# TECNOLOGÍA NIRS EN EL ANÁLISIS DE INGREDIENTES LÍQUIDOS: GRASAS Y MELAZAS

**Ana Garrido Varo[1]; Mª Dolores Pérez Marín[1]; Augusto Gómez Cabrera[1]; José E. Guerrero Ginel[1]; Félix de Paz Sánchez[2] y Natividad Delgado Aguayo[2].**

[1] Departamento de Producción Animal. Avda. Menéndez Pidal s/n. 14080-Córdoba.
[2] SAPROGAL, S.A.

## INTRODUCCIÓN

Grasas y melazas se utilizan, en la actualidad, en una proporción considerable en la fabricación de piensos, fundamentalmente como fuentes energéticas, pero asimismo por aportar otras características de interés tecnológico y nutritivo. Ambos productos poseen numerosas aspectos en común desde el punto de vista de su utilización en piensos, así como de su control analítico. El hecho de que dichos ingredientes simples procedan de la transformación agro-industrial de un producto principal hace que su composición sea variable y dependiente, entre otros, de factores agroclimáticos y tecnológicos. Esa variabilidad provoca la necesidad de realizar un control analítico que es recomendable que incluya al menos las determinaciones de humedad y azúcares en el caso de las melazas, y las determinaciones de MIU, acidez oleica, ácidos grasos libres y ácidos grasos saturados e insaturados en el caso de las grasas (Boucqué y Fiems, 1988; Edmunds, 1990; Mateos et al., 1996). Asimismo, su naturaleza líquida hace que tengan una mayor dificultad desde el punto de vista analítico, tanto por el propio manejo a nivel de laboratorio como por requerir de análisis mas sofisticados, lentos y costosos que los tradicionalmente utilizados en el análisis de ingredientes sólidos. Ello hace que el control de calidad de estas interesantes materias primas sea, en muchos casos, reducido y/o que no se determinen parámetros analíticos de interés nutricional (ej. ácidos grasos).

El objetivo del presente trabajo es mostrar la viabilidad de la tecnología NIRS para el control de calidad de grasas y melazas utilizadas en la fabricación de piensos.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### *Material Experimental*

Se han utilizado un total de 42 muestras de melazas (de caña y remolacha) y 61 muestras de grasa animal, procedentes de la empresa SAPROGAL S.A. que colabora con el Dpto. de Producción Animal (ETSIAM-Universidad de Córdoba) en el marco del proyecto de I+ D CICYT-FEDER 1FD1997-0990.

### *Recogida de espectros NIRS*

Tanto las muestras de melazas como las de grasa animal fundida fueron analizadas en un espectrofotómetro monocromador de espectro continuo FOSS NIRSystems 6500 I, equipado con módulo de giro, que trabaja en reflectancia en la región del espectro comprendida entre 400 y 2500 nm. Se eligió la doble transmisión como modo de análisis, empleando para ello la cápsula circular con fondo reflectante de oro y 0,1 mm de paso óptico. Se recogieron dos espectros por muestra en dos cápsulas diferentes, utilizándose para el estudio posterior el espectro medio.

### *Análisis de Referencia*

Melazas: Se determinaron los parámetros analíticos humedad (balanza de infrarrojos), proteína bruta (Kjeldahl), cenizas (incineración a 550ºC), cloruro sódico (mét. potenciométrico) y azúcares totales (Luff-Schoorl).

Grasas: Se determinaron los parámetros analíticos humedad (desecación en estufa a 103ºC), acidez (met. volumétrico expresado como % de oleico), residuo insoluble en éter (met. de impurezas por filtración), insaponificable (met. del éter etílico) y perfil acídico (Cromatografía Gaseosa).

