PREDICCIÓN NIRS DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA Y DEL PORCENTAJE DE INGREDIENTES EN PIENSOS ANALIZADOS EN FORMA INTACTA

Ana Garrido Varo[1], Mª Dolores Pérez Marín[1], Augusto Gómez Cabrera[1], José Emilio Guerrero Ginel[1], Félix de Paz Sanchez[2] y Natividad Delgado Aguayo.[2]

[1]Dpto. Producción Animal. ETSIAM. Universidad de Córdoba
[2] SAPROGAL, S.A

INTRODUCCIÓN

Numerosas directivas y decisiones Comunitarias hacen referencia a normativas relativas a la circulación de materias primas y piensos, y algunas de ellas señalan la importancia de la descripción detallada de los productos usados en alimentación animal y fijan normas para la declaración de ingredientes en mezclas. (77/101/EEC, 79/373/EEC, 90/44/EEC, 91/357/EEC, 98/67/EC).En el momento actual, la microscopía óptica es el método oficial que permite la identificación de ingredientes en mezclas y piensos, si bien ésta presenta diversos problemas, tales como los de sobreestimación de ingredientes fácilmente distinguibles, subestimación de ingredientes muy finos, necesidad de pre-tratamiento de productos pelletizados (lo que podría alterar la proporción original de ingredientes), necesidad de personas con alta experiencia en el examen microscópico, importantes errores intra e interlaboratorio, etc.(Jorgensen, 1998). Es por tanto urgente e imprescindible el disponer de técnicas analíticas rápidas, económicas y precisas, que permitan asimismo el cumplimiento de dichas normativas.

Diferentes autores han mostrado la capacidad de la tecnología NIRS, sola o en combinación con otras técnicas (microscopía-NIRS), para la predicción del porcentaje de ingredientes en mezclas (Givens y Deaville,1995; Fernández et al., 1995; Garrido y Fernández 1998; Xicatto et al., 1999; Piraux y Dardenne, 2000). Los estudios anteriores constituyen lo que se denominan estudios de viabilidad, tanto por el bajo número de muestras utilizadas como por utilizar principalmente mezclas experimentales preparadas en laboratorio.

El objetivo del presente trabajo es la obtención de ecuaciones de calibración NIRS para la predicción instantánea y simultánea de la composición química y el porcentaje de ingredientes en piensos comerciales analizados en forma intacta.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material experimental: Se han utilizado un total de 287 muestras de piensos compuestos muy variados (vacuno, ovino, aves, porcino, avestruces, equino, conejos, perros y gatos), que han sido suministradas por la empresa SAPROGAL S.A. participante en el proyecto CICYT-FEDER 1FD1997-0990, coordinado por el Dpto. de Producción Animal (Unidad docente ETSIAM) de la Universidad de Córdoba.

Análisis de referencia: Las muestras fueron analizadas por el método Weende: humedad-H (desecación en estufa 103ºC); proteína bruta-PB (Kjeldahl), grasa-bruta (Soxlet), fibra bruta-FB (Fibertec) y cenizas-CEN (incineración en horno mufla a 550ºC). En el desarrollo de ecuaciones de calibración para la predicción del porcentaje de ingredientes se utilizaron como datos de referencia los correspondientes a la fórmula de cada pienso.

Instrumentación NIRS: La recogida de espectros NIRS se realizó con un espectrofotómetro FOSS NIRSystems 6500 (SII), dotado de módulo de transporte. El programa usado para la recogida de espectros fue el ISI NIRS3 versión 3.11 (Infrasoft Internacional, Port Matilda, PA, USA).

Las muestras de piensos se analizaron en una cápsula rectangular provista de ventana de cuarzo (16x3,5 cm). Cada muestra de pienso era analizada en su forma de presentación comercial intacta (pellets, harinas, gránulos, etc.). Los espectros se recogieron por duplicado, utilizándose posteriormente el espectro medio para la obtención de calibraciones.

Calibración: software y métodos: Para el desarrollo de ecuaciones NIRS de calibración se ha utilizado el software WINISI versión 1.04 (ISI, 1998). La metodología a seguir para el desarrollo y evaluación de calibraciones es la descrita en diferentes publicaciones (Mark y Workman, 1991; Shenk y Westerhaus, 1996). 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

El amplio rango y la elevada DT del colectivo de calibración (Tabla 1) para cada uno de los parámetros analíticos testados, y de forma particular para los constituyentes PB y FB, confirma que dicho colectivo está constituido por piensos muy diversos. Los errores (ETVC) de las calibraciones obtenidas con piensos analizados en forma intacta (Tabla 1), se encuentran dentro de los rangos de valores habituales encontrados en piensos analizados en forma molida (Garrido et al., 1996).

