

Potencial uso de espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) para identificación de charqui de bovino, llama y caballo

Potential use of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) for the identification of beef, llama and horse jerky

Willy Mamani-Linares* Daniel Alomar** Carmen Gallo***

Abstract

Visible and near infrared reflectance spectroscopy (VIS/NIRS) was evaluated as a tool to discriminate jerky from different species. Spectra were taken by reflectance in a NIRSystems 6500 monochromator and the software NIRS 3.0 and Winlsi II Version 1.02A were used. Twenty samples of jerky corresponding to beef, llama and horses, respectively, were ground, homogenized and analyzed spectrally. The regression equations (PLS) were developed testing different mathematical treatments. The results for jerky show that NIRS can successfully discriminate 100% of llama, 95% of horses and 80% of beef samples, probably as a consequence of differences in intramuscular fat, protein and water contents of the different species. Thus, NIRS is a fast, inexpensive and non-destructive method that can be used to discriminate jerky from these species.

Key words: DISCRIMINATION OF JERKY, BEEF, LLAMA, HORSES, NIRS.

Resumen

Se usó espectroscopía visible y de reflectancia en el infrarrojo cercano (VIS/NIRS) como herramienta para discriminar charqui de diferentes especies. Los espectros se tomaron por reflectancia en un equipo monocromador NIRSystems modelo 6500, con un software NIRS 3.0, y Winlsi II Versión 1.02 A. Se molieron, homogenizaron y analizaron espectralmente 20 muestras de charqui correspondientes a bovino, llama y caballo. Se desarrollaron ecuaciones de regresión (PLS) probando diferentes tratamientos matemáticos. Los resultados para charqui muestran que NIRS puede discriminar satisfactoriamente 100% de las muestras de llama, 95% de caballos y 80% de bovino, probablemente como consecuencia de diferencias en el contenido de grasa intramuscular, proteína y agua de las diferentes especies. Así, la técnica NIRS muestra ser un método rápido, económico y no destructivo que puede usarse para discriminar charqui de diferentes especies.

Palabras clave: DISCRIMINACIÓN DE CHARQUI, BOVINO, LLAMA, CABALLO, NIRS.

Recibido el 25 de febrero de 2011 y aceptado el 18 de octubre de 2011.

*Becario MECESUP2 AUS 0601, Programa de Doctorado en Ciencias Veterinarias, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

**Instituto de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

***Instituto de Ciencia Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

Responsable de correspondencia: Willy Mamani Linares, teléfono: +56 63 221548, correo electrónico: willymlmvzupea_2@hotmail.com

Introduction

The determination of food authenticity and the detection of adulteration are important problems in the food industry and are becoming an ever increasing concern.^{1,2} The main problem in the authentication of meat and meat products is the substitution of highly priced raw material with cheaper material such as cheap cuts, viscera, blood, water, egg, gluten or other proteins of either animal or vegetable origin.^{3,4} The grinding of meat eliminates the morphologic characteristics of muscles, making it harder to differentiate one muscle from another. For this reason, the substitution of meat of certain species for one of inferior quality is a cheap mean of adulteration in meat industry, and constitutes a fraud that could have economic and health consequences.⁵

The intensification of agriculture and the urbanization during the last decades created an important concern for many consumers on the authenticity and safety of the meat.^{4,6,7} Therefore, the methods of analysis have focused on the identification of meat species either raw or cooked, and also on manufactured products.

The identification of meat from different species, and the differentiation between fresh and frozen meat, has been carried out through immunologic methods,^{8,9} enzyme procedures,¹⁰ electrophoresis techniques,¹¹ PCR and real-time PCR.^{12,13} These methods allow the detection of a wide range and low levels of adulteration. In general, the methods using DNA and RNA for the identification of products are trustworthy enough and their reliability is higher when compared to other methods.¹⁴ However, these techniques are destructive, they take a long time, and their methodology is tedious and costly, making them not useful for on-line application.¹⁵⁻¹⁷

The detection of meat adulteration needs fast and reliable methods to make possible the application of rules and to guarantee the quality control of the products. These methods should be specific, sensitive, fast, cheap and able to analyze processed or cooked products and also raw meat, and should provide quantitative results.⁵ Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) is a versatile, fast, cheap and non-tedious technique since no great effort is required to prepare the samples; these are the most important advantages of this technology when compared to the aforementioned procedures.¹⁸

Regarding meat products, most of the evaluation methods related to NIRS involved the development of calibrations for the quantitative predictions of the chemical, physical and sensory composition of meat.¹⁹⁻²¹

Introducción

La determinación de la autenticidad de los alimentos y la detección de la adulteración son problemas importantes en la industria alimentaria, y cada vez están llamando más la atención.^{1,2} La principal preocupación en la autenticación de carne y productos de la carne es la sustitución de materias primas de alto valor con materiales más baratos, como lo son cortes menos costosos, vísceras, sangre, agua, huevo, gluten u otras proteínas de origen animal o vegetal.^{3,4} El molido o procesado de la carne elimina las características morfológicas de los músculos, lo que hace difícil identificar un tipo de músculo de otro. Por esta razón, la sustitución de carne de una especie por otra de menor calidad, es una forma económica de adulteración en la industria de la carne y constituye un acto fraudulento que podría tener repercusiones económicas y de salud.⁵

La intensificación de la agricultura y la urbanización en las últimas décadas ha creado una gran preocupación en muchos consumidores sobre la autenticidad y la inocuidad de la carne.^{4,6,7} Por lo tanto, los métodos de análisis se han centrado en la identificación de las especies de carne en crudo, cocida y productos elaborados.