### *Tratamiento quimiométrico de los datos*

Para el tratamiento quimiométrico de los datos espectroscópicos y químicos generados se empleó el software WinISI 1.04 (ISI, 1998). La metodología seguida para el desarrollo y evaluación de las ecuaciones NIRS de calibración es la descrita por Shenk y Westerhaus (1995). Los estadísticos utilizados para la selección de las mejores ecuaciones de calibración fueron: el error típico de los residuales para el colectivo de calibración (ETC) y

para el de validación cruzada (ETVC), el coeficiente de determinación para el proceso de calibración ($R^2$) o validación cruzada ($r^2$), el RPD (DT/ETVC) y el RER (Rango/ETVC).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 muestra los estadísticos de caracterización química, junto con los estadísticos resultantes de las ecuaciones de calibración NIRS desarrolladas para melazas.

**Tabla 1.** Caracterización de las melazas del colectivo de calibración y estadísticos de calibración resultantes.

| | N | Media | Rango | DT | ETVC | $r^2$ | RPD |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Humedad** | 35 | 23.06 | 19.3-28.6 | 2.10 | 1.69 | 0.42 | 1.24 |
| **Proteína** | 33 | 8.37 | 3.9-10.3 | 2.64 | 0.14 | 0.99 | 19.09 |
| **Cenizas** | 38 | 10.61 | 8.0-13.8 | 1.47 | 0.60 | 0.84 | 2.45 |
| **ClNa** | 34 | 2.17 | 1.16-4.03 | 1.11 | 0.05 | 0.99 | 20.94 |
| **Azúcares** | 35 | 48.48 | 43.9-53.9 | 2.83 | 1.04 | 0.86 | 2.74 |

Las calibraciones obtenidas para la predicción de proteína bruta (ETVC=0,14%; $r^2$=0,99) y ClNa (ETVC=0,05%; $r^2$=0,99) presentan una excelente precisión y exactitud. Para la determinación de azúcares y cenizas, los modelos obtenidos explican respectivamente el 86% y el 84% de la variabilidad existente para dichos parámetros analíticos dentro del colectivo muestral empleado, y si bien en ambos casos el ratio RPD no alcanza el valor de 3 recomendable por Williams y Sobering (1996) para el análisis de rutina, es de esperar que los estadísticos mejoren al aumentar el número de muestras. En cualquier caso, dicha ecuación presenta una posibilidad real de analizar de forma rápida y precisa un parámetro analítico de gran interés para la caracterización de melazas, el cual además presenta elevados errores interlaboratorio (Gillespie, 2000). La ecuación NIRS desarrollada para la determinación de humedad presenta una baja capacidad predictiva (ETVC=1,69%, $r^2$=0,42). Esto podría ser debido a que el método utilizado para obtención de la humedad (balanza de infrarrojo), es un método indirecto que conlleva a su vez una calibración previa no libre de errores. Gillespie (2000), obtuvo valores del ETVC de 0,42%, 0,63%, 0,78% y 0,79% para proteína bruta, humedad, azúcares y cenizas respectivamente, utilizando un colectivo muestral de melazas cuyos valores medios para dichos parámetros analíticos eran muy similares a los del colectivo utilizado en el presente trabajo.

La Tabla 2 recoge los estadísticos de caracterización química y de calibración NIRS para las grasas estudiadas. Un comentario global es que la tecnología NIRS predice un importante número de parámetros de calidad en grasas para uso en alimentación animal. De todos los parámetros analíticos estudiados, únicamente el residuo insoluble en éter (RIE) presenta una baja correlación ($r^2$=0,31) con los datos espectroscópicos. Ello no es de extrañar si se tiene en cuenta que el RIE no es una entidad química definida (Bisplinghoff, 1993). En la práctica del control y comercio de grasas, se utiliza el parámetro denominado MIU que engloba los valores del RIE junto con la humedad e impurezas. Este parámetro analítico informa en gran medida de la fracción no-nutricional de una grasa (Edmunds, 1990), y es uno de los criterios que debería ser utilizado para la valoración energética de este producto (Mateos et al., 1996). Como se observa en la Tabla 2, la ecuación para la predicción de MIU presenta una excelente precisión y exactitud (ETVC=0,38%, $r^2$=0,94). Por otra parte, la ecuación NIRS obtenida para la predicción de humedad asegura un control analítico preciso de este parámetro (ETVC=0,14%, $r^2$=0,88). La estima de humedad es importante debido a que la misma acelera la oxidación reaccionando con el equipamiento (tanques) y liberando metales que catalizan la oxidación.

