



## ESPECTROSCOPIA DE REFLECTANCIA EN EL INFRAROJO CERCANO (NIRS) PARA ESTIMAR FRACCIONES PROTEÍCAS EN PASTO *Urochloa*

### NEAR INFRARED REFLECTANCE SPECTROSCOPY (NIRS) TO ESTIMATE PROTEIN FRACTIONS IN *Urochloa* GRASS

Erika A. Hernandez<sup>1</sup>, Maribel Montero-Lagunes<sup>2</sup>, Javier F. Enríquez-Quiróz<sup>2</sup>, Francisco I. Juárez-Lagunes<sup>1\*</sup>, Ricardo Basurto-Gutierrez<sup>3</sup> y Ericka Ramírez-Rodríguez<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidad Veracruzana, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Veracruz, Veracruz, México. <sup>2</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Campo Experimental La Posta, Medellín, Veracruz, México. <sup>3</sup>INIFAP, CENID-Fisiología y Mejoramiento Animal, Ajuchitlán, Querétaro, México.

\*Autor de correspondencia (fjuarez@uv.mx)

#### RESUMEN

El contenido de proteína, después de fibra, es condicionante del consumo voluntario y digestibilidad de pastos tropicales por los rumiantes. Sin embargo, su determinación en el laboratorio es lenta y costosa, por lo que se requiere desarrollar ecuaciones de calibración para aplicar la tecnología de espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) en su estimación. El objetivo fue desarrollar modelos de calibración NIRS para estimar el contenido de las fracciones proteicas en pastos de *Urochloa* sp. para la zona tropical de México. Se obtuvieron 189 muestras de tres especies del género *Urochloa*, cosechadas cada 35 días durante un año y analizadas para las fracciones químicas Proteína Cruda (PC), Nitrógeno No Proteico (NNP), Proteína Soluble (PS), Proteína insoluble en Detergente Neutro (PIDN), Proteína Insoluble en Detergente Ácido (PIDA) y se estimaron las fracciones nutricionales proteicas A, B1+B2, B3 y C de acuerdo con la estructura del CNCPS (Cornell Net Carbohydrate and Protein System). La precisión de los modelos de calibración y validación se evaluaron por el coeficiente de determinación ( $R^2$ ), el error estándar de validación cruzada (EEVC) y la desviación residual de la predicción (DRP) obtenida por la relación (DE/EEVC). La validación se realizó mediante un conjunto de 63 muestras externas, las cuales presentaron altos coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 0.95 y 0.92 y DRP de 4.0 y 3.4 para PC y PS, respectivamente. La validación para las fracciones nutricionales proteicas A y B1+B2 presentó bajos valores de  $R^2$  (0.69 y 0.86) y DRP (1.6 y 1.9), respectivamente. Las validaciones de las fracciones de proteína ligadas a la pared celular [PIDN, PIDA (C) y B3], con  $R^2 \leq 0.39$  y DRP  $\leq 0.9$  no fueron explicadas suficientemente. Se concluye que los modelos de calibración NIRS desarrollados para estimar PC y PS son precisos y confiables.

**Palabras clave:** *Urochloa* sp. NIRS, Nitrógeno, pastos tropicales.

#### SUMMARY

The protein content, after fiber, is a determining factor in the voluntary intake and digestibility of tropical grasses by ruminants. However, its determination in the laboratory is slow and expensive, so it is necessary to develop calibration equations to apply near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) technology in its estimation. The objective was to develop NIRS calibration models to estimate the content of protein fractions in *Urochloa* sp. grass for the tropical conditions of Mexico. A total of 189 samples of three species of *Urochloa* grass were obtained, harvested every 35 days for a year and analyzed for the chemical fractions Crude Protein (PC), Non-Protein Nitrogen (NNP), Soluble Protein (PS), Protein insoluble in Neutral Detergent

(PIDN), Protein Insoluble in Acid Detergent (PIDA) and the protein nutritional fractions A, B1 + B2, B3 and C were estimated according to the structure of the CNCPS (Cornell Net Carbohydrate and Protein System). The precision of the calibration and validation models were evaluated by the coefficient of determination ( $R^2$ ), the standard error of cross-validation (EEVC), and the residual deviation of the prediction (DRP) obtained by the ratio (DE / EEVC). The validation was carried out by means of a set of 63 external samples. Validation of the equations for PC and PS presented high coefficient of determination ( $R^2$ ) of 0.95 and 0.92, and DRP of 4.0 and 3.4, respectively. The validation for the protein nutritional fractions A and B1 + B2 shows low values of  $R^2$  (0.69 and 0.86) and DRP (1.6 and 1.9), respectively. The validations of the equations for protein fractions bound to the cell wall [PIDN, PIDA (C) and B3], with  $R^2 \leq 0.39$  and DRP  $\leq 0.9$  were not sufficiently explained. It is concluded that the NIRS calibration models developed to estimate PC and PS are accurate and reliable.

