

CAPÍTULO

7



Uso de la espectroscopia de reflectancia

en el infrarrojo
cercano (NIRs)
en el análisis
del zea mays l

POR

Manly Enrique **ESPINOSA BENAVIDES**

Jenny Marianela **TITUAÑA CHÁVEZ**

Fátima Verenice **TROYA GUALAVISÍ**

Luis Humberto **HARO BEDÓN**

Introducción

El grano de maíz es el ingrediente más utilizado en la alimentación de especies pecuarias, especialmente en la nutrición avícola, porcina y de otras especies, formando parte de su ración diaria en una alta proporción, preferido por su aporte de nutrientes, principalmente por su excelente contenido de hidratos de carbono de fácil digestión para las diferentes especies.

En Ecuador, la demanda de alimentos balanceados está en aumento, pues numerosas industrias utilizan equipos de alta tecnología y confiabilidad, como es el uso de la espectroscopia en el infrarrojo cercano NIRs (Near Infrared Spectroscopy), una de las propuestas tecnológicas modernas que basada en curvas de calibración llega a determinar y controlar el proceso de análisis de composición nutricional o de predicción en un lapso muy breve de tiempo. Valenciaga & Oliveira (2006) expresan que el éxito de la técnica puede atribuirse en gran parte a su habilidad para hacer análisis ordinarios rápidos con alta repetitividad, reproducibilidad y exactitud en laboratorios de nutrición animal, lo cual permite tomar decisiones rápidamente con respecto a la calidad del alimento. Es posible aplicar estas tecnologías innovadoras para la determinación confiable de los nutrientes del maíz y que sean de un alcance casi inmediato de los resultados.

Los productores de maíz en Ecuador no disponen de un método simple, rápido y exacto para el análisis de nutrientes porque este tipo de tecnología no está a su alcance o desconocen su existencia. En este contexto, actualmente es necesario incorporar nuevas tecnologías que permitan lograr un análisis rápido de la composición química posibilitando supervisar el valor alimenticio de la materia prima y del producto terminado para tomar decisiones basadas en resultados reales y confiables.

Ferrari & Quaresima (2004) señalan que las técnicas espectroscópicas en el infrarrojo cercano (reflectancia) utilizadas para determinar el valor nutritivo de maíz tienen algunas ventajas sobre los métodos de referencia tradicionales teniendo en cuenta el tiempo de análisis y la no generación de residuos, además de los bajos costos, justificando su uso en el análisis ordinario para el control de calidad y la formulación de piensos en el área de la nutrición animal; Vivar (2009) concuerda con Ferrari y aduce que el NIRS se presenta como una verdadera ventaja, especialmente en las empresas, para predecir con exactitud en poblaciones que cuenten con un gran número de muestras, siempre y cuando se verifique el funcionamiento diario de las pruebas de diagnósticos para así hacer posible la identificación e interpretación de cualquier situación anómala o datos erróneos.

Materiales y métodos

Materiales

Fundas de ziploc, fundas de papel cera, libro de campo, platos de aluminio, papel filtro y crisol.

Reactivos

Éter, ácido sulfúrico, hidróxido de potasio (35 %), acetona, agua destilada, alcohol potable (95-96 %), pastilla catalizadora (kjeltabs st), agua oxigenada (30 % w/v), ácido clorhídrico (37 %) y ácido bórico (25 %).

Equipos

Balanza analítica Adam PW254, molino Retsch GM200,, bomba calorimétrica Parr 6100, equipo soxhlet Extractor de grasa Velp serie 1486, equipo de kjeldahl analizador de proteína Velp DK6, bureta, analizador de fibra Velp FIWE3, mufla Daihan modelo Wisetherm, estufa Memmert básica, software ucal (unity), equipo nirs Spectra Star modelo 2400 - RTW, Equipo NIRs, Software Ucal Software Infostar 3.10.0

Métodos

La información utilizada para el desarrollo de esta investigación se generó tomando como base los datos de laboratorio y espectrales.