La identificación de carne de diferentes especies, así como la diferenciación entre carne fresca y congelada, se han llevado a cabo por métodos inmunológicos^{8,9} procedimientos enzimáticos,¹⁰ técnicas de electroforesis,¹¹ PCR y Real-time PCR.^{12,13} Estos métodos permiten detectar una amplia gama y bajos niveles de adulteración. En general, los métodos que usan DNA y RNA para la identificación de los productos son suficientemente confiables y su fiabilidad es más alta que la de otros métodos.¹⁴ Sin embargo, estas técnicas son destructivas, toman mucho tiempo, la metodología es tediosa y de alto costo, lo que las hace poco aptas para la aplicación en línea.¹⁵⁻¹⁷

Es necesario contar con métodos rápidos y confiables para la detección de la adulteración de la carne, a fin de aplicar los reglamentos y garantizar el control de calidad de los productos. Los métodos para lograrlo deberán ser específicos, sensibles, rápidos, económicos y capaces de analizar los productos procesados, cocidos, así como las carnes crudas, y proporcionar resultados cuantitativos.⁵ La espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) es una técnica versátil, rápida, de bajo costo y no tediosa, por no tener que preparar laboriosamente las muestras; éstas son las ventajas más importantes de esta tecnología, en comparación con los procedimientos antes mencionados.¹⁸

En el área de productos cárnicos la mayoría de los métodos de evaluación relacionados con NIRS han involucrado el desarrollo de calibraciones para la pre-

NIRS has been used to determine the suitability of products such as: fat substitutes in sausages,²² identification of meat from different animal categories,¹⁹⁻²³ identification of meat from different animal breeds,¹⁹⁻²⁴ differentiation between fresh and frozen meat,²⁵⁻²⁶ discrimination of animals fed with different feeding systems.²⁷⁻³⁰

Currently, there is information on how NIRS can also be used for the detection and quantification of different meat species such as kangaroo and beef,³¹ lamb and calf,³² beef, pork, chicken and lamb,^{12,33-35} and detection of meat mixes.³⁶ However, there are only a few studies on the identification and authentication of non-traditional meats, especially exotic meats.³⁷ Besides having little information available on the quantitative and qualitative characteristics of meat from llamas and horses, there are also few studies on the use of NIRS for the chemical analysis and as discriminant for meat quality and meat subproducts such as the jerky from these species.

This study examines the accuracy of the visible spectroscopy (VIS) and near infrared (NIR) to identify beef, llama and horse jerky, through the discriminant analysis of the spectrums obtained from jerky samples of these species.

Material and methods

Samples

Samples were taken from beef (n = 20), llama (n = 20), and horse (n = 20) jerky bought at different supermarkets and butcheries. In order to guarantee the diversity of the samples, no more than two of them were bought with the same brand and same packaging date. The beef and horse jerky samples were bought at the local market of Valdivia and Temuco, while the llama jerky was bought at the local market of Arica. The anatomical origin, age or treatment previous to storing was not determined. The samples were stored at room temperature the day before the analysis. The edges were cut out as well as any evidence of intramuscular fat, later they were ground in a food processor* and were completely homogenized by hand. Finally, they were kept in sealed plastic bags until their processing.

Spectra

Each sample was homogenized at room temperature and divided into three subsamples which served to carefully fill in three ring cells with quartz windows (35 mm diameter and 10 mm depth). The spectra were taken in the range of 400 to 2500 nm at intervals of 2 nm. A NIRSystems model 6500 equipment* was used

dicción cuantitativa de la composición química, física y sensorial de la carne.¹⁹⁻²¹

La NIRS se ha usado para determinar la idoneidad de productos como: sustitutos de la grasa en embutidos,²² identificación de carne procedente de diferentes categorías de animales,¹⁹⁻²³ identificación de carne procedente de diferentes razas de animales,¹⁹⁻²⁴ diferenciación de carne fresca y congelada,²⁵⁻²⁶ discriminación de carne de animales engordados con diferentes sistemas de alimentación.²⁷⁻³⁰

En la actualidad, existe información sobre cómo la NIRS puede también usarse para la detección y cuantificación de carne de diferentes especies, como la de canguro y bovino,³¹ cordero y ternera,³² vacuno, cerdo, pollo y cordero^{12,33-35} y detección de mezclas de carnes.³⁶ Sin embargo, no se conocen trabajos sobre la identificación y autenticación de carnes no tradicionales, especialmente de carnes exóticas.³⁷ Además de ser poca la información existente respecto a características cuantitativas y cualitativas de carne de especies como llamas y caballos, también lo son los estudios que se han realizado en la utilización de la técnica NIRS como herramienta para el análisis químico y como herramienta discriminante de calidad de carne y subproductos cárnicos como charqui de estas especies.

El presente estudio analiza la exactitud de la espectroscopia visible (VIS) y cercano infrarrojo (NIR) para identificar charqui de bovinos, llamas y caballos, a través del análisis discriminante de los espectros obtenidos a partir de muestras de charqui de estas especies.