**Keywords:** *Urochloa* sp, NIRS, Nitrogen, tropical grasses.

#### INTRODUCCIÓN

Dentro de las gramíneas forrajeras tropicales más utilizadas en México y Latinoamérica se encuentran algunas especies del género *Urochloa*, entre las cuales se destacan: *Urochloa brizantha* cv. Insurgente, *Urochloa* híbrido cv. Mulato y *Urochloa humidicola* (CIAT 6133) cv Dictyoneura, que son morfológicamente diferentes entre ellas (Enríquez et al., 2011). Estos forrajes aportan carbohidratos y proteínas necesarias a los bovinos para producir carne y leche (Lascano, 2002). Sin embargo, presentan también variaciones en su composición nutricional durante las épocas del año, debido a factores edafoclimáticos y de manejo. Un parámetro nutricional importante de los forrajes es la calidad nutritiva de las proteínas, determinada por el contenido de nitrógeno, su solubilidad y transformación ruminal, que depende de la tasa y extensión de la digestión de sus diferentes fracciones individuales (Lee et al., 2014).

El CNCPS (Cornell Net Carbohydrate and Protein System) ha desarrollado modelos para separar las fracciones de

proteínas alimentarias en función de la diferencia en la tasa y su grado de degradabilidad en el rumen: la PC se divide en las fracciones A, B y C. La fracción A se define como la proteína que se origina a partir de nitrógeno no proteico (NNP), la fracción B es la proteína verdadera y la fracción C es proteína no disponible para los rumiantes. Además, la fracción B se divide en las fracciones B1, B2 y B3, de acuerdo con sus diferentes tasas de degradación ruminal. La fracción B1 es soluble en tampón fosfato-borato y se degrada rápidamente en el rumen. La fracción B2 es insoluble en este tampón, pero es soluble en medio detergente neutro y tiene tasa intermedia de degradación ruminal. La fracción B3 es insoluble en detergente neutro, pero es soluble en solución detergente ácida, es de degradación lenta en el rumen y escapa parcialmente para ser digerida en el intestino, y la fracción C, que es el N insoluble en solución detergente ácida y es indigestible (Fox *et al.*, 2004; Lanzas *et al.*, 2008).

Existe, como método alternativo al análisis químico, la espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS, Near-Infrared Reflectance Spectroscopy) para la evaluación rápida de la composición química de los principales parámetros de calidad de los forrajes, como es la PC. El uso de esta técnica presenta ventajas frente a la química húmeda, debido a que permite el análisis simultáneo de varios componentes de la muestra, no es destructiva ni invasiva, tiene alta velocidad de procesamiento, no requiere de reactivos químicos, necesita mínima mano de obra, el costo de análisis es bajo y presenta alta precisión de predicción de las características nutricionales de los forrajes pertinentes para los rumiantes (Brown y Moore, 1987; Rivera y Alba, 2017; Valenciaga y Saliba, 2006.). Se debe tener presente que los modelos de calibración varían en función del equipo, el tipo de muestra, e inclusive del analista que las realiza. Por lo tanto, cada región debe desarrollar sus propios modelos de calibración.

