

PREDICCIÓN DE COMPONENTES DE LA PARED CELULAR POR REFLECTANCIA EN EL INFRARROJO CERCANO, EN HIERBA DE PRADERAS DEL INTERIOR Y ZONA COSTERA ASTURIANA

**Roza Delgado, B. de la; Martínez Fernández, A.
y Argamentería Gutiérrez, A.**
*Centro de Experimentación Agraria
Apdo. 13, 33300 Villaviciosa Asturias*

RESUMEN

La reflectancia en el infrarrojo cercano, fue utilizada para obtener ecuaciones de regresión múltiples que permitan la predicción de fibra neutro detergente (FND) y fibra ácido detergente (FAD). El desarrollo de las calibraciones fue llevado a cabo sobre un conjunto de 187 muestras de praderas naturales y sembradas de la zona costera asturiana, para FND y 50 del interior y montaña para FAD. La validación se efectuó en el primer caso sobre dos conjuntos de 178 y 229 muestras respectivamente, que incluían forrajes verdes de la zona costera y montaña asturiana y de diversos países europeos; en el segundo sobre 30 muestras de la misma procedencia. Las ecuaciones seleccionadas presentan coeficientes de correlación comprendidos entre 0,84-0,96 para FND, 0,71-0,77 para FAD y 0,78-0,92 para FAD* y errores estándar de predicción comprendidos entre 3,10-3,92 para FND, 3,24-3,56 para FAD y 2,65-3,49 para FAD*.

PALABRAS CLAVE: hierba de pradera, infrarrojo cercano, fibra neutro detergente, fibra ácido detergente.

INTRODUCCION

En la formulación de raciones para rumiantes según los actuales sistemas de alimentación es necesario ajustar un nivel mínimo de fibra neutro detergente y fibra ácido detergente (Van Soest 1963). Requieren un tiempo relativamente largo y un alto coste de reactivos.

Desde la aplicación por vez primera de la técnica NIR a forrajes (Norris et al, 1976) surgieron numerosos trabajos en los que se correlacionaban constituyentes químicos tales como humedad, proteína, FND, FAD, lignina, e incluso cenizas y minerales, con determinadas λ , a partir de espectros de diferentes especies de forrajes (Marten et al, 1984; Shenk, 1986; Windham et al, 1988; y otros).

El objetivo de este trabajo fue desarrollar calibraciones NIR para fibra neutro detergente (FND) y fibra ácido detergente con cenizas (FAD) y libre de cenizas (FAD*), en hierba de praderas del interior y zona costera de Asturias.

MATERIAL Y METODOS

Para el desarrollo de las ecuaciones de calibración para FND se utilizaron 187 muestras procedentes de praderas naturales y sembradas del Centro de Experimentación Agraria de Villaviciosa (C.E.A.) del año 1987, características de la zona costera de Asturias y en condiciones muy variables de fertilización y manejo, puesto que incluían ofertas y rechazos de pastoreo, así como aprovechamientos en siega.

La validación se efectuó sobre dos conjuntos de distinta procedencia. El primero de ellos consta de 178 forrajes verdes procedentes de parcelas del C.E.A., de diversos países europeos y de la montaña asturiana. El segundo corresponde a un conjunto de 229 muestras procedentes en su totalidad de praderas naturales y sembradas del C.E.A. del año 1989. Las ecuaciones de calibración para la predicción de FAD y FAD*, se desarrollaron sobre 50 muestras de forraje verde (del interior y montaña asturiana). La validación se llevó a cabo sobre 30 muestras de la misma procedencia.

Los contenidos en FND, FAD y FAD*, fueron obtenidos previamente por vía húmeda.

Preparación de las muestras

Las muestras originales fueron desecadas durante 24 h a 102 y 60 °C en estufas de aire forzado. Los residuos a 102 °C se emplearon para el cálculo del % de materia seca y los de 60 °C para posteriores análisis una vez equilibrados durante unas horas con la humedad ambiente, molidos con tamiz de 0,75 mm y almacenados.

Determinaciones por vía húmeda

Todos los análisis químicos fueron llevados a cabo por duplicado, según las técnicas desarrolladas por Robertson y Van Soest (1981).

Los valores medios y extremos de las determinaciones analíticas, para los conjuntos considerados, se presentan en las Tablas 1, 2 y 3.

