado, 2004). Se utilizaron dos cromatógrafos Perkin Elmer con inyectores automáticos, con columna capilar de 30 metros de sílice fundida, de 0.32 mm de diámetro interno y 0.25 µm de espesor película. La temperatura del inyector es de 230°C y la temperatura del detector es de 250°C, siendo Helio el gas portador. En estas condiciones se obtiene el % respecto al total de 12 ácidos grasos (C12:0, C14:0, C16:0, C16:1, C17:0, C17:1, C18:0, C18:1, C18:2, C18:3, C20:0 y C20:1).



## 2.3. Espectrometría de masas de relaciones isotópicas

La determinación de las relaciones isotópicas <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C (δ <sup>13</sup>C) de los ácidos grasos Palmítico, Esteárico, Oleico y Linoleico, mediante la técnica GC-C-IRMS, se ha realizado siguiendo el procedimiento descrito por Recio y col., 2010. Para ello se utilizó un espectrómetro de masas de relaciones isotópicas de fuente gaseosa y flujo continuo, modelo Hydra 20-20®, de SerCon Ltd, equipado con electroimán, con una interfase de combustión y membrana nafion para retener el agua producto de la combustión. Para separar los FAMEs y transferirlos al espectrómetro se utilizó un cromatógrafo de gases Agilent GC System 7890A, con una columna capilar, de 30 m x 0,25 mm ID y 0,25 mm de espesor de fase, utilizando He como gas portador. La temperatura del inyector fue de 280°C y la del detector de 300°C. La temperatura del horno de combustión es de 860°C. Los análisis se han llevado a cabo en series de 10 muestras desconocidas, con muestras patrón al principio, mitad y final de cada serie. Como patrones se han utilizado tres FAMEs comerciales (Metilhexadecanoato, Metil-heptadecanoato y Metil-heneicosanoato de Sigma-Aldrich), que fueron caracterizados por analizadores elementales de diferentes centros de investigación nacionales

coordinados por el laboratorio de isótopos estables de la Universidad de Salamanca. Adicionalmente se ha utilizado como elemento de control un material de referencia propio, grasa subcutánea de cerdo ibérico, caracterizada (valores conocidos de las relaciones isotópicas) por el laboratorio de isótopos estables de la Universidad de Salamanca y el nuestro propio.

El valor isotópico obtenido se expresa en términos de " $\delta$ ", que representa el exceso, normalmente del isótopo pesado, en una muestra problema respecto al gas de referencia, en unidades ‰, referidos a PDB (Pee Dee Belemnite; referencia internacional para datos de  $\delta$  <sup>13</sup>C). Para normalizarlos se ha empleado una recta de regresión con los valores medidos de los tres patrones internos analizados conjuntamente con las muestras desconocidas. A continuación se ha aplicado la fórmula de Goodman and Brenna (1992) para obtener el valor isotópico del FAME descontando la contribución del agente esterificante:  $\delta_R$ = (( $M_m \times \delta_m$ )- ( $M_{met} \times \delta_{met}$ ))/ $M_R$ , donde  $\delta_R$  es el valor isotópico real del FAME,  $M_m$  el número de moles de C en la especie medida,  $\delta_m$  el valor isotópico medido,  $M_{met}$  el número de moles de C en el metanol (1) y  $\delta_{met}$  el valor isotópico del metanol utilizado.



## 2.4. Cálculo estadístico y modelos

El análisis estadístico de los datos se ha llevado a cabo con el programa Statgraphics Centurion XVI.I (2011) en el que se han llevado a cabo análisis de las medias, desviación estándar de cada subgrupo y pruebas de múltiples rangos para ver diferencias significativas con un nivel de confianza del 95% por el procedimiento LSD de Fisher.

Para la predicción de la alimentación que informaron recibieron los cerdos se ha aplicado un análisis lineal discriminante del programa Statgraphics Centurion XVI.I, 2011 en el que se establecía a priori la misma probabilidad para todos los grupos. Se han estudiado un total de cinco modelos distintos de análisis discriminante, según los valores utilizados como base del modelo:

- 1-AG4: porcentaje de los cuatro ácidos grasos mayoritarios obtenidos por GC-FID
- 2-AG12: porcentaje de los doce ácidos grasos obtenidos por GC-FID.
- 3-I4: relaciones isotópicas <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C de los cuatro ácidos grasos mayoritarios.
- 4-AG12-I4: porcentaje de los doce ácidos grasos más las relaciones isotópicas de los cuatro ácidos grasos mayoritarios.
- 5-AG12-I4-C: porcentaje de los doce ácidos grasos más las relaciones isotópicas de los cuatro ácidos grasos mayoritarios, diferenciando la campaña en el criterio de clasificación.