La técnica NIRS ha sido utilizada en diversos países. En Brasil, Freitas *et al.* (2016) realizaron la evaluación y comparación de este método con los métodos convencionales de laboratorio mediante la determinación de los componentes químicos principales en la especie *Urochloa humidicola*. En Italia, Danieli *et al.* (2010) evaluaron la confiabilidad y precisión de la técnica NIRS para predecir los principales parámetros nutricionales de forrajes y pastos. En Irán, Arzani *et al.* (2015) utilizaron la técnica NIRS para estimar el contenido de nitrógeno en especies de gramíneas. Sin embargo, esta técnica no se ha utilizado ampliamente para la estimación de las fracciones proteicas bajo la estructura del CNCPS en pastos en zonas tropicales. Por lo anterior el objetivo del presente estudio fue desarrollar los modelos de calibración NIRS para las

fracciones químicas Proteína Cruda (PC), Nitrógeno No Proteico (NNP), Proteína insoluble en Detergente Neutro (PIDN), Proteína Insoluble en Detergente Ácido (PIDA) y las fracciones nutricionales proteicas A, B1+B2, B3 y C de acuerdo con la estructura del CNCPS, en tres cultivares del género *Urochloa* para la zona tropical de México.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Área del estudio

El estudio se realizó en el Campo Experimental "La Posta", INIFAP, localidad de Paso del Toro, municipio de Medellín de Bravo en Veracruz. El clima de la región es Aw caliente subhúmedo (García, 1987), con temperatura y precipitación promedio anual de 25 °C y 1,380 mm, respectivamente. La altura sobre el nivel del mar es de 16 m. La posición geoespacial comprende los paralelos 19° 02' de Latitud Norte y 96° 08' de Longitud Oeste. El suelo se clasifica como Vertisol, de textura arenosa con 18.80 % de arcilla, 2.61 % de materia orgánica y pH de 6.08.

### Diseño experimental, tratamientos y material de estudio

Se establecieron 18 parcelas (3 x 2 m) con área de muestreo de 1 m<sup>2</sup>. Los muestreos se realizaron durante el año 2013 cada 35 días, a una altura de planta de 15 cm. Las especies de *Urochloa* evaluadas fueron: Dictyoneura (*Urochloa humidicola*), Insurgente (*Urochloa brizantha*) y Mulato I (*Urochloa ruziziensis* x *U. brizantha*). Se establecieron seis parcelas para cada especie: se fertilizaron tres parcelas con N y tres sin fertilización. Para las parcelas fertilizadas se utilizó la fórmula 150-60-00 kg ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> de N, P y K, de los cuales se proporcionaron 75 kg ha<sup>-1</sup> de urea al corte de uniformización y posteriormente 25 kg de urea después de cada corte; el fósforo se aplicó en una sola ocasión al inicio del experimento. Se suministró riego por goteo durante las épocas de invierno (diciembre, enero y febrero) y de sequía (marzo, abril y mayo) solo a las parcelas fertilizadas. En total se analizaron 189 muestras del género *Urochloa*, de las cuales 126 fueron para la calibración de las ecuaciones y 63 para la validación externa, que consiste en comparar las concentraciones predichas por la calibración con valores de referencia de muestras no utilizadas en ésta (García *et al.*, 2017).

### Determinación de composición química del material de estudio en laboratorio

Las muestras de forraje colectadas fueron secadas en horno de aire forzado a 55 °C hasta peso constante y procesadas en molino Wiley (Model 4, Arthur H. Thomas Co. Philadelphia, PA) con malla de 1 mm. Se determinó Proteína Cruda (PC) (AOAC, 1991), Fracciones de Nitrógeno por el

método estandarizado por Licitra *et al.* (1996), la proteína en paredes celulares utilizando solución detergente neutra y la proteína indigestible utilizando solución detergente ácida. Las equivalencias de las fracciones proteicas químicas del laboratorio con las nutricionales del CNCPS se muestran en el Cuadro 1.

Los datos seleccionados para los modelos de calibración se sometieron a un análisis de estadísticas descriptivas: después de significativas y quitar el corchete [media, desviación estándar (DE), coeficiente de variación (CV), valor máximo (max), y valor mínimo (min)] con el paquete estadístico MINITAB Versión 15.

### Obtención de los espectros NIRS

Una vez conocida la composición química proteica de las *urochloas*, éstas últimas fueron escaneadas en el equipo Thermo Scientific Nicolet™ 6700 FT- Near Infrared Analyzer (Thermo Electron Corp, Madison WI, USA), en un intervalo de longitudes de onda de 1,000 a 2,500 nm de reflectancia. El proceso de escaneo se realizó colocando la muestra sobre un contenedor con ventana de cuarzo, el cual es inactivo a las ondas electromagnéticas del infrarrojo, posteriormente, el contenedor se colocó sobre la esfera de integración del espectrofotómetro y se dispuso a girar durante el proceso de escaneo de la muestra. Para la obtención de los espectros se utilizó el software OMNIC versión 2008.