Material y Métodos

Muestras

Se tomaron muestras de charqui de bovino (n = 20), llama (n = 20) y caballo (n = 20) comprada en diferentes supermercados y carnicerías. Para garantizar la diversidad de las muestras, se compraron no más de dos muestras de la misma marca y de la misma fecha de envasado. Las muestras de bovinos y caballos se adquirieron en el mercado local de Valdivia y Temuco, y las de llama se compraron en el mercado local de Arica. No se intentó identificar el origen anatómico, la edad o el tratamiento preliminar de almacenamiento de las muestras. Todas las muestras fueron almacenadas a temperatura ambiente en los días previos al análisis espectroscópico. Las muestras se prepararon eliminando los bordes y alguna evidencia de grasa intermuscular, y posteriormente se molieron en un procesador de alimentos,* se homogeneizaron completamente a mano, y se guardaron en bolsas de plástico selladas hasta su procesamiento.

*Moulinex 123, China.

for the spectra readings, with a reflectance detector and a sample rotation module. The WinISI 1.04 software³⁸ was used to manage the equipment, process optical data and develop calibrations. The absorbance values ($[\log (1/R)]$) were kept as the average of the three subsamples.

Discriminant analysis

A discriminant analysis was carried out to identify beef, llama and equine jerky by using regression equations with the multivariate method of the partial (PLS 2) least squares.³⁸ The spectra files were separated for each one of the species, and discriminant equations were generated with the program WinISI II version 1.02 A. This method of analysis established a calibration matrix with all the samples, assigning them dummy variables with a value of 2 if the spectrum belongs to a particular group (according to the file), or a value of 1 if it does not belong to this group. The calibration was carried out using the spectra data of the samples using reference values (one or two) assigned as dummy variables. Cross validation was used to check the precision of the calibration and reach a minimum value of standard error in the validation.¹⁹ Different mathematical treatments were tested in the development of the equations, trying the best combinations. According to this equation, the sample was classified according to a specific category (beef, llama or horse) if the prediction value of the dummy was ± 0.5 . In order to visualize the relative position of the samples from different species they are graphically presented in three planes through PCAs.

Results

Spectra characterization

Figure 1 shows the average spectrum in the visible and near infrared (400-2500 nm) regions for the average of every sample of beef, llama and horse jerky. It is possible to observe visible differences between the absorption spectra of the species in the visible region (respiratory and muscular pigments) and in the near infrared region (fat, protein and water content).

In the visible region, absorption bands in the 430 and 540 nm are observed. The beef samples present absorption bands that are higher than those from llama and horse.

In the region of NIRS, absorption bands of 984-996 (second overtone of OH), 1450-1460 (first overtone of OH) and 1936-1946 (combined tone) nm were observed related to water absorption, in 1014-1032 (second overtone of NH_2), 1470-1472, 1480-1482 (first

Espectro

Cada muestra se homogeneizó a temperatura ambiente y se dividió en tres submuestras, con las cuales se llenaron cuidadosamente tres cubetas circulares con ventana de cuarzo de 35 mm de diámetro y 10 mm de espesor. Los espectros fueron tomados en el rango de 400 a 2500 nm a intervalos de 2 nm. En la lectura de los espectros se utilizó un equipo monocromador NIRSystems modelo 6500,* con detector de reflectancia y un módulo de rotación de muestras. Se utilizó un software WinISI 1.04³⁸ para manejar el equipo, procesar los datos ópticos y desarrollar las calibraciones. Los valores de absorbancia $[\log (1/R)]$ se almacenaron como promedio de las tres submuestras.

Análisis discriminante

Con el fin de identificar el charqui de bovino, llama y equino, se realizó un análisis discriminante mediante ecuaciones de regresión usando el método multivariado de los cuadrados mínimos parciales (PLS 2).³⁸ Se separaron los archivos espectrales para cada una de las especies, y con el programa WinISI II versión 1.02 A, se generaron las ecuaciones discriminantes. En este método de análisis se establece una matriz de calibración con todas las muestras, asignándoles variables dummy con un valor 2 si el espectro pertenece a un grupo en particular (de acuerdo con el archivo), o un valor 1 si no pertenece a ese grupo. La calibración se realizó con los datos espectrales de las muestras utilizando los valores de referencia (uno o dos) asignados como variables dummy. La validación cruzada se utilizó para comprobar la precisión de la calibración y lograr un mínimo valor de error estándar en la validación.¹⁹ En el desarrollo de las ecuaciones se probaron diferentes tratamientos matemáticos, intentando las mejores combinaciones. De acuerdo con esta ecuación, la muestra se clasificó según una categoría específica (bovino, llama o caballo) si el valor de predicción de dummy fue de ± 0.5 . Para visualizar la posición relativa de las muestras de diferentes especies se presentan gráficamente en tres planos por medio del PCAs.

Resultados

Caracterización espectral

En la Figura 1 se muestra el espectro promedio en las regiones del visible y el infrarrojo cercano (400-2500 nm) para el promedio de todas las muestras de charqui de bovino, llama y caballo. Se observan diferencias

*Foss NIRSystems, Silver Spring, MD, Estados Unidos de América.

overtone of CONHR), 2046-2066, 2176-2186, 2296-2306 (combination of NH₂, CONH₂, CONHR) nm were related to protein contents and in 1166-1176 (second overtone of CH), 1190-1200 (second overtone of CH₃), 1720-1730 (first overtone of CH₂), 2304-2308, 2344-2348 (combined tones of CH₃, CH₂, CH) nm were related to fat content. In general, the samples of llama and beef have an absorption band of higher intensity and variability in the NIRS region when compared to horse samples.