TABLA 1
Intervalo de variación de FND en los diferentes conjuntos considerados
(% sobre muestra seca al aire)

	Valor máximo	Valor mínimo	F.N.D.	
			Valor medio	Desviación típica
Set de calibración n = 187	67,10	24,63	44,15	9,83
Set de validación n = 178	69,51	27,23	50,76	8,78
Set de validación n = 229	65,43	21,17	46,97	8,49

TABLA 2
Intervalo de variación de FAD (% sobre muestra seca al aire)

	Valor máximo	Valor mínimo	F.A.D.	
			Valor medio	Desviación típica
Set de calibración n = 50	50,66	18,05	31,50	7,67
Set de validación n = 30	40,94	16,18	30,10	6,45

TABLA 3
Intervalo de variación de FAD* (% sobre materia seca al aire)

	F.A.D.*			
	Valor máximo	Valor mínimo	Valor medio	Desviación típica
Set de calibración n = 50	39,60	17,00	26,06	5,97
Set de validación n = 30	35,34	15,96	25,44	4,84

Calibración y validación

El equipo de análisis por reflectancia de infrarrojos utilizado fue un modelo 6250 System, de Pacific Scientific, equipado con monocromador, con posibilidad de barrido entre 700 y 2500 nm y conectado a un ordenador IBM-AT.

Para la calibración se almacenaron seis espectros por muestra en el rango de 1100 a 2500 nm (3 células estándar x 2 posiciones/célula). Posteriormente se promedió el total de los seis, para reducir errores de muestreo y se realizó su transformación matemática.

Los espectros de las muestras seleccionadas para validación fueron almacenados a razón de dos por cada una, llenando dos células de medida diferentes, promediándose de forma análoga a los de calibración.

La seguridad de las calibraciones obtenidas se determinó mediante los siguientes índices:

Rc: Coeficiente de correlación múltiple.

ESC: Error estándar de calibración.

Slope: Pendiente de la recta de regresión mínimo cuadrática.

Bias: Error sistemático entre los valores de referencia y los calculados por la ecuación a validar.

ESP: Error estándar de predicción.

RESULTADOS Y DISCUSION

La Tabla 4 contiene tres ecuaciones de regresión lineal múltiple seleccionadas para FND. Las dos primeras se obtuvieron preseleccionando según regresión Norris (Norris y Williams, 1984) el segmento y el gap, antes de la regresión paso a paso final. La tercera es el resultado de una regresión automática (Valor F).

Las longitudes de onda seleccionadas corresponden, según Osborne y Fearn (1986), a bandas de absorción de celulosa (2328, 2080 nm), hemicelulosa (2264, 2316, 2320 nm), aromáticos (¿lignina?) (1660 nm) y otras no características de carbohidratos estructurales.

Algunas lo son de proteína y aminoácidos. Podrían reflejar la complejidad de la pared celular y sus enlaces cruzados, o corregir la interferencia de otros compuestos sobre las bandas de absorción de celulosa y hemicelulosa.

Coleman (1985-86) correlacionó la absorción de fibras (especialmente FND) en el rango de 2300 nm, concordante con la λ principal (2338 nm) de la 1ª ecuación (Tabla 4).

La selección de longitudes de ondas comprendidas en el rango 1100-1200 nm, aunque no son características de ningún carbohidrato, resultó coincidente con los resultados obtenidos para este parámetro en el C.E.A. sobre otros forrajes verdes (ROZA de la et al, 1989) y ensilados (MARTINEZ, et al, 1990). En el mismo sentido ROZA, de la (1990, Tesis Doctoral), correlaciona λ en la zona

TABLA 4
Resumen de análisis de regresión lineal múltiple para predicción de FND

Ko	Kx	λx	Ra	ESC	Bias	Rb	Slope	ESP
3ª Derivada Seg = 10 Gap 24								
57,554			0,93	3,66	-1,97	0,841	0,856	3,83
	552,066	2338						
	273,321	2264						n=178
	-2388,181	1198						
				n=187	-1,33	0,818	0,819	3,67 n=229
2ª Derivada Seg = 20 Gap 0								
49,914			0,96	2,83	-2,17	0,881	0,838	3,92
	2481,958	1178						
	-2525,169	2316						n=178
	- 5,925	2252/2194						
	- 11,356	1894/2006						
				n=187	-3,17	0,839	0,923	3,10 n=229
2ª Derivada Seg = 20 Gap 0								
56,819			0,84	3,88	2,25	0,811	0,857	4,31
	2355,693	1160						
	4002,956	1120						
	2031,429	1660						
	-2483,422	1740						n=178
	-1466,839	2080						
	3980,419	2100						
	2829,858	2160						
	- 857,425	2240			2,58	0,820	0,851	3,60
	-3900,149	2320						
				n=187				n=229

1100-1300 nm con parámetros tales como FND y digestibilidad.

