POSIBILIDADES Y LIMITACIONES DE LA TRANSFERENCIA DE CALIBRACIONES NIRS

Ana Garrido [1], Begoña de la Roza[2] y Alba Puigdomenech[3]

1.- Departamento de Producción Animal. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos y de Montes. Universidad de Córdoba. Apdo 3048.14080. Córdoba.
2.- Centro de Investigación Aplicada y Tecnología Agroalimentaria. Villaviciosa. CAP Asturias.
3.- Laboratori Agrari de Cabrils. DARP Generalitat de Cataluña.

INTRODUCCIÓN

Uno de los grandes retos del análisis NIRS, es el de la posibilidad del uso de ecuaciones generadas en un instrumento, denominado "máster", en otros instrumentos denominados "satélites". Dicho uso múltiple debería realizarse tratando de garantizar una alta reproducibilidad de los valores analíticos obtenidos en los diferentes instrumentos. A pesar de que en los últimos años se han realizado esfuerzos importantes para que los equipos de un mismo fabricante sean muy similares, aún continúan existiendo pequeñas diferencias entre instrumentos, derivadas de los mecanismos ópticos, cerámica de referencia, detectores, etc., que imposibilitan el uso directo de una ecuación generada en un instrumento, en un segundo instrumento, incluso siendo ambos del mismo modelo. Esta situación se agrava, cuando se pretende realizar la transferencia entre instrumentos de diferentes marcas y modelos (ej. Foss-NIRSystem a Bran & Luebbe, monocromador a filtros, etc.).

El método tradicionalmente utilizado para resolver el problema de la transferencia de ecuaciones (y aún hoy día sigue siendo el utilizado en muchos métodos instrumentales y particularmente espectroscópicos) es el del ajuste de las ecuaciones a cada equipo, mediante corrección de la pendiente y/o el sesgo. Independientemente de lo tedioso de la continua necesidad de recalibración y si bien dicho procedimiento puede resultar apropiado para instrumentos relativamente simples (de filtros), en el caso de instrumentos mas sofisticados (monocromadores) el proceso se complica debido a múltiples factores (mayor complejidad de la señal espectroscópica, mayor complejidad de los métodos de regresión utilizados para el desarrollo de las calibraciones, etc.). Todo ello ha provocado, que en los últimos años haya existido un importante desarrollo teórico de métodos mas complejos, englobados bajo la denominación común de "algoritmos de estandarización espectral" o procedimientos de "clonación" (Shenk y Westerhaus,1991;De Noord, 1994; Bouveresse y Massart, 1996).

El objetivo del presente trabajo es el de mostrar las posibilidades y limitaciones del algoritmo desarrollado por Shenk y Westerhaus (1991) e incorporado en uno de los paquetes quimiométricos mas extendidos en el análisis de datos NIRS de alimentos animales.

MATERIAL Y MÉTODOS

Instrumentos

CIATA (máster) = Foss-NIRSystem 6500 situado en Villaviciosa; UCO (satélite)= Foss-NIRSystem 6500 situado en Córdoba; LAGC (satélite) = PSCO 6250 situado en Cabrils.

Ecuaciones

Se desarrollaron en el equipo del CIATA, utilizando una colección de 148 muestras de ensilados de maíz producidos en Asturias en el período (1987 – 1992). Se obtuvieron calibraciones para la predicción de proteína bruta (PB %ss), fibra neutro detergente (NDF %ss) y digestibilidad NDF-celulasa de la materia orgánica (D-NDFcel %).

Clonación

Básicamente, el procedimiento de clonación consistió en la recogida de datos espectroscópicos NIRS de 30 muestras selladas comercializadas por ISI (set de universales), en los tres instrumentos y la aplicación del algoritmo de ajuste espectral

propuesto por Shenk y Westerhaus (1991). Dicho procedimiento consiste en la obtención de la denominada "matriz de estandarización o clonación", que corrige las diferencias existentes entre los espectros de las muestras universales recogidos en el máster y en cada uno de los satélites, mediante un ajuste de tipo cuadrático.