### Obtención de los Modelos de Calibración

Para obtener los modelos de calibración, los espectros NIRS se correlacionaron con los valores para las fracciones proteicas: PC, NNP (A), PIDN, PIDA (C), PS, PSV (B1+B2) y (B3), descritas en el Cuadro 1. Para cada parámetro se

desarrolló un modelo individual. Se aplicó la variable normal estándar (VNS) a todos los espectros, con el fin de eliminar los efectos de dispersión de los datos espectrales y limitar la región utilizada si se presentaban numerosos ruidos. En este sentido, se realizó la identificación de un conjunto de valores atípicos, *outliers*, los cuales fueron analizados para su eliminación cuando fuese necesario. También, se utilizaron tratamientos matemáticos (Cuadro 2) basados en derivadas de primer orden para optimizar la extracción de información útil de los espectros. Finalmente, se aplicó el modelo de regresión de mínimos cuadrados parciales (PLS) para la calibración de los espectros. La aplicación del tratamiento matemático previo a los espectros, la evaluación de valores atípicos y la calibración se realizaron utilizando el software de quimiometría TQ Analyst V8.

### Selección de los modelos de calibración

El modelo de calibración para cada parámetro se seleccionó teniendo en cuenta la relación entre el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) más alto y el error estándar de validación cruzada de la calibración (EEVC<sub>c</sub>) más bajo (Alomar *et al.*, 2003; Vásquez *et al.*, 2004). Este error es el que más se debe tener en cuenta al evaluar la calibración, ya que es un excelente indicador de la precisión de la predicción (García *et al.*, 2017). La precisión de los modelos se probó utilizando la desviación residual de la predicción de calibración (DR<sub>p</sub>c), calculada como la relación entre la desviación estándar (DE<sub>c</sub>) de los valores de referencia y el error estándar de validación cruzada de la calibración (EEVC<sub>c</sub>), ecuación que tiene un alto poder de predicción (Arana *et al.*, 2005; Cozzolino y Moron, 2004; Molano *et al.*, 2016; Shenderey *et al.*, 2010).

### Validación de los Modelos de Calibración

**Cuadro 1. Equivalencias de las fracciones químicas proteicas del laboratorio con las fracciones nutricionales proteicas del CNCPS.**

Fracciones químicas	Fracción nutricionales
NNP	A
PC – PIDN	PS (proteína soluble). PS es un paso intermedio para obtener PSV (proteína soluble verdadera)
PS – NNP	PSV (proteína soluble verdadera)
PSV	La fracción B1 resultó ser muy pequeña, de tal forma que se asoció con la fracción B2 y se denominó B1+B2
PIDN - PIDA	B3
PIDA	C

NNP: nitrógeno no proteico o fracción A de degradación inmediata, PC: proteína cruda (N total x 6.25), PIDN: proteína insoluble en detergente neutro, PS: Proteína soluble, PSV: proteína soluble verdadera, B1: proteínas enzimáticas del citoplasma de degradación rápida como RUBISCO, B2: proteína estructural de los organelos del citoplasma de degradación intermedia, B3: Proteínas degradables de la pared celular de lenta degradabilidad como las extensinas, PIDA: proteína insoluble en detergente ácido o fracción, C: proteína indigestible generalmente ligada a lignina.

Seleccionados los modelos de calibración se realizó la validación externa, con las 63 muestras que no se utilizaron en la calibración, con el fin de determinar su precisión mediante el coeficiente de determinación de validación ( $R^2v$ ) y la desviación residual de la predicción de validación (DRP<sub>v</sub>) obtenida por la relación (DE<sub>v</sub>/EECV<sub>v</sub>).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La estadística descriptiva de los análisis de laboratorio de PC, NNP, PIDN, PIDA y de las fracciones proteicas del CNCPS del material de estudio utilizado para desarrollar los modelos de calibración y validación se presenta en el Cuadro 3. Se observó amplia variación en las concentraciones de los diferentes parámetros analizados en el laboratorio para *Urochloa*. Los coeficientes de variación (CV) y la desviación estándar (DE) oscilaron entre 31.6 - 74.28 % y 0.8 - 3.4 %, respectivamente, lo cual representa la heterogeneidad de las muestras debido a la variabilidad a lo largo del año entre y dentro de cultivares, así como la fertilización con riego.