Las calibraciones para la predicción de PB y FB muestran una excelente capacidad predictiva a juzgar por los elevados valores de r^2 (0,96 y 0,97) y los bajos valores del ETVC (0,75 y 0,63) resultantes, lo que junto con la elevada DT y el amplio rango de variación del colectivo de calibración explican los adecuados valores del RPD (5,06 y 6,20) y RER (15,20 y 26,35) obtenidos. Williams y Sobering (1996), señalan que valores del RPD mayores de 3 y del RER mayores de 10 son recomendables para el análisis en rutina. Las calibraciones para H, GB y Cen presentan asimismo una adecuada precisión, explicando el 84% de las variaciones en humedad y el 86% de las variaciones en GB y Cen. Si bien en el caso de H, GB y Cen los valores del RPD son ligeramente inferiores a 3, ello se explica por una menor DT en el colectivo de calibración para los tres parámetros mencionados. En cualquier caso los valores del RER superan el valor de 10recomendado.

Tabla 1.- Estadísticos de calibración para la predicción de la composición química en piensos.

	N	Media	Rango	DT	ETVC	r^2	RPD	RER
H	263	10.664	6.7-13.6	1.324	0.54	0.84	2.45	12.78
PB	252	18.205	12.2-33.6	3.798	0.75	0.96	5.06	15.20
GB	221	4.438	2.0-9.4	1.445	0.54	0.86	2.68	13.70
FB	248	6.756	2.0-18.6	3.903	0.63	0.97	6.20	26.35
CEN	245	8.401	3.9-16.7	2.196	0.83	0.86	2.65	15.42

Tabla 2.- Estadísticos de calibración para la predicción del porcentaje de ingredientes en piensos (N = 287).

Ingrediente	ETVC	r^2	RPD	Ingrediente	ETVC	r^2	RPD
% Trigo	8.20	0.43	1.32	%Palmiste	0.75	0.95	4.41
%Cebada	8.93	0.57	1.52	%H. Carne	1.65	0.61	1.59
%Cb+Tri	8.36	0.81	2.28	% H. Ave	1.82	0.89	2.99
%Soja44	4.08	0.83	2.43	%TotalCarne	0.88	0.98	8.16
%Maíz	5.37	0.87	2.76	%Melaza	1.17	0.76	2.06
%Alfalfa	1.44	0.94	3.92	%Grasa	0.61	0.89	2.93
%Mandioca	4.01	0.51	1.43	%H.Pescado	0.35	0.68	1.77
%Salvado	4.99	0.66	1.71	%Suero	0.13	0.94	4.38
%Girasol	1.60	0.95	4.67	%Altramuz	2.13	0.77	2.06
%Gluten	2.42	0.93	3.74	$\%CO_3Ca$	0.70	0.67	1.74
%Arroz	1.95	0.53	1.47	$\%ClNH_4$	0.04	0.78	2.50
%Remolacha	0.25	0.90	3.24	%Sal	0.09	0.52	1.44

Un análisis sintético de la los datos de la Tabla 2 nos permite resaltar la excelente capacidad predictiva ($r^2 \geq 0,9$; RPD$\geq$3) de las calibraciones obtenidas para la determinación del porcentaje de alfalfa, girasol, gluten, remolacha, palmiste, harina de ave, carne total (%harina de carne + %harina de ave) y suero. Otras ecuaciones que presentan una buena capacidad predictiva ($r^2 \geq 0,7$) son las desarrolladas para soja, maíz, melaza, grasa y altramuz. Las calibraciones obtenidas para determinar el porcentaje de cebada, mandioca, salvado, arroz, harina de carne y hueso, harina de pescado, carbonato cálcico, cloruro amónico y sal muestran una aceptable capacidad

predictiva ($0,5 \leq r^2 \leq 0,7$). Finalmente, la calibración de trigo permitiría al menos clasificar las muestras en bajo, alto y medio contenido en dicho ingrediente.