Se emplearon cien muestras de maíz duro (*Zea Mays L.*) procedentes de las distintas provincias productoras de este cereal en el Ecuador, MAGAP (2015). Las muestras fueron secadas en la estufa (memmert) a 110°C por 24 horas y posteriormente fueron molidas en el molino a 0,9 rev/min; luego, fueron analizadas químicamente en el laboratorio de bromatología de la PUCE-SI. Se obtuvo entonces la siguiente composición química: materia seca, energía (bomba calorimétrica), cenizas (incineración de las muestras 500°C por tres horas), proteína cruda (digestor Kjeldahl), fibra bruta (hidrólisis sucesivas) y grasa (extracción con un solvente (éter). Los análisis químicos se expresaron con base en materia seca, empleando para la obtención de los resultados un tiempo de aproximadamente 48 horas

Las mismas muestras de maíz secas y molidas fueron analizadas en un rango de longitud de onda de 1.200-2.400 nm, en el equipo Spectra Start modelo 2.400-RTW en un adaptador ISI, requiriendo para cada lectura un tiempo aproximado de 45 segundos. Los datos de reflectancia fueron trasladados al software Ucal y se generó un modelo estadístico matemático a través de este software, que relacionó los análisis de composición obtenidos por bromatología con los espectros medidos a diferentes longitudes de onda. Estos datos se obtuvieron de cada una total de las muestras escaneadas para la predicción del contenido de nutrientes.

El modelo matemático aplicado a los espectros fue un PCR (Regresión por Componentes Principales), método de análisis cuantitativo que requirió una selección pre-

via de las variables significativas de energía, proteína, grasa, cenizas, fibra y humedad, a partir de las cuales se constituye la ecuación de regresión. Por este método se consiguió condensar la información inicial en un número de variables inferior al original (con los componentes principales se logra reducir el número de variables y los CP son nuevas variables incorrelacionadas combinaciones lineales de las variables originales).

La validación de la técnica empleada se llevó a cabo con un análisis químico de 12 nuevas muestras de maíz; igualmente se hizo la lectura de los espectros en el equipo NIRs y los datos obtenidos de las dos técnicas fueron comparados y relacionados. Los parámetros estadísticos de estos datos fueron calculados con el software UCal.

Resultados y discusión

A continuación se presentan los resultados del análisis de contenido de nutrientes en las muestras de maíz provenientes de las principales zonas de producción de este cereal en Ecuador.

Análisis de composición química

En la **TABLA 1** se presenta la composición química de las muestras en lo que concierne a humedad, energía bruta, proteína cruda, fibra cruda, grasa y ceniza del *Zea mays* L., y se muestran los respectivos valores promedios de las provincias en estudio del Ecuador:

TABLA 1. Composición química de las muestras de maíz

Provincia	(%) Humedad	Energía Mcal/kg	% Proteína cruda	% Fibra cruda	% Grasa	% Ceniza
Los Ríos	7,76	3,705	7,51	2,08	4,73	1,45
Guayas	7,43	3,687	6,88	2,11	4,54	1,50
Manabí	8,46	3,745	6,36	2,03	4,76	1,56
Loja	7,84	3,760	8,32	1,89	4,92	1,32

Humedad

La **TABLA 1** muestra el contenido de humedad (en %) en las muestras estudiadas. Se encontró que el maíz del Guayas presenta la menor cantidad de humedad con el 7,43 %, seguido por Los Ríos con 7,76 %, Loja con 7,84 % y Manabí con el 8,46 %. La UNA (Unidad Nacional de Almacenamiento) recomienda que el maíz no debe contener más del 14 % de humedad, ya que este podría ser propenso a la proliferación de hongos. Las muestras analizadas presentan 42 % menor humedad a lo recomendado.

Ferrari & Quaresima (2004) afirman que “la humedad normal para almacenar el grano de maíz y comercializar es del 10%” (p. 59). Según esta afirmación, estas muestras estarían en un rango óptimo para su almacenamiento.

Energía

Dentro de los análisis se determinó que Loja obtuvo el valor más elevado, con un 4% de mayor concentración que el maíz de la provincia de Guayas.

El maíz brasileño, rico en aceite tiene, una mayor concentración con 3,939 Mcal/kg según las tablas de referencia de composición nutricional de Brasil, estableciendo así que el maíz lojano se encuentra 0,179 Mcal/kg más abajo, es decir, el 4.56 % menos Mcal. El maíz contribuye con un importante aporte de energía en alimentación animal y el análisis de sus nutrientes es una herramienta útil para ajustar las matrices de formulación sin la necesidad imperiosa de análisis de digestibilidad con animales.