La literatura NIRS no recoge ningún trabajo publicado que haga referencia al análisis NIRS de grasas animales, por lo que haremos algunos comentarios relativos a la precisión y exactitud de nuestras ecuaciones en relación a las obtenidas en grasas y aceites de consumo humano, donde las aplicaciones NIRS comienzan a ser importantes. Si bien la ecuación de acidez muestra una adecuada capacidad predictiva (ETVC=0,83, $r^2$=0,82), la precisión y exactitud obtenidas en aceites de consumo humano (ej. oliva) es superior (Cobo et al., 2001). De todos los criterios útiles para la valoración energética y nutricional de la grasas, el conocimiento preciso del porcentaje de ácidos grasos y/o la relación saturado/insaturado juega un papel importante (Bisplinghoff, 1993). En la práctica, el elevado coste del análisis de ácidos grasos hace que se recurra a la determinación del denominado índice de iodo como dato informativo del grado de insaturación de una grasa. El conocimiento de este índice permite obtener una estimación del perfil de ácidos grasos y

asimismo de la relación saturados/insaturados. Nuestros resultados (Tabla 2) indican que la tecnología NIRS tiene una precisión y exactitud elevada para la predicción de los ácidos grasos mayoritarios, tales como palmítico, esteárico, oleico y linoleico, aunque algo inferior a la alcanzada en grasa fundida de cerdo ibérico utilizando un modo de análisis similar (García et al., 2001 y Pérez et al.,2001). El mayor grado de impurezas presentes en las grasas animales junto con el reducido número de muestras que aún presentan las calibraciones mostradas en la Tabla 2, permitirían explicar las diferencias en precisión y exactitud. La tecnología NIRS permite asimismo predecir con una excelente o aceptable predicción otros ácidos grasos minoritarios.

**Tabla 2.** Caracterización de las grasas animales del colectivo de calibración y estadísticos de calibración resultantes.

| | N | Media | Rango | DT | ETVC | $r^2$ | RPD | RER |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Humedad** | 49 | 0,44 | 0,07-2,10 | 0,42 | **0,14** | **0,88** | 2,9 | 14,0 |
| **I. acidez** | 44 | 7,22 | 0,65-11,40 | 1,90 | **0,83** | **0,82** | 2,3 | 13,0 |
| **RIE** | 49 | 0,32 | 0,01-0,69 | 0,16 | **0,13** | **0,31** | 1,2 | 5,1 |
| **Insaponificable** | 52 | 1,45 | 0,18-5,80 | 1,23 | **0,45** | **0,87** | 2,7 | 12,5 |
| **MIU*** | 48 | 2,26 | 1,04-7,59 | 1,60 | **0,38** | **0,94** | 4,21 | 17,33 |
| **Laúrico** | 44 | 0,11 | 0,06-0,13 | 0,02 | **0,009** | **0,67** | 1,7 | 7,8 |
| **Mirístico** | 51 | 1,95 | 0,11-3,01 | 0,75 | **0,13** | **0,97** | 5,7 | 22,1 |
| **Palmítico** | 55 | 21,72 | 7,16-25,89 | 5,47 | **0,76** | **0,98** | 7,1 | 24,5 |
| **Palmitoleico** | 52 | 2,27 | 0,09-3,34 | 0,86 | **0,33** | **0,86** | 2,6 | 10,0 |
| **Esteárico** | 55 | 13,65 | 4,05-20,38 | 4,60 | **0,74** | **0,98** | 6,2 | 22,2 |
| **Oleico** | 50 | 37,73 | 24,59-45,55 | 3,43 | **0,97** | **0,92** | 3,5 | 21,7 |
| **Linoleico** | 50 | 13,55 | 3,82-55,95 | 14,56 | **0,65** | **0,99** | 22,5 | 80,4 |
| **Margárico** | 52 | 0,67 | 0,05-1,13 | 0,28 | **0,06** | **0,96** | 4,8 | 18,6 |
| **Margaroleico** | 47 | 0,42 | 0,19-0,58 | 0,08 | **0,039** | **0,77** | 2,1 | 10,0 |
| **Araquídico** | 48 | 0,19 | 0,14-0,43 | 0,07 | **0,024** | **0,86** | 2,7 | 12,1 |
| **Behénico** | 29 | 0,21 | 0,01-0,72 | 0,21 | **0,035** | **0,97** | 6,1 | 20,3 |