En este trabajo se obtuvo una correlación comprendida entre 0,84 y 0,96, con respectivos ESP de 3,10 a 3,92. Este grado de precisión es análogo al de la bibliografía al respecto, así Marten et al (1984) obtuvieron una correlación de 0,98 y ESP de 2,23 sobre muestras de alfalfa, Coleman (1985-86) de 0,96 y 3,12, Barton et al (1990) 0,92 y 1,40 sobre diferentes cultivares de híbridos de «Cynodon dactylon». Aunque en algún caso los ESP son su-

periores a los de otros autores, hay que considerar la gran amplitud del intervalo de medida, así como el gran número de muestras incluidas en los conjuntos de validación y su diferente procedencia (forrajes asturianos del interior y costa junto con forrajes europeos) lo que podría llevar a una diferente manipulación de los mismos.

En las Tablas 5 y 6 se presentan las ecuaciones y el análisis de regresión para FAD y FAD*. Se mantienen dos ecuaciones, para cada parámetro con R2 comprendidos entre 0,71 y 0,77 y ESP entre

TABLA 5
Resumen de análisis de regresión lineal múltiple para predicción de FAD

Ko	Kx	λx	Ra	ESC	Bias	Rb	Slope	ESP
2ª Derivada Seg = 2 Gap 16								
43,981	-4488,780	2374	0,8420	4,31				
	-5215,987	1148						
	1392,189	2404			-0,490	0,824	1,021	3,56
	0,0232	1502/1478		n=50				n=30
3ª Derivada Seg = 2 Gap 16								
30,8695	4882,734	1164	0,8778	3,87				
	- 21,159	2394/1510						
	- 0,0093	1173/2106			-1,55	0,836	0,954	3,24
	- 0,0596	2446/1354		n=50				n=30

TABLA 6
Resumen de análisis de regresión lineal múltiple para predicción de FAD*

Ko	Kx	λx	Ra	ESC	Bias	Rb	Slope	ESP
3ª Derivada Seg = 40 Gap 0								
39,005	-15,365	2218/1552	0,8818	3,04				
	-20,706	2232/1526			-0,163	0,703	0,923	3,49
	0,035	1924/2080		n=50			n=30	
2ª Derivada Seq = 2 Gap 8								
23,167	2709,881	2332	0,9582	1,86				
	6452,782	1588						
	- 0,0618	1174/1634			-0,279	0,863	0,941	2,65
	- 8,738	1172/1828		n=50				n=30

3,24 y 3,56 para FAD y R² de 0,78 y 0,92 y ESP de 2,65 y 3,49 para FAD*.

Se han obtenido paralelamente regresiones para FAD y FAD*, a fin de poder detectar posibles interferencias de cenizas y evaluar con certeza la predicción de la fracción lignocelulósica de la pared de las células vegetales.

En cuanto a las longitudes de onda seleccionadas, figuran bandas próximas a celulosa y grupos aromáticos (lignina). Otras no lo son. Al respecto, hay que tener en cuenta que la FAD no representa a la lignocelulosa con la precisión total que sería de desear (INRA, 1981). Longitudes de onda como 1492, 1558 y 2210 nm (Norris et al, 1976) son coincidentes con las aquí seleccionadas.

Los errores estándar son relativamente superiores a los obtenidos para predicción de FND y no permiten distinguir entre FAD y FAD*. La proximidad entre las bandas características de celulosa y hemicelulosa debe limitar el grado de precisión esperado.

Otros autores tienden a desarrollar sus ecuaciones seleccionando las muestras por cultivares de una misma especie (Barton et al, 1990), géneros de la misma familia (Marten, et al, 1984), etc. alegando que la evaluación simultánea de muestras que incluyen gran versatilidad requerirían la inclusión de más λ para el desarrollo de las ecuaciones de calibración. En este estudio dichas consideraciones no resultarían operativas dado la composición botánica de las praderas asturianas. Además no compartimos la idea de que a más versatilidad necesariamente se requieran más λ para la predicción, puesto que los parámetros a medir se correlacionan con absorciones debidas a interacciones de grupos moleculares, lo cual unido a un programa infor-

mático permite la selección de λ para un componente dado.

A pesar de que la FND y FAD por sí solas no explicarían adecuadamente la respuesta animal, es enteramente posible una rápida predicción del grado de fibrosidad química de los forrajes.