Proteína

Los resultados indican un alto contenido de proteína en el maíz perteneciente a Loja, seguido del de Los Ríos, mientras que Guayas y Manabí se ubican en los valores más bajos, situándose 23% menos en contenido proteico que el de la provincia de Loja. Con respecto a las tablas FEDNA (2016), Loja se encuentra 0.95 % más bajo que el maíz rico en aceite que tiene un contenido proteico del 8,4%. Es importante recalcar que el maíz más rico en proteína es el procedente de Loja. Según Monteros & Salvador (2015), en esta provincia se aplica la mayor cantidad de nitrógeno en su fertilización con 6.38 qq/ha, y los productores que aplican este macronutriente presentan un rendimiento superior en cuanto a calidad y cantidad, con respecto al resto de provincias.

Fibra cruda

Los Ríos, Guayas y Manabí son las provincias que se destacan en el contenido de este nutriente, teniendo más del 2 % en este componente, mientras que Loja, con el 1,89 %, se sitúa como el valor más bajo. Con referencia a las tablas FEDNA (2016, el maíz perteneciente a Loja, con 2,21 %, se asemejaría al maíz francés, que tiene 2,20 % de fibra. Weiss (1993), citado por Cruz & Sánchez (2000), indica que la fibra cumple un papel muy importante dentro de la alimentación del ganado lechero y rumiantes en general, siendo indispensable para mantener la funcionalidad ruminal. Mientras tanto, Savón (2002) señala que en monogástricos el alimento fibroso puede acelerar el tránsito intestinal y provocar diarreas. Esta aceleración disminuye el tiempo disponible para la digestión y la absorción de nutrientes, por lo que restringe su utilización.

Grasa

Loja, con 4,92 % de grasa, se destaca por su mejor contenido, siendo superior al promedio de las otras provincias estudiadas. El maíz alto en grasa de Brasil tiene 6,30 % de este componente, según las tablas de composición química y valores energéticos (Rostagno, 2011), es decir, Loja se encuentra 21 % más bajo en comparación al maíz brasileño. Este maíz se podría utilizar en la alimentación pecuaria, ya que proporciona energía y ayuda a la absorción de vitaminas liposolubles; además, la grasa sirve como capa interceptora que evita la pérdida de calor manteniendo así la temperatura corporal.

Espectros recogidos mediante la técnica NIRs

Se presenta la información espectral de las cien muestras procesadas, que son el resultado de un escaneo en el equipo NIRs. En la **FIGURA 1** se presenta la colección de espectros correspondientes al set de muestras utilizadas para esta investigación, pudiéndose observar una amplia distribución entre los espectros obtenidos y distribuyéndose en rangos entre 1.200 a 2.400 nm en su longitud de onda con una limitación del largo de R entre -0,05 y 0,6.

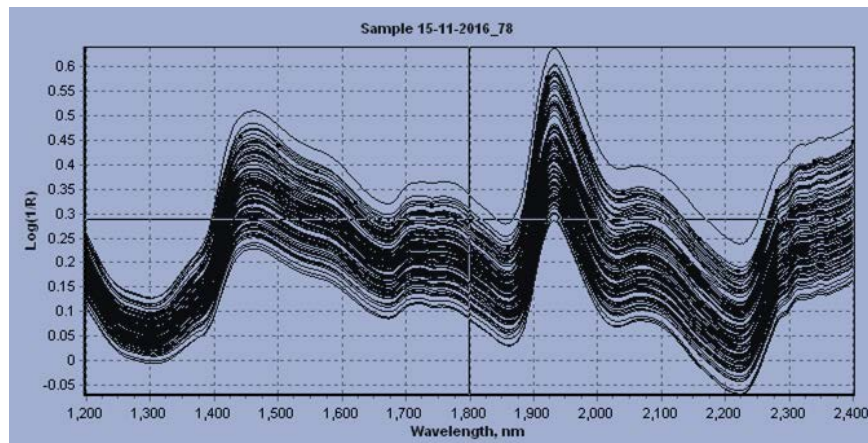


FIGURA 1. Espectros recolectados de las muestras de maíz (*Zea mays L.*).
Fuente: Elaboración propia

Validación para los distintos parámetros del maíz

En la **TABLA 2** se muestra cómo se admitieron los valores obtenidos de bromatología con la lectura de los espectros del *Zea mays L.*, empleado para alimentación animal, por el método de espectroscopia para verificar el modelo de calibración del equipo NIRs de la ECAA.