Los resultados para PC se pueden comparar con lo reportado por Mazabel et al. (2020), en la especie *Urochloa humidicola* y similar número de muestras a las utilizadas en este estudio, donde el CV y la DE fueron de 28.1 y 2.29 %, respectivamente. No obstante, son menores a lo reportado por Molano et al. (2016), quienes evaluaron gramíneas y leguminosas en diferentes condiciones y encontraron muy altos CV y DE, 41.2 y 6.7 %, respectivamente. La variación posiblemente se deba a la especificidad de las muestras analizadas, las cuales pueden afectar el resultado esperado de las ecuaciones de calibración (Deaville y Flin, 2000). Las fracciones proteicas han sido poco analizadas por medio de espectros NIR en zonas tropicales. Al respecto, en Corea utilizaron esta metodología para evaluar las fracciones proteicas en ensilados de leguminosas (Lee et al., 2014), en China en alfalfa (Nie et al., 2008), en España en pastos templados (Valdés et al., 2006) y en Estados Unidos en ensilados de leguminosas y gramíneas (Hoffman et al., 1999). El primer trabajo reportado sobre la determinación de las fracciones nutricionales proteicas del CNCPS en pastos tropicales refiere a Juárez et al. (1999), sin que al momento haya estimaciones de estas evaluaciones con la tecnología NIRS. Los resultados para PS muestran que es una fracción muy uniforme, ya que remueve la variación dada por la proteína ligada a la pared celular (PIDN), y representa el 7.4 % de la MS de los pastos evaluados. Sin embargo, las fracciones PIDN y PIDA muestran CV de 41.6 y 74.3 %, respectivamente y, además, reflejan alta variación en las mediciones de química húmeda, asociada a bajas concentraciones de proteína (3.4 y 1.1 %), mismo problema señalado por Nie et al. (2008) en alfalfa. En este estudio, la fracción proteica A (NNP) fue determinada por

el método del ácido túngstico, que arroja una variación muy grande (CV 60.4 %) y puede afectar las predicciones NIRS. Actualmente, el CNCPS, versión 6.5, utiliza la técnica de nitrógeno amoniacoal para determinar el NNP (Higgs et al., 2015). La fracción B1 en pastos tropicales es muy pequeña, por lo que se decidió asociarla con la fracción B2, para aumentar la precisión de estimación con la tecnología NIRS. Ambas fracciones promedian 4.5 % de la MS y CV 50 % (Cuadro 3) que son equivalentes a la proteína soluble verdadera (sin NNP), que es la fracción proteica con mayor valor biológico en los rumiantes (Tedeschi y Fox, 2013). Los valores de B1 y B2 en este estudio son similares a los de Valdés et al. (2006), estudio realizado en España con forrajes templados, aunque se esperaría que en los pastos templados estas fracciones fueran mayores (Deaville y Flin, 2000). Los valores promedio y CV encontrados de la fracción B3 en este estudio (2.3 y 60.8 %) son representativos de los pastos tropicales (Juárez et al., 1999).

En el Cuadro 4 se presentan los parámetros estadísticos de los modelos de calibración y su validación, los cuales muestran la eficiencia de predicción de los modelos seleccionados, al obtener alto coeficiente de determinación ( $R^2$ ) y desviación residual de la predicción (DRP), siendo estos los principales parámetros de selección. El coeficiente de determinación de validación ( $R^2v$ ) tuvo una variación entre 0.07 y 0.95 y el DRP<sub>v</sub> entre 0.7 y 4.0, lo cual, indica que algunos modelos de calibración seleccionados no presentaron un alto poder de predicción. Con relación a las ecuaciones para PC, vinculada a la adsorción de N-H (Roberts et al., 2003), el  $R^2v$  y DRP<sub>v</sub> fue de 0.95 y 4.0, respectivamente. Esto indica una precisión en la predicción sobresaliente, que coincide con lo reportado en *Urochloa* por Mazabel et al. (2020) y Monroy et al. (2017), así como en otros pastos (Parrini et al., 2018; Molano et al., 2016; Nie et al., 2008; Valdés et al., 2006). El  $R^2v$  y DRP<sub>v</sub> de la PS (0.92 y 3.4) también es sobresaliente, con lo cual se obtendría precisión en las predicciones para este pasto. Esto coincide con lo encontrado por Nie et al. (2008),  $R^2$  y DRP 0.91 y 3.31, respectivamente, para la misma fracción en alfalfa. El nitrógeno asociado a la pared celular (PIDN) presentó  $R^2v$  y DRP<sub>v</sub> de 0.30 y 0.8, respectivamente (Cuadro 4). Dado el bajo valor de  $R^2$  y DRP, esta fracción no se considera apta para predicciones NIRS bajo nuestras condiciones. Quizás, modificando los tratamientos matemáticos se pudiera tener mayor precisión, como lo obtuvieron Nie et al. (2008) y Valdez et al. (2006). Referente a la estimación del contenido de PIDA, y que representa a la fracción C del CNCPS, el  $R^2v$  y DRP<sub>v</sub> fue de 0.07 y 0.7, respectivamente (Cuadro 4). En esta fracción se conjuntan varios factores, como son bajo contenido de nitrógeno (1.1 % MS), lo que disminuye la repetibilidad entre duplicados en el laboratorio (Deaville y Flin, 2000; Shenk y Westerhaus,