Los resultados obtenidos también se compararon con la clasificación de la muestras en función de los criterios establecidos en el Boletín Oficial de Estado (2007b) para la Norma de Calidad, basados en los valores de los cuatro ácidos grasos mayoritarios (resultados codificados como 0-AG-NC).

# 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 2 se muestra los valores medios y las desviaciones estándar obtenidos del porcentaje de los ácidos grasos mayoritarios (GC-FID), así como sus relaciones isotópicas  $\delta^{13}$ C obtenidos por GC-C-IRMS. Como puede observarse, el porcentaje de C16:0 y C18:0 es muy parecido en todos los lotes de bellota (no existen diferencias significativas entre los tres lotes, para un nivel de confianza del 95%, en las pruebas de Múltiples Rangos) mientras que la media del porcentaje de C18:1 en la campaña de 2010 (más seca y con escasez de bellota) es inferior en 1% respecto a las otras dos campañas (existen diferencias significativas entre este lote con respecto a los otros dos). En cambio los valores de C18:2 siguen la tendencia contraria, son más elevados en campañas con bajos recursos como el 2010, y más bajos en 2011, que fue un año muy lluvioso (Narváez-Rivas y col., 2009), existiendo diferencias significativas entre este año con respecto a los otros dos. El porcentaje de C16:0 y C18:0 aumenta progresivamente en los lotes de Bellota, Recebo, Campo y Cebo, mientras que el de C18:1 disminuye en el mismo sentido. La excepción se presenta en el lote de Recebo de 2011, donde la media de ácido oleico es muy elevada (54,77%), próxima a los obtenidos en la categoría de Bellota. El C18:2 presenta gran variabilidad entre campañas y categorías pues depende del tipo de pienso utilizado en las etapas previas al engorde.

Tabla 2

Valores medios de % ácidos grasos y relaciones isotópicas por CG y GC-C-IRMS.

		% POR CG-FID <sup>a</sup>				δ <sup>13</sup> C POR GC-C-IRMS <sup>b</sup>			
	CAMPAÑA	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2
BELLOTA	2009	20,03±0,96	$9,16\pm1,02$	55,41±2,19	$9,39\pm0,66$	-25,5±1,6	-22,9±1,9	-27,1±1,5	-32,3±1,3
	2010	$20,06\pm0,86$	$9,22\pm0,92$	54,56±1,90	$9,69\pm0,50$	$-24,5\pm0,9$	$-22,1\pm0,9$	$-25,8\pm0,8$	$-31,7\pm0,6$
	2011	20,09±0,81	$9,15\pm0,99$	55,76±1,60	$8,77\pm0,98$	$-27,3\pm0,7$	$-24,6\pm0,8$	$-28,1\pm0,7$	-33,8±0,6
RECEBO	2009	20,89±1,49	10,04±1,52	52,16±2,51	$10,27\pm0,87$	-23,6±1,5	-20,7±1,6	-24,6±1,6	-30,3±0,7
	2010	$20,92\pm0,62$	$9,95\pm0,91$	52,56±1,12	$9,9\pm0,52$	$-24,5\pm0,9$	$-22,4\pm1,1$	$-25,8\pm0,8$	$-31,2\pm0,8$
	2011	$20,40\pm1,05$	$9,74\pm1,25$	54,77±1,94	$8,81\pm1,49$	$-25,9\pm2,0$	$-23,1\pm2,0$	$-26,5\pm1,7$	-32,6±1,9
CAMPO	2009	21,59±1,51	11,20±1,29	51,10±4,17	9,42±1,51	-23,2±1,6	-20,2±1,5	-23,9±1,8	-29,8±1,1
	2010	$21,63\pm0,61$	$10,61\pm1,15$	$52,25\pm2,47$	$8,65\pm1,10$	$-24,6\pm1,6$	$-22,6\pm1,6$	$-25,1\pm1,4$	$-30,8\pm1,4$
	2011	21,29±0,68	$12,38\pm1,28$	52,09±1,15	$8,47\pm0,53$	$-26,4\pm0,3$	$-23,9\pm0,3$	$-26,5\pm0,3$	-32,9±0,4
CEBO	2009	23,02±0,79	13,00±1,02	49,82±1,04	$7,64\pm0,65$	$-24,5\pm0,3$	$-21,9\pm0,5$	-24,1±0,6	-31,9±0,5
	2010	$22,99\pm0,74$	$11,26\pm1,00$	$48,50\pm1,32$	$10,39\pm0,82$	$-26,4\pm0,3$	$-24,2\pm0,6$	$-26,5\pm0,5$	$-33,3\pm0,6$
	2011	22,58±1,34	11,93±1,56	51,61±1,89	$7,18\pm1,07$	-24,4±1,8	-21,8±1,9	-25,2±1,2	-32,2±0,9