Las ecuaciones obtenidas son aún muy preliminares, y se está actualmente en fase de expandir dichas calibraciones con un mayor número de muestras (N > 500) y asimismo de optimizar diferentes aspectos críticos en su desarrollo, por lo que es de esperar que la precisión y exactitud de las ecuaciones mejoren.

Actualmente existe una propuesta de Directiva del Parlamento Europeo y del Consejo 2000/0015 (COD), cuya adopción está prevista en marzo del 2001, que obligará a que para todos los piensos compuestos destinados a animales de renta figure en su etiqueta o en un documento de acompañamiento la relación de materias primas en orden de importancia decreciente de los porcentajes en peso según los siguientes rangos: >30%, 30-15 %, 15-5%, 5-2% y <2%. Si definitivamente se confirma la aprobación de esta Directiva, las ecuaciones obtenidas en el presente trabajo serían suficientes para asegurar el cumplimiento de las exigencias propuestas.

CONCLUSIONES

La tecnología NIRS permite cumplir con normativas relativas al etiquetado de piensos, de una forma rápida, económica y sin uso de reactivos ni producción de residuos químicos. Un único análisis del pienso en su forma original (pellets, harinas, gránulos, etc.) produce de forma instantánea información cuantitativa de parámetros químicos y de ingredientes. Es obligado el considerar la tecnología NIRS como herramienta esencial en programas de Seguridad Alimentaria.

BIBLIOGRAFÍA

Directive 2000/ /CE. Du Parlement Europeen et au Conseil. Modifiant la Directive 79/373/CEE du Conseil concernant la circulation des aliments composés pour animaux et abrogeant la Directive 91/357/CEE de la Commission.

Fernández V., Garrido A. y Murray I. 1995. Near Infrared Spectroscopy for the detection of corn gluten feed adulteration. Report of a post-graduate fellowship at SAC (Aberdeen).

Garrido, A. y Fernández, V. 1998. NIRS technology for the quantitative prediction of the percentage of meat and bone meal added to a feed compound: a feasibility study. In: Report of the Workshop on *"Identification of animal ingredients in compound feed focusing on the microscopic method for identification"* organised by the CEMA group, 25-26th May 1998. DG XII Contract SMT4-CT97-6524.Annex X.

Garrido A., Gómez A. Guerrero J.E. y Fernández V. 1996. NIRS: una tecnología de apoyo para un servicio integral en alimentación animal. Avances en Alimentación y Nutrición Animal. Eds. P. Rebollar y col. FEDNA. 275-300.

Givens D.I. and Deaville E.R. 1995. The application of infared spectroscopy (NIRS) technology to product recognition in the feedstuf industry. ADAS-Drayton, Stratford on Avon. UK (com. personal).

ISI, 1998. The complete software solution for routine analysis, robust calibrations, and networking manual. FOSS NIRSystems/TECATOR. Infrasoft International, LLC. Sylver Spring MD, USA.

Jorgensen J. 1998. Report of the Workshop on *"Identification of animal ingredients in compound feed focusing on the microscopic method for identification"* organised by the CEMA group, 25-26th May 1998. DG XII. Contract SMT4-CT97-6524. 1-8.

Mark H. y Workman Y. 1991. Statistics in Spectroscopy. Academic Press, Inc. NY.

Piraux F. y Dardenne P. 2000. Feed Authentication by Near Infrared Microscopy. En: Near Infrared Spectroscopy: Proceedings of the 9th International Conference. Davies, A.M.C. y Giangiacomo, R (Eds). NIR Publications. 535-541.

Shenk J.S. y Westerhaus M.O. 1996. Calibration the ISI way. En: Near Infrared Spectroscopy: The Future Waves. Davies, A.M.C. y Williams, P.C. (eds). NIR Publications. Chichester. UK. Pp. 198-202.

Xicatto G., Trocino A., Carazzolo A., Meurens M., Maertens L. y Carabaño R. 1999. Nutritive evaluation and ingredient composition of compounds feeds for rabbits by near-infared reflectance spectroscopy (NIRS). Anim. Feed. Sci. Techn. 77: 201-212.

Williams P.C. y Sobering D. 1996. How do we do it: a brief summary of the methods we use in developing near infrared calibrations En Near Infrared Spectroscopy: The Future Waves. Davies, A.M.C. y Williams, P.C. (Eds.). NIR Publications. Chichester. UK. 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).