Se concluye, por tanto, que la técnica NIR puede ser usada para evaluar los constituyentes de la pared celular y la fracción lignocelulósica de la misma en un número ilimitado de muestras de forrajes verdes, no analizadas por vía húmeda, a través de las ecuaciones desarrolladas para este grupo específico.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean manifestar su agradecimiento a la C.Y.C.I.T. por la cofinanciación del equipo de infrarrojos y a D. José Manuel VIÑA VINES por el tratamiento de textos.

BIBLIOGRAFIA

- BARTON II, F., and BURTON, G.W., 1990 Near Infrared Reflectance Spectroscopy. I. Calibration techniques for forage quality assessment. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 73, 312-317.
- COLEMAN, S.W., 1985-86 Use of Near Infrared Reflectance Spectroscopy to predict animal response from forages. *Arkansas Experiment Station Special Report* 124, 63-75
- INRA, 1981 Prèvision de la valeur nutritive des aliments des ruminants. INRA, France, 580 pp.
- MARTEN, G.C., BRINK, G.E., BUXTON, D.R., HALGERSON, I.L. and HORNSTEIN, J.S., 1984 Near Infrared Reflectance Spectroscopy analysis of forage quality in four legume species. *Crop. Science*, 24, 1179-1182.
- MARTINEZ, A., ROZA, B. de la, ARGAMENTERIA, A., 1990 Valoración bromatológica de ensilados de hierba de la zona litoral de Asturias por reflectancia de infrarrojos. XXX Reunión Científica de la S.E.E.P. San Sebastian. Estudio de la producción y aprovechamiento de los pastos en zona húmeda, 256-263.
- NORRIS, K.H., BARNES, R.F., MOORE, J.E. and SHENK, J.S., 1976 Predicting forage quality by infrared reflectance spectroscopy. *J. Anim. Sci.* 43 889-897.
- NORRIS, K.H. and WILLIAMS, P.C., 1984 Optimisation of mathematical treatments of raw near-infrared signal in the measurement of protein in hard red spring wheat. I. Influence of particle size. *Cereal Chemistry*, 61 158-165.

- OSBORNE, B.G. and FEARN, T., 1986. Near Infrared spectroscopy in food analysis. Longman Group UK Limited. Longman House, Harlow. England.
- ROBERTSON, J.B. and VAN SOEST, P.J., 1981 The detergent system of analysis and its application to human foods. In *The Analysis of Dietary Fibre of Food*, W.P.J. James and O. Theander Dekker, New York, 123-158.
- ROZA, B. de la, ARGUMENTERIA, A. y MARTINEZ, A., 1989 Valoración bromatológica de praderas de la zona litoral de Asturias mediante reflectancia de infrarrojos. 2ª Reunión Ibérica de Pastos y Forrajes. Badajoz - Elvas. Pastos, forrajes y producción animal en condiciones extensivas.
- ROZA, B. de la., 1990 Diseño y comparación de técnicas de laboratorio para la predicción de la digestibilidad «in vivo» de forrajes. Tesis Doctoral.
- SHENK, J.S., 1986 Measurement and prediction of digestibility and energy value near infrared analysis of forage and feed for dairy cows. Bulletin IDF. (International Dairy Federation) 196 36-41.
- VAN SOEST, P.J., 1963 Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. I Preparation of fiber residues of low nitrogen content. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 46, 825-829.
- WINDHAN, W.R., BARTON II, F.E. and ROBERTSON, J.A., 1988 Moisture analysis of forage by near infrared reflectance spectroscopy: Preliminary Collaborative Study and comparison between Karl Fischer and oven Drying reference methods. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 71, 256-262.

SUMMARY

Prediction of cell wall components by near infrared reflectance spectroscopy, in grass from coastal and inland Asturias (Northern Spain).

Near infrared spectroscopy was used to develop multiple regression equations for prediction of neutral detergent fibre (NDF) and acid detergent fibre (ADF), in grassland herbage.

The calibrations for NDF were based on a total of 187 samples from natural and sown pastures in the coastal plane. And those for ADF on 50 sample from inland and mountainous regions in Asturias.

The validation for NDF was made against two sample groups (n=178 and n=229), that included green forages grown in several environments, coastal plane, inland and mountain regions of Asturias and in other European countries. The validation for ADF was made against 30 samples with the same origins. The best NIR equations had correlations between 0,84-0,96 for NDF, 0,71-0,77 for ADF and 0,78-0,92 for ADF* and standard errors of prediction between 3,10-3,92 for NDF; 3,24-3,56 for ADF and 2,65-3,49 for ADF*.

KEY WORDS: pastures, near infrared reflectance, neutral detergent fibre, acid detergent fibre.