Valores del porcentaje sobre el total en % por GC-FID (a) y de %  $\delta^{13}$ C por GC-C-IRMS (b) de los cuatro ácidos grasos mayoritarios. Se muestran valores medios  $\pm$  Desviación Estándar.

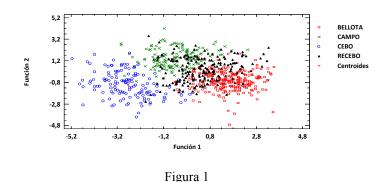
En cuanto a las relaciones isotópicas no se observa una tendencia clara respecto a las categorías de alimentación puesto que existen variaciones importantes en función de la campaña. Así en la relación  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  obtenida a partir de la FAME del ácido oleico, los valores de la categoría de Bellota en las campañas de 2009 y 2011 son los de mayor magnitud (-27,1 y -28,1, respectivamente) mientras que en la campaña de 2010 la relación es de -25,8, valor similar a la obtenida en otras categorías en distintas campañas (p.e. Recebo y Campo en 2011, Recebo en 2010 y Cebo en 2010). Estos valores indican la dificultad para establecer, a priori, un valor de  $\delta^{13}$ C que permita la clasificación en función de la alimentación, pues los valores de Bellota de una campaña seca como la del 2010 son del mismo orden que los de Recebo y Campo de una campaña lluviosa como la del 2011 e incluso que los de animales alimentados exclusivamente a base de piensos.

#### 3.1. Modelos de análisis discriminante

La predicción de la clasificación de las muestras en función del tipo de alimentación se efectuó mediante un análisis discriminante con los cinco modelos anteriores, que se diferenciaban entre sí por los valores incluidos en el análisis. Los resultados se compararon con la clasificación oficial en función del porcentaje de los cuatro ácidos grasos mayoritarios. La Tabla 3 muestra la predicción efectuada y el porcentaje de acierto en cada campaña y tipo de alimentación, así como un resumen del porcentaje global de acierto de cada modelo cuando se consideran cuatro, tres o dos categorías.

Cuando se aplica la clasificación oficial según los valores de cada categoría indicados en el Boletín Oficial de Estado (2004), el resultado global de acierto es del 66%, 44% y 76% en las tres categorías consideradas, si bien no distingue entre Cebo y Campo. El número de falsos positivos de Bellota (clasificación errónea en esta categoría de muestras de Cebo y Recebo) es muy elevado: 63 animales de Recebo (33%) y 46 de Cebo/Campo (16%).

Los modelos estadísticos demuestran que se incrementa el porcentaje de acierto conforme aumenta el número de variables incluidas en el análisis discriminante, disminuyendo drásticamente los falsos positivos en la categoría de Bellota. Si comparamos los resultados considerando sólo tres categorías (Bellota, Recebo y Cebo), al aumentar de 4 a 12 ácidos grasos (modelos 1-AG4 y 2-AG12) se produce una mejora en la predicción especialmente en la categoría de Recebo (del 34% se pasa al 53%), con un incremento global del porcentaje de aciertos del 8% (del 65% al 73%). Los resultados no son muy diferentes entre los modelos 2-AG12 y el modelo 3-I4 (análisis discriminante con la cuatro relaciones isotópicas). Sin embargo, al combinar ambas técnicas en el análisis (4-AG12-I4) el porcentaje de aciertos incrementa 10 puntos, llegando hasta el 82%, con unos resultados en cada categoría de 91% en Cebo/Campo (pienso), 66% en Recebo y 83% en Bellota. Si además se tiene en cuenta en el análisis el factor ambiental debido a cada campaña (5-AG12-I4-C), el porcentaje global de aciertos aumenta hasta el 85% (94% en Cebo/Campo, 71% en Recebo y 85% en Bellota).