The second order derivative (2D) is calculated to highlight the peaks of absorbance of the sample average (B, L and C) and to reduce the effects of the factors causing base changes (particle size, water content, etc), while the spectra data underwent a mathematical treatment of 2-5-4-1 with an emphasis on the useful spectra information, to allow the resolution of the peak overlap. In other words, first there was a subtraction followed by another one on the absorbance data at a difference of 5 data points over the entire spectrum, after flattening the segments of 5 data points. This modification is shown in Figure 2, covering the NIRS range, from 400 to 2500 nm. The base line changes have been almost eliminated, a certain degree of overlapping has been resolved, and the differences between species in the absorption are limited to some significant wave lengths. Therefore, Figure 2 shows important differences between groups B, L and E in the bands related to absorption, due to the OH,

visibles entre los espectros de absorción de las especies en la región visible (pigmentos respiratorios y musculares) y en la región del cercano infrarrojo (contenido de grasa, proteína y agua).

En la región visible (400-700nm), se observan bandas de absorción en 430 y 540 nm. Las muestras de bovino presentan bandas de absorción más altas que las de llama y caballo.

En la región NIRS se observaron bandas de absorción en 984-996 (segundo sobretono de OH), 1450-1460 (primer sobretono de OH) y 1936-1946 nm (tono combinado) relacionadas con contenido de agua, en 1014-1032 (segundo sobretono de NH₂), 1470-1472, 1480-1482 (primer sobre tono de CONHR), 2046-2066, 2176-2186, 2296-2306 nm (combinación de NH₂, CONH₂, CONHR) relacionados con contenido de proteína y en 1166-1176 (segundo sobretono de CH), 1190-1200 (segundo sobretono de CH₃), 1720-1730 (primer sobre tono CH₂), 2304-2308, 2344-2348 (combinación de tono de CH₃, CH₂, CH) nm relacionados con contenido de grasa. En general, en la región NIRS las muestras de llama y bovino tienen banda de absorción de mayor intensidad y variabilidad comparada con las muestras de caballo.

La derivada de segundo orden (2D) se calcula para acentuar los picos de absorbancia del promedio de las muestras (B, L y C) y reducir los efectos de los factores que causan los cambios de base (tamaño de las partículas, contenido de agua, etc.) y, para permitir la resolución de la superposición de picos se aplicó a los datos espectrales un tratamiento matemático de 2-5-4-1, haciendo hincapié en la información espectral útil. Es decir, primero se realizó una sustracción y después otra en los datos de absorbancia a una diferencia de 5 puntos de datos en todo el espectro, después de aplanar los segmentos de 5 puntos de los datos. Esta modificación se presenta en la Figura 2, cubriendo el rango NIR, desde 400 a 2500 nm. Los cambios de línea de base han sido casi eliminados, se ha resuelto cierto grado de solapamiento; y las diferencias entre especies en la absorción se limitan a algunas longitudes de onda significativas. Por lo tanto, la Figura 2 muestra diferencias importantes entre los grupos B, L y E en las bandas relacionadas con la absorción, por los enlaces OH, CH y NH, que podría ser útil para diferenciar grupos de productos cárnicos.

Aunque se observan diferencias entre los grupos espectrales promedio de los charquis de bovino, llama y caballo, se consideró necesario recurrir a un análisis discriminante que permitiera obtener una mayor información asociada con los tipos de muestras que se estaban utilizando.

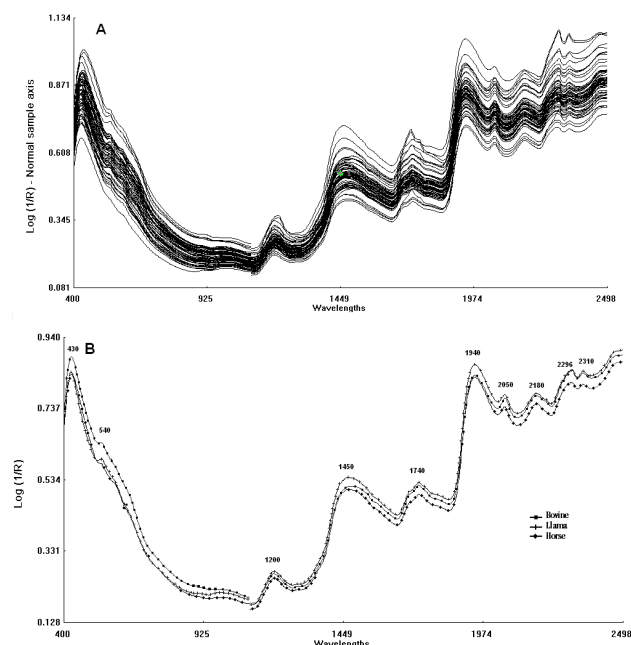


FIGURA 1. Valores originales (A) y promedio (B) del espectro [log (1/R)] correspondiente a muestras de charqui de bovino (■), llama (+) y caballo (◆).