Transferencia de ecuaciones y validación

Para la validación de la clonación y de la transferencia de ecuaciones, se procedió a recoger el espectro de 10 muestras de ensilado, procedentes de Cataluña y Asturias, en los tres instrumentos. A dichos espectros se les aplicó la matriz de estandarización obtenida para ajustar cada uno de los satélites al instrumento máster.

Software

La recogida de datos espectrales, el desarrollo de calibraciones y el proceso de clonación y validación se realizó utilizando el software ISI NIRS 3 versión 3.11 (Infrasoft Internacional, Port Matilda, PA, USA), haciendo uso de los programas SCAN, CALIBRATION, CLONE y EVALUATE respectivamente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El procedimiento estadístico de evaluación de la clonación aparece recogido en detalle en un trabajo anterior (Puigdomenech et al., 1995), en el presente trabajo y a fin de tener una idea mas práctica y didáctica a cerca de los logros de la transferencia de ecuaciones realizada, se muestran los resultados estadísticos que aparecen reflejados en la Tabla 1.

Tabla 1. Media, desviación típica y sesgo, de los valores predichos de NDF (%SS), PB (%ss) y D- NDFcel (%) para las 10 muestras analizadas en los tres instrumentos

PARÁMETRO		ANTES CLONACIÓN			DESPUÉS CLONACIÓN	
		CIATA(m)	UCO(s)	LAGC(s)	UCO(s)	LAGC(s)
NDF % ss	Media ± DT	52,2 ± 6,8	49,6	47,8 ± 7	51,9 ± 6,9	51,6 ± 6,9
	Sesgo	-	2,6	4,5	0,37	0,58
PB % ss	Media ± DT	8,8 ± 0,9	8,8 ± 0,9	7,9 ± 0,8	8,7 ± 0,9	8,5 ± 0,9
	Sesgo	-	-0,001	0,85	0.16	0,31
D-NDFcel % ss	Media ± DT	61,5 ± 4,9	62,8 ± 5,2	62,7 ± 4,9	61,9 ± 5,1	61,6 ± 5.2
	Sesgo	-	-1,2	-1,19	-0,44	-0,10

$$sesgo = \sum_{i=1}^{N} (Pred_{im} - Pred_{is})/N; \qquad m = máster; \qquad s = satélite$$

La observación de los resultados de dicha Tabla nos permite realizar los siguientes comentarios:

- Existe una gran similitud entre los valores medios de los valores predichos para las 10 muestras analizadas en el instrumento máster (52,2 % NDF, 8,8 %, PB y 61,5 % D-NDFcel) y en los satélites UCO (49,6 % NDF, 8,8 % PB y 62,8 % D-NDFcel) y LAGC (47,8 % NDF, 7,9 % PB y 62,7 % D-NDFcel) incluso antes de la clonación. Argamentería et al (1993) encuentran diferencias entre los valores máximos y mínimos obtenidos por vía húmeda en 17 laboratorios, para muestras de ensilado de hierba, de 1,12 puntos para PB (%ss), 9,3 puntos para NDF (%ss) y hasta de 27 puntos para la D-NDFcel (%). En nuestro caso y en comparación a los datos del ring-test analizado por Argamentería et al., (1993) se observan unos bajos valores del sesgo para los valores predichos de PB, NDF y D-NDFcel de las muestras analizadas en el equipo de la UCO (-0,001%, 2,6 % y –1,2%) y algo superiores en el caso de los valores obtenidos en LAGC, particularmente para la PB (0,85%) y la NDF (4,5 %). Cabe mencionar que mientras los instrumentos del CIATA y UCO son ambos de la misma marca y modelo, el equipo del LAGC si bien monocromador es de un modelo diferente.