Distribución de las observaciones en función del tipo de alimentación, obtenida mediante el análisis discriminante aplicando el modelo 4-AG12-I4

En la Figura 1 se muestra la función discriminante del modelo 4-AG12-I4, donde se puede observar que hay una separación clara entre los grupos de Bellota, Cebo y Campo, mientras que el grupo de Recebo es una mezcla de los de Bellota y Campo, con un mayor número de clasificaciones erróneas en esta categoría. La inclusión del factor ambiental de cada campaña contribuye a incrementar el acierto en el Recebo.

Un análisis detallado de las muestras mal clasificadas mediante el modelo 5 (AG12-I4-C) permite apreciar que de las 38 muestras de Bellota mal clasificadas, 23 presentan el porcentaje de ácidos grasos y las relaciones isotópicas inferiores a las habituales en esta categoría (en concreto, 18 muestras presentan % de ácido oleico inferiores a 53%, 2 presentan % ácido linolénico mayores de 11% y 19 presentan  $\delta^{13}$ C del ácido oleico superiores a -26‰), por lo que deberían ser reclasificadas en la categoría de Recebo. El número final de muestras de Bellota mal clasificadas se reduciría a 15. es decir, tan sólo el 6% del total de muestras de esta categoría. Por otro lado, en la categoría de Cebo/Campo sólo 17 muestras (6%) son erróneamente clasificadas, con una reducción drástica de falsos positivos de Bellota a 6 muestras (2%). En el caso de animales de Recebo, categoría que presenta mayor dificultad de predicción, se clasifican incorrectamente 55 animales (29%). En 18 muestras de las 30 encuadradas en Cebo/Campo el porcentaje de ácido oleico fue inferior al 51% y/o la relación isotópica del ácido oleico fue superior a -23‰, es decir, por debajo de porcentaje habitual de la categoría, por lo que deberían ser reclasificadas como Campo/Cebo a pesar de cumplir con los requisitos de Recebo. Los falsos positivos de 25 muestras de Recebo clasificadas como Bellota (el 13%), pertenecen a partidas en las que la ganancia en peso obtenida por los cerdos durante el consumo de bellota y pastos fue muy elevada, próxima a la exigida para la categoría de Bellota.

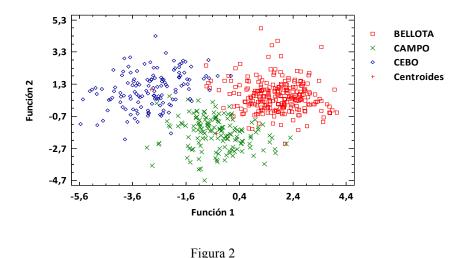
Tabla 3

Porcentaje de aciertos de todos los modelos según categoría, campaña y número de categorías.

		MODELO <sup>a</sup>					
		0-AG NC	1-AG4	2-AG12	3-I4	4-AG12-I4	5-AG12-I4-C
CLASIFICACIÓN	CAMPAÑA	ACIERTO	ACIERTO	ACIERTO	ACIERTO	ACIERTO	ACIERTO
	2009	97%	87%	97%	74%	97%	100%
	2010	96%	42%	100%	58%	100%	100%
CEBO	2011	64%	74%	84%	70%	91%	90%
	TOTAL CEBO		71%	90%	69%	94%	94%
	2009	67%	39%	45%	48%	70%	88%
	2010	39%	50%	70%	78%	86%	86%
CAMPO	2011	77%	77%	85%	53%	91%	94%
	TOTAL CAMPO		56%	69%	64%	84%	89%
	TOTAL CEBO/CAMPO	66%	78%	83%	84%	91%	94%
	2009	48%	24%	45%	69%	82%	72%
	2010	60%	78%	68%	22%	60%	80%
RECEBO	2011	31%	14%	51%	33%	56%	64%
	TOTAL RECEBO	44%	34%	53%	43%	66%	71%
	2009	75%	80%	80%	78%	83%	91%
	2010	65%	50%	60%	25%	56%	65%
BELLOTA -	2011	80%	77%	80%	93%	93%	90%
	TOTAL BELLOTA	76%	72%	76%	75%	83%	85%
	Nº DE CATEGORÍAS	ACIERTO	ACIERTO	ACIERTO	ACIERTO	ACIERTO	ACIERTO
	4 (B/R/CA/CE)		59%	71%	63%	81%	84%
	3 (B/R/CE)	64%	65%	73%	70%	82%	85%
	3 (B/CA/CE)		68%	80%	72%	87%	89%
	2 (B/CE)	77%	77%	84%	85%	90%	91%

B: Bellota, R: Recebo, CA: Campo y CE: Cebo

La reducción del número de categorías, aumenta considerablemente el porcentaje de aciertos, con un 87-91% al considerar tres (Bellota, Campo y Cebo) o dos (Bellota y Cebo) categorías. La eliminación de la categoría de Recebo facilitaría la separación y correcta clasificación de las muestras, como se puede apreciar en la siguiente figura, que muestra la función del modelo 4 sin las muestras de Recebo, en el que se alcanza un 96,15 % de aciertos.