**Cuadro 2. Tratamiento matemático de la calibración de las fracciones proteicas.**

Parámetro	MC	FPLS	Tratamiento matemático
Fracciones químicas en laboratorio			
PC	114	7	1,3,1
NNP (A)	89	8	1,3,1
PIDN	105	4	1,3,1
PIDA (C)	114	6	1,3,1
Fracciones nutricionales del CNCPS			
PS (PC-PIDN)	105	5	1,3,1
PSV (B1+B2)	108	7	1,3,1
B3	98	4	1,3,1

PC: proteína cruda, NNP: nitrógeno no proteico, PIDN: proteína insoluble en detergente neutro, PIDA: proteína insoluble en detergente ácido, B3: Proteína de lenta degradabilidad, PS: Proteína soluble, PSV: proteína soluble verdadera, MC: muestras para calibración, FPLS: número de factores PLS, 1: primera derivada, 3: polinomial, 1: suavizado.

**Cuadro 3. Estadística descriptiva de la composición química proteica y las fracciones nutricionales proteicas del CNCPS (% MS).**

Parámetro	No.	Media	DE	CV	Max	Min
Fracciones de proteína en laboratorio						
PC	189	10.8	3.4	31.6	18.9	4.7
NNP (A)	189	2.9	1.8	60.4	7.9	0.1
PIDN	189	3.4	1.4	41.6	8.8	0.3
PIDA (C)	189	1.1	0.8	74.3	4.6	0.1
Fracciones de proteína del CNCPS						
PS (PC-PIDN)	189	7.4	3.1	42.4	1.8	1.2
PSV (B1+B2)	189	4.5	2.2	50.0	10.5	0.1
B3	189	2.3	1.4	60.8	7.4	0.1

PC: proteína cruda, NNP: nitrógeno no proteico (fracción A), PIDN: proteína insoluble en detergente neutro, PIDA: proteína insoluble en detergente ácido (fracción C), B3: Proteína de lenta degradabilidad, PS: Proteína soluble, PSV: proteína soluble verdadera, No.: Número de muestras, DE: desviación estándar, CV: coeficiente de variación, Max: máximo, Min: mínimo.

1996), el tratamiento matemático (1:3:1), que quizás no haya sido el adecuado, y la alta variación (CV 74.3 %), probablemente hayan disminuido la precisión en la predicción por tecnología NIRS. Nie *et al.* (2009) y Hermida *et al.* (2005) presentaron el mismo problema con este parámetro en alfalfa y gramíneas y leguminosas de clima cálido. Por lo que Nie *et al.* (2008) sugieren que en lugar de la aproximación de regresión por PLS (Partial Lineal Square) explorar la regresión por SVM (Support Vector Machine), de acuerdo con Vapnik (1999).