FIGURE 1. Original values (A) and average (B) of the spectrum [log (1/R)] for beef (■), llama (+) and horse (◆) jerky.

CH and NH bonds that could be useful to differentiate groups of meat products.

Even though there are differences between the averages spectra groups of beef, llama and horse jerky, it was decided to perform a discriminant analysis that would allow obtaining more information regarding the types of samples that were used.

Discriminant analysis

Different mathematical treatments were applied during the calibrations, generating several equations with different results in the classification of spectra samples. Table 1 shows the results of the best mathematical treatment (2-12-8-1) for the different species, according to the percentage of spectra samples classified correctly.

Table 1 shows the recognition percentages in the optimization of the PLS model. A 100% rate of recognition was obtained for the llama group, and 95% for the horse group, which means that the 20 samples of each group were properly classified (more than 95%). On the other hand, out of the 20 samples of the beef group, 16 were properly classified and 4 were rejected.

Afterwards, the matrix of absorbance data (2D) was reduced to a system of axis coordinates, so every sample was defined by the punctuation assigned to every PLS component. Once the set of the entire sample was represented in a XYZ plane, it was possible to observe

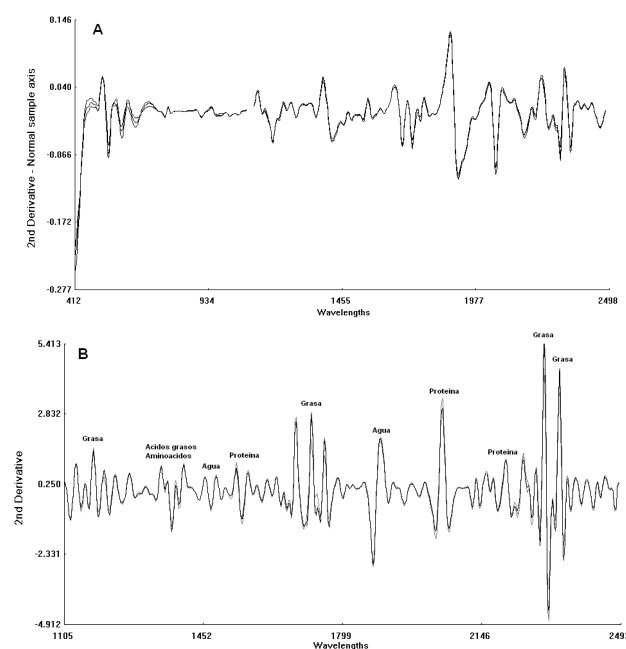


FIGURA 2. Derivada de segundo orden de los espectros promedio de VIS/NIR de charqui de bovino, llama y caballo.

FIGURE 2. Second order derivative of the average spectrums of VIS/NIR of beef, llama and horse jerky.

Análisis discriminante

En el desarrollo de las calibraciones se aplicaron diferentes tratamientos matemáticos, generando sendas ecuaciones con diferentes resultados en la clasificación de las muestras espectrales. En el Cuadro 1 se muestra el resultado del mejor tratamiento matemático (2-12-8-1) para las diferentes especies, de acuerdo con el porcentaje de muestras espectrales clasificadas correctamente.

En dicho cuadro se muestran los porcentajes de reconocimiento en la optimización del modelo PLS. Se obtuvo una tasa de 100% de reconocimiento para el grupo de llama, y 95% para el grupo de caballo, lo que significa que las 20 muestras de cada grupo se clasificaron de manera adecuada (más de 95%). Por otro lado, de las 20 muestras del grupo bovino, 16 fueron clasificadas adecuadamente y 4 fueron rechazadas.

A continuación, la matriz de los datos de absorbancia (2D) se redujo a un sistema de coordenadas del eje, por lo que cada muestra se definió por la puntuación correspondiente a cada componente PLS. Cuando el conjunto de toda la muestra estuvo representada en un plano XYZ de acuerdo con las calificaciones de componente PLS 1, componente PLS 2 y componente PLS 3, fue posible observar tres grupos diferentes (Figura 3): el grupo C, relacionado con los caballos, el grupo B relacionado con los bovinos y el grupo L relacionado con las llamas. Por tanto, las muestras que se encuentran juntas presentan características espectrales similares.

Discusión

En la región visible, los espectros de absorción para hemoglobina se observan a 430 nm,³⁹ mientras que mioglobina, oximioglobina, metamioglobina, y proteínas responsables del color del músculo a menudo tienen una fuerte absorción a 515-700 nm.^{19,34,36}

CUADRO 1

Resultados de la clasificación de las muestras charqui de bovino, llama y caballo realizadas por la ecuación discriminante seleccionada

Results of the classification of the samples of beef, llama and horse jerky carried out by the selected discriminant equation

Characteristic	Beef	Llama	Horse
Samples	20	20	20
Hit	16	19	17
Non hit	0	1	2
Rejected	4	0	1
Total identified	16 (80%)	20 (100%)	19 (95%)

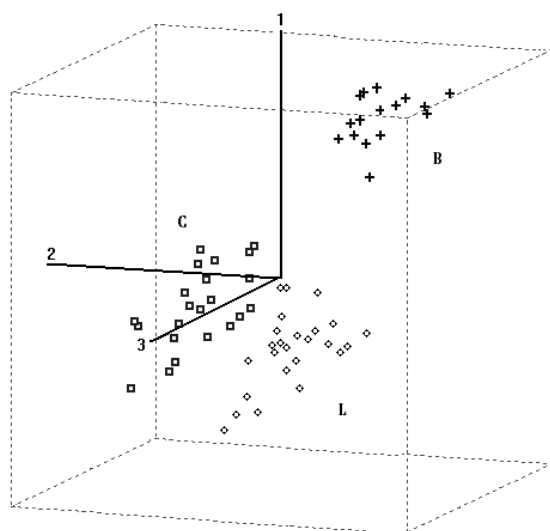


FIGURA 3. Resultados del análisis de componentes principales usados para discriminar charqui de diferentes especies: bovino (+), llama (◇) y caballo (□).