*MIU: moisture + impurities + unsaponificable

## CONCLUSIONES

La tecnología NIRS permite una posibilidad real de caracterizar químicamente, y por tanto nutricionalmente, dos ingredientes líquidos de gran interés en alimentación animal. En la situación actual de crisis y desconfianza de los consumidores con respecto a los ingredientes de origen animal sería deseable ampliar la caracterización de las grasas de origen animal, lo que podría ser perfectamente factible mediante la tecnología NIRS.

## BIBLIOGRAFÍA


Alvarez C., De Blas, C., Santomá G., Gorrachategui M. y Pérez P. 2000. FEDNA. Madrid.

Bisplinghoff F.D. 1993. Collection Feeding and Nutrition Texas A & M University. pp. 11.

Boucqué CH.V. y Fiems L.O. 1988. Livestock Feed Resources and Feed Evaluation in Europe. Present situation and Future Prospects. De Boer, F an Bickel, H. (Eds). EAAP Publication No. 37. Elsevier. Amsterdam. The Netherlands., pp. 97-135.

De Blas C., González Mateos G y García Rebollar P. 1999. FEDNA. Madrid, pp: 143.

Edmunds B.K. 1990. Feedstuffs Evaluation. Wiseman, J y Cole, D.J.A (Eds). Butterworths. London.pp. 197-211.

García J., Garrido A. y De Pedro E.. 2001. Near Infrared Spectroscopy:proceedings of the 9th International Conference. Ed. A.M.C. Davies and R. Giangiacomo. Verona. Italia. Pp: 253-258.

Garrido A., Cobo C., García J., Sánchez M.T., Alcalá R., Horcas J.M. y Jiménez A. 2001. Near Infrared Spectroscopy:proceedings of the 9th International Conference. Ed. A.M.C. Davies and R. Giangiacomo. Verona. Italia. Pp: 867-871.

Gillespie, F. 2000. Focus, Vol 24, Nº 1, pp: 4-5.

ISI, 1998. Infrasoft International, LLC. Sylver Spring MD, USA.

Mateos G.G., Rebollar P.G y Medel P. 1996. Avances en Nutrición y Alimentación Animal XII Curso de Especialización FEDNA. Gª Rebollar ,G. G. Mateos y C. de Blas (coord.). pp: 3-21

Pérez D., Garrido A., De Pedro E.. y García J. 2001, ITEA (en prensa).

Shenk J.S. y Westerhaus M.O. 1995. Monograph. NIRSystems. Infrasoft International.

Williams P.C. y Sobering D. 1996. Near Infrared Spectroscopy: The Future Waves. Davies, A.M.C. y Williams, P.C. (Eds.). NIR Publications. Chichester. UK p. 185-188.



**Agradecimientos**

El presente trabajo se ha desarrollado en el marco del Proyecto CICYT-Feder IFD1997-0990, utilizando el equipamiento e infraestructura del SCAI (Unidad NIR/MIR) de la UCO, con la colaboración técnica de D. Antonio López, D. Alberto Sánchez de Puerta y Dª Isabel Leiva del Dpto. de Producción Animal (ETSIAM-UCO).