En este estudio, la fracción nutricional A (NNP) mostró bajos  $R^2v$  0.69 y DRP<sub>v</sub> 1.6. Mismo problema presento Valdés *et al.* (2006) en pastos de clima templado en España, sin embargo, Nie *et al.* (2008) encontró valores más

precisos en alfalfa, pero utilizando diferentes parámetros para estimar la ecuación (2:17:2). Vásquez *et al.* (2004) sugieren que esta baja predicción podría deberse a que el NNP (A) no es una estructura química definida, sino una mezcla de diferentes compuestos: aminas, amidas, aminoácidos, péptidos, ácidos nucleicos, cierta cantidad de nitritos y nitratos, los cuales aparentemente no son absorbidos en la zona del infrarrojo cercano evaluada. Es de importancia mejorar la predicción para el NNP (A) en NIRS, modificando su modo de cuantificación. Por ello, el CNCPS antes utilizaba el ácido tungstico (versión 5) para la determinación química de esta fracción, sin embargo, actualmente utiliza el nitrógeno amoniacial (versión 6), que es una fracción más uniforme y representativa del NNP en rumen, pues es esencial para que los microorganismos

**Cuadro 4. Parámetros de Calibración y Validación de las fracciones de proteína (% MS).**

Parámetro	Calibración						Validación					
	No.	Media	DEc	EEVCc	R <sup>2</sup> c	DRPc	No.	Media	DEv	EEVCv	R <sup>2</sup> v	DRPv
<b>Fracciones químicas de proteína en laboratorio</b>												
PC	114	10.71	3.37	0.86	0.89	3.9	63	10.87	3.37	0.84	0.95	4.0
PS (PC-PIDN)	105	7.44	3.17	1.09	0.72	2.9	52	7.65	3.00	0.77	0.92	3.4
PIDN	105	3.20	1.09	0.82	0.6	1.3	54	3.21	0.77	1.0	0.30	0.8
PIDA (C)	114	1.03	0.68	0.67	0.36	1.0	60	1.10	0.43	0.64	0.07	0.7
<b>Fracciones nutricionales de proteína del CNCPS</b>												
A (NNP)	89	3.28	1.71	0.88	0.51	1.9	55	3.13	1.50	0.93	0.69	1.6
B1+B2 (PSV)	108	4.66	2.16	1.09	0.72	2.0	51	4.39	1.80	0.93	0.86	1.9
B3	98	2.20	1.19	0.84	0.53	1.4	48	2.08	0.86	0.95	0.39	0.9

PC: proteína cruda, NNP: nitrógeno no proteico, PIDN: proteína insoluble en detergente neutro, PIDA: proteína insoluble en detergente ácido, B3: proteína de lenta degradabilidad, PS: proteína Soluble, PSV: proteína soluble verdadera, No: número de muestras, DE: desviación estándar, EEVCc: error estándar de la validación cruzada de la calibración, R<sup>2</sup>c: coeficiente de determinación de la calibración, DRPc: desviación residual de la predicción de la calibración (DE<sub>c</sub>/EEVCc), EEVCp: error estándar de la validación cruzada de la predicción, DRPp: desviación residual de la predicción de la validación (DE<sub>p</sub>/EEVCp).

ruminantes sean capaces de utilizar la celulosa como fuente de cadenas carbonadas y convertir el NNP (A) en proteína verdadera (Lanzas et al., 2008). Las fracciones B1 y B2, que constituyen a la proteína soluble verdadera (PSV) asociada al citoplasma, presentaron R<sup>2</sup>v 0.86 y DRP<sub>v</sub> 1.9. La fracción B3, asociada a la pared celular, presentó R<sup>2</sup>v 0.39 y DRP<sub>v</sub> 0.9. Estos resultados coinciden con lo reportado por Nie et al. (2008) y Valdés et al. (2006) con otros pastos. Los argumentos que pueden explicar la baja predictibilidad de estas fracciones del CNCPS es que provienen de sustracciones de las fracciones químicas PC, NNP, PIDN y PIDA, de las cuales arrastran errores inherentes a la composición de la fracción química y a la variación en la determinación en el laboratorio. Las consecuencias de estos errores pueden ser impredecibles por que pueden ser aditivos o se pueden cancelar uno al otro. Por tanto, es muy arriesgado desarrollar modelos de calibración para estas fracciones nutricionales proteicas, a menos que se realicen extensivos tratamientos matemáticos, como en el caso de Nie et al. (2008), que utilizaron la metodología de regresión SVM (Support Vector Machine) en lugar de PLS (Parcial Least Square).