Los datos estadísticos logrados en los archivos del software Ucal fueron utilizados para comprobar que cada parámetro de predicción (energía, cenizas, grasa, proteína y fibra) dado por el equipo NIRs sea cercano o igual a los valores de referencia (análisis rutinarios) de la materia prima.

El error estándar (SEC) cuantifica las oscilaciones de los datos mostrando su dispersión alrededor de la línea de regresión, los valores obtenidos son: en energía 0.1 %, proteína 0.5 %, fibra 0.5 %, grasa 0.6 % y ceniza 3.2 %; son valores bajos, por tanto el valor de ajuste fue bueno.

El coeficiente de correlación en calibración (RSQ) mostró los siguientes resultados: en energía 0,999; proteína 1.000; fibra 0.994; grasa 0.999 y ceniza 0.909, es decir, que existe correlación positiva, ya que todos los valores están con un valor mayor a cero y se acercan a 1. En el caso de proteína hay una determinación absoluta entre las dos variables, es una relación lineal perfecta $Rsq=1$. Como se puede observar, la correlación de resultados entre los dos métodos empleados tiene asociación muy cercana a la perfección.

TABLA 2. Valores obtenidos en los análisis de bromatología y los predichos en el equipo NIRs de cada provincia

Provincia	Componentes	NIRs	Bromatológico
Los Ríos (Buena Fe)	Humedad (%)	6,370	7,000
	Energía (Mcal/kg)	3,745	3,761
	Proteína (%)	8,250	8,040
	Fibra (%)	2,380	2,240
	Grasa (%)	4,100	4,160
	Ceniza (%)	1,08	1,07
Francisco de Orellana (Joya de los Sachas)	Humedad (%)	6,36	6,00
	Energía (Mcal/kg)	3,741	3,774
	Proteína (%)	7,62	7,32
	Fibra (%)	2,28	2,18
	Grasa (%)	4,25	4,34
	Ceniza (%)	1,16	1,15
Santa Elena (Pechiche)	Humedad (%)	6,2	6,0
	Energía (Mcal/kg)	3,737	3,766
	Proteína (%)	8,29	8,04
	Fibra (%)	2,20	2,06
	Grasa (%)	4,41	4,21
	Ceniza (%)	1,13	1,11
Guayas (Daule)	Humedad (%)	6,2	6,2
	Energía (Mcal/kg)	3,734	3,711
	Proteína (%)	7,42	7,32
	Fibra (%)	2,2	2,2
	Grasa (%)	4,41	4,43
	Ceniza (%)	1,16	1,19

Fuente: Elaboración propia

En cuanto al error estándar de validación (SECV), estos valores muestran una buena estimación, ya que el error de predicción de las muestras no incluidas en la base de datos del producto es bajo, pues se obtuvieron los siguientes datos: para energía 2.4 %, proteína 2.6 %, fibra 1.7 %, grasa 2 % y ceniza 1 % este error es el más bajo en comparación con los otros nutrientes.

En el coeficiente de correlación en calibración de validación (RSQV) se obtuvieron los siguientes resultados: energía 0.999; proteína 1.000; fibra 0.994; grasa 0.999 y ceniza 0.909; la proteína tiene un ajuste perfecto es decir tiene una relación lineal perfecta de las dos variables.

Cozzolino (2002) concluye en su investigación que el NIRS permite a la industria analizar y evaluar alimentos en pocos segundos y distintos parámetros de calidad, mientras que el método bromatológico requiere tiempos superiores a 24 horas.

En la **TABLA 3** podemos observar el promedio general de los valores del laboratorio por el método de análisis bromatológico y los predichos a través de la calibración del NIRs y su cercanía en valores que confiere la confianza en los resultados pronosticados.

TABLA 3. Promedio general de los valores del laboratorio y los predichos en el NIRs

Componentes	NIRs	Bromatológico
Humedad (%)	6,28	6,25
Energía (Mcal/kg)	3,739	3,775
Proteína (%)	8,4	8,18
Fibra (%)	2,27	2,18
Grasa (%)	4,29	4,29
Ceniza (%)	1,13	1,13

Fuente: Elaboración propia

Las calibraciones se van vigorizando y perfeccionando a medida que se incorporan nuevas muestras y muchas veces, esto solo se consigue a lo largo del tiempo. Además, las calibraciones precisan de un mantenimiento que radica en ir añadiendo nueva información con cierta frecuencia a medida que se trabaja con el equipo integrándolo en la rutina del laboratorio. Es decir, que el método del NIRs se robustece siempre y cuando se siga alimentando con más análisis de muestras que le confieran mayor seguridad.