Distribución de las observaciones, al eliminar las muestras de Recebo, en función del tipo de alimentación, obtenida mediante el análisis discriminante aplicando el modelo 4-AG12-I4

#### 4. CONCLUSIONES

El análisis discriminante utilizando los valores de los 12 ácidos grasos obtenidos mediante cromatografía de gases y las 4 relaciones isotópicas de la técnica CG-C-IRMS, así como la inclusión del factor ambiental de cada campaña, permite sentar las bases para una correcta clasificación de muestras de tejido adiposo subcutáneo de cerdos Ibéricos en función del tipo de alimentación recibida durante el engorde.

Este trabajo muestra que combinando ambos métodos instrumentales, GC-FID y GC-C-IRMS, mejoran las predicciones cuando se quiere clasificar gran cantidad de muestras procedentes de diferentes zonas geográficas, en campañas con distinta producción y calidad de bellota para el caso de animales de Recebo y Bellota, y de cerdos engordados con distintos tipos de piensos que completan su alimentación, en el caso de Campo y Cebo.

La categoría Recebo muestra una amplia gama de variabilidad, de ahí la dificultad para una predicción correcta. Dependiendo de la mayor o menor reposición en bellota, de la calidad de ésta y de la cosecha, diferente entre zonas, algunos animales de recebo se clasifican dentro de la categoría Bellota o de Campo/Cebo, dependiendo de los factores señalados.

La consideración de dos categorías solamente aumenta considerablemente el nivel de acierto en la predicción del modelo 5-AG12-I4-C. Los modelos 4 y 5 alcanzan un 87-91% de aciertos al considerar 3 (B/CA/CE) o 2 (B/CE) categorías. La eliminación de la categoría de Recebo lleva a un 96% de aciertos en el modelo 4.

La utilización de este modelo complementándose con una información de campo real, permitiría clasificar los cerdos en función de la normativa actual y aportaría una información fundamental para el correcto etiquetado de los productos, con el consiguiente beneficio final para el consumidor.

#### **AGRADECIMIENTOS**

Este artículo es versión traducida del publicado en el revista Grasa y Aceites 2013, Vol. 64, Special Issue (Delgado-Chavero, 2013). Las muestras que han hecho posible este trabajo proceden del proyecto RTA08-26 con financiación INIA y del convenio con el INIA financiado por el Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente CC08-31. Las determinaciones analíticas y el estudio se han realizado en el laboratorio de la interprofesional con fondos de la Extensión de Norma para realizar programas de investigación, desarrollo, innovación tecnológica y estudios. Los autores agradecen al Dr. Clemente Recio Hernández la ayuda prestada para la aplicación de la técnica CG-C-IRMS.

#### REFERENCIAS

Boletín Oficial del Estado, B.O.E Nº 283, ORDEN PRE/3844/2004, de 18 de noviembre, por la que se establecen los métodos oficiales de toma de muestras en canales de cerdos ibéricos y el método de análisis para la determinación de la composición de ácidos grasos de los lípidos totales del tejido adiposo subcutáneo de cerdos ibéricos. 38770-38779. Madrid, España

Boletín Oficial del Estado, B.O.E Nº 264, REAL DECRETO 1469/2007, de 2 de noviembre, por el que se aprueba la norma de calidad para la carne, el jamón, la paleta y la caña de lomo ibéricos. 45087-45104. Madrid, España

Boletín Oficial del Estado, B.O.E Nº 300, ORDEN APA/3653/2007, de 13 de diciembre, por la que se publican los valores de ácidos grasos aplicables a las designaciones de alimentación «Bellota» y «Recebo», para la campaña 2007-2008. 51655. Madrid, España

Cava R, Andrés A. 2001. La obtención de material prima de una adecuada aptitud tecnológica. Características de la grasa determinantes de la calidad del jamón: influencia de los factores genéticos y ambientales, en Ventanas J (Ed). Tecnología del Jamón Ibérico. Ed. Mundi-Prensa, Madrid, 99-129.