FIGURE 3. Distribution of samples of beef (+), horse (□) and llama (◇), according to the values predicted for each dummy variable.

three different groups (Figure 3): group C related to horses, group B related to beef and group L related to llamas. Therefore, the samples that are together show similar spectra characteristics.

Discussion

In the visible region, the absorption spectra for hemoglobine are observed at 430 nm,³⁹ while myoglobin, oxymyoglobin, metmyoglobin and proteins that are responsible for the color of the muscle usually have a powerful absorption at 515-700 nm.^{19,34,36}

In the NIRS region, it is possible to see absorption spectra of 980, 1440-1460 and 1932-1960 nm that are related to the water content of the samples and a third, second and first overtone of OH, respectively.^{19,23,34,40} Absorption bands around the 1174, 1200-1204 nm are related to the second overtone of CH.^{22,33,35} In 1724, 1738-1740, 1760-1760 nm with first overtone of CH₂,^{19,34} both related to fat and fatty acids and in 2310 nm with a combination of CH associated with fat, saturated and non-saturated fatty acids.³⁴ Several absorption bands also appear for proteins in 1010-1020 (second overtone), 1510 (first overtone), 1980, 2050 and 2180 (combination of tones) nm.^{19,40} These spectra characteristics are coincident with the results obtained here.

Results from different studies show that NIRS allows to discriminate correctly between meat from different animal species, breeds and categories using mathematical models such as regression of the partial least squares (PLS), analysis of main components

En la región NIRS se muestran espectros de absorción de 980, de 1440-1460 y de 1932-1960 nm, relacionados con contenido de agua de las muestras y con tercero, segundo y primer sobretono de OH respectivamente.^{19,23,34,40} Alrededor de 1174, 1200-1204 nm, las bandas de absorción están relacionadas con el segundo sobretono de CH.^{23,34,36} En 1724, 1738-1740, 1760-1760 nm con primer sobretono de CH₂,^{19,34} ambos relacionados con grasa y ácidos grasos y en 2310 nm con combinación de CH asociado con contenido de grasa, ácidos grasos saturados y no saturados.³⁴ Varias bandas de absorción aparecen también para proteínas en 1010-1020 (segundo sobretono), 1510 (primer sobretono), 1980, 2050 y 2180 nm (combinación de tonos).^{19,40} Estas características espectrales concuerdan con los resultados aquí obtenidos.

Resultados de diferentes trabajos muestran que la NIRS permite discriminar correctamente carne de diferentes especies, razas y categorías de animales usando modelos matemáticos como regresión de cuadrados mínimos parciales (PLS), análisis de componentes principales (PCA), análisis multivariado (MANOVA) y SIMCA (Soft Independent Modeling Class Analogy). Prieto *et al.*²³ clasificaron correctamente 100% de las muestras de carne de los grupos de bovinos (animales jóvenes y toros castrados), Cozzolino y Murray,³⁴ usaron PCA y PLS, con el cual identificaron correctamente más del 80% de muestras de carne de diferentes especies (bovino, cerdo, pollos y ovinos), Ding y Xu³¹ identificaron correctamente 100% de las muestras de carne de diferentes especies (bovinos y kanguro), Alomar *et al.*¹⁸ identificaron correctamente 78% de las muestras de carne de diferentes razas de bovinos (Friesian y Hereford) usando PLS, Ripoll *et al.*²⁴ identificaron 48.9% de las muestras de carne procedente de diferentes razas de caprinos, y Ortiz-Somovilla *et al.*³⁶ clasificaron correctamente 92% de las salchichas de cerdo frescas de los curados, usando PLS y Mamani-Linares *et al.*³⁷ identificaron correctamente las muestras de todas las especies (bovino, llama y caballo) por el espectro de absorción de su carne (reflectancia) o jugo de su carne (transflectancia).

Se concluye que la espectroscopia visible y del cercano infrarrojo (NIRS-VIS), combinada con el análisis de regresión PLS basado en variables "dummy" puede ser utilizada como una herramienta para discriminar charqui de bovino, llama y caballo, a través del análisis de los datos espectrales.