Conclusiones

A partir de los resultados obtenidos y debidamente analizados se concluye:

- El maíz con mejores características de composición mostró ser el de la provincia de Loja, con 3,76 Mcal/kg de energía total, así como en proteína 8,32%, y grasa 4,92%.
- El maíz con mayor porcentaje de ceniza corresponde a las muestras de la provincia de Manabí, con 1,56%, debido a que en su fertilización se emplea mayor cantidad de fósforo y potasio.
- Los datos obtenidos mediante la técnica NIRs aplicada en esta investigación frente a los obtenidos por bromatología, presentaron un margen de error de 1,94% con el análisis de modelo estadístico del programa Ucal.
- Entre la técnica de bromatología y los valores predichos del NIRs se obtuvo una buena relación del 99%, aunque las dos técnicas son seguras y arrojan resultados fiables.

- El tiempo empleado para la obtención de resultados fue mucho más corto a favor de la técnica NIRs frente a la bromatológica, pues se obtuvo la lectura en apenas 45 segundos, frente a las 48 horas necesarias para llevar a cabo los análisis bromatológicos.
- La técnica NIRs, al ser más rápida e igualmente confiable, permite al sector de elaboración de balanceados obtener el análisis de sus muestras en un tiempo muy corto.

Referencias

- Cozzolino, D. (2002) *Uso de la espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRs) en el análisis de los alimentos en animales*. Recuperado del 15 de octubre del 2016 de: <http://www.fagro.edu.uy/agrociencia/VOL6/2/p25-32.pdf>
- Cruz, M.; Sánchez, J. (2000) *La fibra en la alimentación del ganado lechero*. Recuperado el 6 de diciembre del 2016, de http://www.cina.ucr.ac.cr/recursos/docs/Revista/la_fibra_en_la_alimentacion_del_ganado_lechero.pdf
- FEDNA (2016) *Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. Tablas de ingredientes para piensos* (Tablas FEDNA 2010_2016-Noviembre.xlsx)
- Ferrari, M.; Mottola, L.; Quaresima, V. (2004) Principles, techniques, and limitations of near infrared spectroscopy. *Canadian Journal of Applied Physiology*. Descargado el 3 de enero del 2017 de <http://www.humankinetics.com/acucustom/sitename/Documents/DocumentItem/3960.pdf>
- MAGAP (2015) *Una visión del 2015*. Descargado el 16 de enero octubre del 2016 de http://sinagap.agricultura.gob.ec/pdf/estudios_agroeconomicos/panorama_agroeconomico_ecuador2015.pdf.
- Monteros; Salvador (2015) *Panorama agroeconómico del Ecuador*. Artículo de la Dirección de Análisis y Procesamiento de la Información Coordinación General del SINAGAP. Recuperado el 13 de octubre del 2016 de: http://sinagap.agricultura.gob.ec/pdf/estudios_agroeconomicos/panorama_agroeconomico_ecuador2015.pdf
- Rostagno, S. (2011) *Tablas brasileñas para aves y cerdos*. Descargado el 4 de marzo del 2016 de: <http://www.lisina.com.br/arquivos/Geral%20Espa%C3%B1ol.pdf>
- Savón, L. (2002) Alimentos altos en fibra para especies monogástricas. Caracterización de la matriz fibrosa y sus efectos en la fisiología digestiva. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, vol. 36(2), pp. 91-102. ISSN: 0034-7485
- Valenciaga, Daiky; Oliveira Simoes, Saliba (2006) *Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) and its potentials for forage evaluation (PDF Download Available)*. Available from: recuperado el 10 de marzo del 2016: https://www.researchgate.net/publication/289473220_Near_Infrared_Reflectance_Spectroscopy_NIRS_and_its_potentials_for_forage_evaluation
- Vivar, M. (2009) Recuperado el 6 de junio del 2016 de <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2009/fav855c/doc/fav855c.pdf>