- Tras la clonación, los valores medios de los valores predichos en los instrumentos satélite UCO (51,9 % NDF, 8,7 % PB y 61,9 % D-NDFcel) y LAGC (51,6 % NDF, 8,5 % PB y 61,6 % D-NDFcel) son prácticamente idénticos a los del máster y los valores del sesgo se reducen sensiblemente, siendo estos valores incluso de una magnitud inferior a lo que cabe esperar entre duplicados de una misma muestra, en un mismo laboratorio y obtenidos por un mismo analista.

Los resultados obtenidos muestran la utilidad del procedimiento de clonación propuesto por Shenk y Westerhaus (1991) para el producto en estudio y confirman los resultados obtenidos en otros alimentos animales por diferentes autores (Shenk et al., 1992; Dardenne, et al., 1992; Moya, 1993; Moya et al., 1995). En el momento actual, conociendo el estado de implantación de la tecnología NIRS en nuestro país y en base a nuestra experiencia consideramos necesario explicitar los límites del procedimiento de clonación evaluado en el presente trabajo.

1º.- El procedimiento propuesto por Shenk y Westerhaus (1991) ha sido diseñado para productos molidos y bajos en humedad y sobre todo para productos cuyos datos espectroscópicos (log 1/R) estén comprendidos en el rango cubierto por las muestras universales.

2º.- Si bien el procedimiento de clonación de Shenk y Westerhaus (1991) se encuentra protocolizado y descrito en detalle en diferentes documentos cientifico-técnicos, la obtención de una clonación y transferencia de calibraciones exitosa, exige de un riguroso diseño científico-técnico, tanto mas complejo y necesitado de investigación, cuanto mas diferentes sean los instrumentos, y cuanto mas sensible sean las muestras (ej. altas en humedad) e instrumentos, a los 23 factores descritos por Shenk et al., (1992), como fuentes de variación que afectan a la transferencia de calibraciones.

AGRADECIMIENTOS

A Blanca Lucena y Francisca Baena (UCO), Adela Martínez (CIATA) y Manuel Aragay (LAGC), por su colaboración en la toma de datos espectroscópicos y de control y diagnóstico de instrumentos. Al SC. NIRS-Banco de la UCO, CIATA y LAGC por posibilitar el uso de la instrumentación y software NIRS.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Argamentería, A., Muñoz, F. y Andueza, D.(1993). Nuevas Fuentes de Alimentos para la Producción Animal IV. Gómez, A. y De Pedro, E. (Eds). Junta de Andalucía. Congresos y Jornadas nº30: 227-234.

Bouveresse E. y Massart D.L. (1996). *Vibrational Spectroscopy* 11: 3-15.

Dardenne P., Biston R. y Sinnaeve G.(1992) Near Infrared Spectroscopy: Bridging the gap between data analysis and NIRS applications. Hildrum, K.I et al., (Eds.). Ellis Horwood, N.Y.: 1-10.

De Noord O.E. (1994). *Chem. Intell. Lab Syst*, **25**: 85-97.

Moya. L., 1993. Aplicación de la tecnología NIRS al Control de Calidad en la industria de piensos compuestos. Universidad de Córdoba.

Moya L., Garrido A., Guerrero J.E., Lizaso J. y Gómez A.(1995). Leaping Ahead with Near Infrared Spectroscopy. Batten, G.D., et al., (Eds.). Royal Australian Chemical Institute: 111-117.

Puigdomenech A., Garrido A., de la Roza B., Aragay M., Lucena B. y Martinez A. (1995). Leaping ahead with Near Infrared Spectroscopy. Batten, G.D. et al., (Eds.). Royal Australian Chemical Institute: 107-110.

Shenk J.S. (1991). The 3rd International NIRS Conference. Biston, R. y Bartiaux-Thil N. (Eds). Bruselas: 649-654.

Shenk J.S., Workman J.J. Jr. y Westerhaus M.O.(1992). Handbook of Near-Infrared Analysis. Marcel Dekker, Inc. NY: 383-427.