Delgado-Chavero CL, Zapata-Márquez E, García-Casco, JM, Paredes-Torronteras, A. 2013. Statistical model for classifying the feeding systems of Iberian pigs through Gas Chromatography (GC-FID) and Isotope Ratio Mass Spectrometry (GC-C-IRMS). Grasas y Aceites 64, 157-165.

De Niro MJ , Epstein S. 1978. Influence of diet on the distribution of carbon isotope ratios in animals. Geochim. Cosmochim. Acta 42 495-506.

García-Casco JM, Muñoz M, González E. 2013. Predictive ability of feeding system in Iberian pig by means of several analytical methods. Grasas y Aceites 64, 191-200.

García-Olmo J, Garrido-Varo A, De Pedro E. 2009. Classification of real farm conditions Iberian pigs according to the feeding regime with multivariate models developed by using fatty acids composition or NIR spectral data. Grasas y Aceites 60 (3) 233-237.

Gilles E. 2009. Dry cured ham quality as related to lipid quality of raw material and lipid changes during processing: a review. Grasas y Aceites 60 (3) 297-307.

Goodman KJ, Brenna JT. 1992. High sensitivity tracer detection using high-precision gas chromatography-combustion isotope ratio mass spectrometry and highly enriched [U–13C] precursors. Anal. Chem. 64, 1088-1095.

González Martín I, González Pérez C, Hernández Méndez J, Recio Hernández C, Sabio Rey E. 1998. Método para la caracterización y diferenciación del cerdo ibérico en función de la dieta. ES 2 100 130 B1.

González-Martín I, González-Pérez C, Hernández-Méndez J, Marqués-Macias E, Sanz-Poveda F. 1999. Use of isotope analysis to characterize meat from iberian Breed Swine. Meat Science 52 437-441.

González-Martín I, González-Pérez C, Hernández-Méndez J, Sánchez-González C. 2001. Differentiation of dietary regimen of iberian swine by means of isotopic analysis of carbon and sulpur in hepatic tissue. Meat Science 58 25-30.

Kelly SD, Parker I, Sharman M, Dennis MJ. 1997. Assessing the authenticity of single seed vegetable oils using fatty acid stable carbon isotope ratios (13C/12C). Food Chemistry 2 181-186.

Kelly SD, Rhodes C. 2002. Emerging Techniques in Vegetable Oil Analysis Using Stable Isotope Ratio Mass Spectrometry Grasas y Aceites 53 (1) 34-44

Melgar J, Cid C, Astiasarán I, Bello J. 1991. Influencia de la alimentación del cerdo ibérico en las características de los compuestos relacionados con la grasa del jamón curado. Grasas y Aceites. 42 (1) 51-55.

Narváez-Rivas M, León-Camacho M, Vicario IM. 2009. Fatty acid and triacylglycerol composition of the subcutaneous fat from iberian pigs fattened on the traditional fee: "Montanera". Effect of anatomical location and length of feeding. Grasas y Aceites 60 (3) 238-247.

Recio Hernández C. 2010. Método de identificación de productos alimenticios. ES2 326 249 B1.

Recio C., Martín, Q, Raposo, C. 2013. CG-C-IRMS analysis of FAMEs as a tool to ascertain the diet of Iberian pigs used for the production of pork products with high added value. Grasas y Aceites, 64 (2), 181-190

REGLAMENTO (CEE) No 2676/90 DE LA COMISIÓN de 17 de septiembre de 1990 por el que se determinan los métodos de análisis comunitarios aplicables en el sector del vino.

Ruiz J, Pretón MJ. 2001. Métodos para la clasificación de la materia prima, en Ventanas J (Ed). Tecnología del Jamón Ibérico. Ed. Mundi-Prensa, Madrid, 130-160.

Ruiz J, Ventanas J, Cava R, Andrés AI, García C. 2000. Texture and appearance of dry cured ham as affected by fat content and fatty acid composition. Food Research International 33 91-95.

Spangenberg J E, Macko SA, Hunziker J. 1998. Characterization of olive oil by carbon isotope analysis of individual fatty acids: Implications for authentication. J. Agric. Food Chem. 46 4179-4184.

Ventanas J, Andrés AI, Cava R, Tejeda JF, y Ruiz J. 1999. Composición y características de la grasa en el cerdo Ibérico e influencia sobre la calidad del jamón. Cárnica 2000 Marzo 55-59

Ventanas S, Estévez M, Tejeda JF, Ruiz J. 2006. Protein and lipid oxidation in dry cured loin as affected by crossbreeding and diet. Meat Science 72 647-655.