Agradecimientos

Los autores desean agradecer al proyecto MECESUP2 AUS 0601 del gobierno de Chile por proporcionar la beca WML y financiar este estudio. Asimismo, el agra-

(PCA), multivariate analysis (MANOVA) and SIMCA (soft independent modeling class analogy). Prieto *et al.*²³ classified correctly a 100% of the meat samples of beef groups (young animals and castrated bulls); Cozzolino and Murray,³⁴ using PCA and PLS, identified correctly more than 80% of the meat samples of different species (beef, pork, chicken and ovine); Ding and Xu³¹ identified correctly a 100% of the meat of different species (beef and kangaroo); Alomar *et al.*¹⁸ identified correctly 78% of the meat samples of different bovine breeds (Friesian and Hereford) using PLS; Ripoll *et al.*²⁴ identified 48.9% of the samples of meat from different caprine breeds; Ortiz-Somovilla *et al.*³⁶ classified correctly 92% of the fresh pork sausages of the curates, using PLS; and Mamani-Linares *et al.*³⁷ identified correctly the samples of all species (beef, llama and horse) by their meat (reflectance) or meat juice (transflectance) spectra.

It is concluded that visible spectroscopy and near infrared (NIRS-VIS) combined with PLS regression analysis based on dummy variables can be used as a tool to discriminate beef, llama and horse jerky through the spectral data analysis.

Acknowledgements

The authors would like to thank the project MECE-SUP2 AUS 0601 of the Chilean Government for granting the WML scholarship and for financing this study. Also, special thanks to the Postgraduate School of the Faculty of Veterinary Sciences for support, and to the technical assistance provided by the staff at the Laboratory of Animal Nutrition of the Faculty of Agricultural Sciences of the Universidad Austral de Chile.

References

1. MONIN G. Recent methods for predicting quality of whole meat. *Meat Sci* 1998; 49: S231-S243.
2. CORDELLA CH, MOUSSA I, MARTEL AC, SBIRRAZZUOLI N, LIZZANI-CUVELIER L. Recent developments in food characterization and adulteration detection: Technique-oriented perspectives. *J Agric Food Chem* 2002; 50: 1751-1764.
3. HARGIN KD. Authenticity issues in meat and meat products. *Meat Sci* 1996; 43: 277.
4. ALJOWDER O, KEMSLEY K, WILSON RH. Detection of adulteration in cooked meat products by mid-infrared spectroscopy. *J Agric Food Chem* 2002; 50: 1325-1329.
5. MEZA-MARQUEZ OG, GALLARDO-VELAZQUEZ T, OSORIO-REVILLA G. Application of mid-infrared spectroscopy with multivariate analysis and soft independent modeling of class analogies (SIMCA) for the detection of adulterants in minced beef. *Meat Sci* 2010; 86: 511-519.

decimientos es extensivo a la escuela de graduados de la Facultad de Ciencias Veterinarias por el apoyo y la asistencia técnica prestada por el personal del Laboratorio de Nutrición Animal de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Austral de Chile para el desarrollo de este trabajo.

6. ALJOWDER O, DEFERNEZ M, KEMSLEY K, WILSON RH. Mid-infrared spectroscopy and chemometrics for the authentication of meat products. *J Agric Food Chem* 1999; 47: 3210-3218.
7. MURRAY I, AUCOTT L, PIKE IH. Use of discriminant analysis on visible and near infrared reflectance spectra to detect adulteration of fishmeal with meat and bone meal. *J Near Infrared Spectrosc* 2001; 9: 297-311.
8. PATTERSON RLS, JONES SJ. Review of current techniques for the verification of the species origin of meat. *Analyst* 1990; 115: 501-505.
9. SMITH CJ. Applications of immunoassay to the detection of food adulteration. An overview. In: MORGAN MRA, SMITH CJ, WILLIAMS PA, editors. *Food safety and quality assurance-applications of immunoassay Systems*. London: Elsevier Applied Science, 1991: 13-32.
10. SHARMA NK, SRIVATAVA VA, GILL JPS, JOSHI DV. Differentiation of meat from food animals by enzyme assay. *Food Control* 1994; 5: 219-221.
11. SIEBERTE S, BENEKE B, BENTLER W. Beef, pork, and sheep meat-detecting previous frozen treatment by isoelectric-focusing in polyamide acryl gel (PAGIF) during routine diagnosis. *Fleischwirtschaft* 1994; 74: 417-420.
12. FAJARDO V, GONZALEZ I, LOPEZ-CALLEJA I, MARTIN M, ROJAS T, GARCIA PE *et al.* PCR identification of meats from chamois (*Rupicapra rupicapra*), pyrenean ibex (*Capra pyrenaica*), and mouflon (*Ovis ammon*) targeting specific sequences from the mitochondrial D-loop region. *Meat Sci* 2007; 76: 644-652.
13. KESMEN Z, GULLUCE A, SAHIN F, YETIM H. Identification of meat species by TaqMan-based real-time PCR assay. *Meat Sci* 2009; 82: 444-449.
14. RAAMSDONK LWD, HOLST C, BAETEN V, BERBEN G, BOIXA, JONG J. New developments in the detection and identification of processed animal proteins in feeds. *Anim Feed Sci Tech* 2007; 133: 63-83.
15. AHMED FE. Detection of genetically modified organisms in foods, *Trends Biotechnol* 2002; 20: 215-223.
16. LIU Y, LYON BG, WINDHAM WR, LYON CE, SAVAGE EM. Prediction of physical, color, and sensory characteristics of broiler breasts by visible/near infrared reflectance spectroscopy. *Poult Sci* 2004; 83: 1467-1474.
17. PRIETO N, ROSS DW, NAVAJAS EA, NUTE GR, RICHARDSON RI, HYSLOP JJ *et al.* On-line application of visible and near infrared reflectance spectroscopy to predict chemical-physical and sensory characteristics of beef quality. *Meat Sci* 2009; 83: 96-103.

18. ALISHAHI A, FARAHMAND H, PRIETO N, COZZOLINO D. Identification of transgenic foods using NIR spectroscopy: A review. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 2010; 75: 1-7.
19. ALOMAR D, GALLO C, CASTAÑEDA M, FUCHSLOCHER R. Chemical and discriminant analysis of beef meat by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS). *Meat Sci* 2003; 63: 441-450.
20. VILJOEN M, HOFFMAN LC, BRAND TS. Prediction of the chemical composition of mutton with near infrared reflectance spectroscopy. *Small Rum Res* 2007; 69: 88-94.
21. RIPOLL G, ALBERTÍ P, PANEÁ B, OLLETA JL, SAÑUDO C. Near-infrared reflectance spectroscopy for predicting chemical, instrumental, and sensory quality of beef. *Meat Sci* 2008; 80: 697-702.
22. ELLEKJAER MR, NAES T, ISAKSSON T, SOLHEIM R. Identification of sausages with fat-substitutes using near infrared spectroscopy. In: HILDRUM KI, ISAKSSON T, NAES T, TANDBERG A, editors. *Near infrared spectroscopy: Bridging the gap between data analysis and NIR applications*. London: Ellis Horwood, 1992: 320-326.
23. PRIETO N, ANDRES S, GIRALDEZ FJ, MANTECON AR, LAVIN P. Discrimination of adult steers (oxen) and young cattle ground meat samples by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS). *Meat Sci* 2008; 79: 198-201.
24. RIPOLL G, ALCALDE MJ, HORCADA A, PANEÁ B. Suckling kid breed and slaughter weight discrimination using muscle colour and visible reflectance. *Meat Sci* 2011; 87: 151-156.
25. DOWNEY G, BEAUCHENE D. Discrimination between fresh and frozen then thawed beef M longissimus dorsi by combined visible and near infrared reflectance spectroscopy: A feasibility study. *Meat Sci* 1997; 45: 353-363.
26. THYOLDT K, ISAKSSON T. Differentiation of frozen and unfrozen beef using near infrared spectroscopy. *J Sci Food Agric* 1997; 73: 525-532.
27. OSORIO MT, ZUMALACARREGUI JM, PRIETO N, GIRALDEZ FJ, ANDRES S, MATEO J. Differentiation between carcasses from suckling lambs reared with ewe milk or milk replacers by fatty acid composition and near infrared reflectance spectroscopy of perirenal fat. *Small Rum Res* 2007; 72: 221-226.
28. PLA M, HERNANDEZ P, ARIÑO B, RAMIREZ JA, DIAZ I. Prediction of fatty acid content in rabbit meat and discrimination between conventional and organic production systems by NIRS methodology. *Food Chem* 2007; 100: 165-170.
29. DIAN PHM, ANDUEZA D, JESTIN M, PRADO IN, PRACHE S. Comparison of visible and near infrared reflectance spectroscopy to discriminate between pasture-fed and concentrate-fed lamb carcasses. *Meat Sci* 2008; 80: 1157-1164.
30. TEJERINA D, LOPEZ-PARRA MM, GARCIA-TORRES S. Potential used of near infrared reflectance spectroscopy to predict meat physico-chemical composition of guinea fowl (*Numida meleagris*) reared under different production systems. *Food Chem* 2009; 113: 1290-1296.
31. DING HB, XU RJ. Differentiation of beef and kangaroo meat by visible and near infrared reflectance spectroscopy. *J Food Sci* 1999; 64: 814-817.
32. MCELHINNEY J, DOWNEY G. Chemometric processing of visible and near infrared reflectance spectra for species identification in selected raw homogenized meat. *J Near Infrared Spectrosc* 1999; 7: 145-154.
33. DOWNEY G. Discrimination strategies in food authentication: What is the correct question to ask? *NIR News* 2000; 11: 8-9.
34. COZZOLINO D, MURRAY I. Identification of animal meat muscles by visible and near infrared reflectance spectroscopy. *Lebensm Wissenschaft Technol* 2004; 37: 447-452.
35. GAYO J, SCOTT AH. Detection and Quantification of Species Authenticity and Adulteration in Crabmeat Using Visible and Near-Infrared Spectroscopy. *J Agric Food Chem* 2007; 55: 585-592.
36. ORTIZ-SOMOVILLA V, ESPAÑA-ESPAÑA F, DE PEDRO-SANZ EJ, GAITAN-JURADO AJ. Meat mixture detection in Iberian pork sausages. *Meat Sci* 2005; 71: 490-497.
37. MAMANI-LINARES LW, GALLOC, ALOMAR D. Identification of cattle, llama and horse meat by near infrared reflectance o transfectance spectroscopy. *Meat Sci* 2012, 90, 378-385
38. ISI (INFRASOFT INTERNATIONAL, LLC). ISI windows near infrared software, WinISI II, version 1.02A, Foss NIRSystems, Silver Spring, MD, 1999: 236.
39. STRYER L. *Biochemistry*. 4th ed. New York: Stanford University, WH Freeman and Co., 1995.
40. CEN H, HE Y. Theory and application of near infrared reflectance spectroscopy in determination of food quality. *Trends Food Sci Technol* 2007; 18: 72-83.