## CONCLUSIONES

Los resultados indican que las calibraciones obtenidas para la estimación del contenido de PC y PS en pastos *Urochloa* sp presentaron un adecuado ajuste y eficiencia predictiva mediante la técnica NIRS. Para el caso de NNP (A), PIDA (C) y PIDN las predicciones fueron insuficientes e inefficientes. La insuficiencia de la regresión por PLS y sus tratamientos matemáticos no permitieron desarrollar modelos de calibración más precisos para las fracciones

nutricionales proteicas B1+B2 y B3 del CNCPS.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alomar D., C. Gallo, M. Castañeda and R. Fuchslocher (2003) Chemical and discriminant analysis of bovine meat by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS). *Meat Science* 63:441–450, [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(02\)00101-8](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(02)00101-8)
- AOAC, Association of Official Analytical Chemists (1990) Official Methods of Analysis 15<sup>th</sup> ed. Arlington, VA, USA.
- Arana I., C. Jarén and S. Arazuri (2005) Maturity, variety and origin determination in white grapes (*Vitis vinifera L.*) using near infrared reflectance technology. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* 13:349–357, <https://doi.org/10.1255/jnirs.566>
- Arzani H., A. V. Sanei, A. Barker, S. Ghafari and J. Motamed (2015) Estimating nitrogen and acid detergent fiber contents of grass species using near infrared reflectance spectroscopy (NIRS). *Journal of Rangeland Science* 5:260–268, [http://www.rangeland.ir/article\\_516634.html](http://www.rangeland.ir/article_516634.html)
- Brown W. F. and J. E. Moore (1987) Analysis of forage research samples utilizing a combination of wet chemistry and near infrared reflectance spectroscopy. *Journal of Animal Science* 64:271–282, <https://doi.org/10.2527/jas1987.641271x>
- Cozzolino D. y A. Moron (2004) Exploring the use of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to predict trace minerals in legumes. *Animal Feed Science and Technology* 111:161–173, <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2003.08.001>
- Danieli P. P., P. Carlini, U. Bernabucci and B. Ronchi (2004) Quality evaluation of regional forage resources by means of near infrared reflectance spectroscopy. *Italian Journal of Animal Science* 3:363–376, <https://doi.org/10.4081/ijas.2004.363>
- Deaville E. R. and P. C. Flinn (2000) Near-infrared (NIR) spectroscopy: an alternative approach for the estimation of forage quality and voluntary intake. In: Forage Evaluation in Ruminant Nutrition. Givens D. I., E. Owen, R. F. E. Axford, H.M. Omed (eds) 2000. CAB International, Wallingford, pp: 301–320.
- Enríquez Q. J. F., N. F. Meléndez, E. D. A. Bolaños y E. V. A. Esqueda (2011) Producción y Manejo de Forrajes Tropicales. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional Golfo Centro. Campo Experimental La Posta, Veracruz, México. 443 p.
- Fox D. G., L. O. Tedeschi, T. P. Tylutki, J. B. Russell, M. E. Van Amburgh, L. E. Chase, A. N. Pell and T. R. Overton (2004) The cornell net carbohydrate and

- protein system model for evaluating herd nutrition and nutrient excretion. *Animal Feed Science and Technology* 112:29-78, <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2003.10.006>
- Freitas J. C., A. S. Santos, T. R. Tomich e G. L. Franco (2016)** Predição do valor nutritivo de gramínea nativa e exótica no pantanal por meio do método de reflectância no infra vermelho próximo. *Veterinária e Zootecnia* 23:251- 259, <https://www.cabi.org/isc/FullTextPDF/2016/20163216821.pdf>
- García E (1987)** Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Cuarta edición. Instituto de geografía, Universidad Nacional Autónoma de México. 91 p.
- García S. F., S. L. Galvez, N. J. J. Martínez, D. R. Muelas and M. Nieves (2017)** Using Near-Infrared Spectroscopy in Agricultural Systems: In: *Developments in Near-Infrared Spectroscopy*. K. Kyprianidis and Jan Skvaril (eds). Mälardalen University. Västerås, Sweden. pp: 97-127.
- Hermida M., A. Lois and J. L. Rodríguez-Otero (2005)** Analysis of Nitrogen Fractions in Silage by Near-Infrared Spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53:1374-1378, <https://doi.org/10.1021/jf0401423>
- Higgs R. J., L. E. Chase, D. A. Ross, M. E. Van Amburgh (2015)** Updating the Cornell Net Carbohydrate and Protein System feed library and analyzing model sensitivity to feed inputs. *Journal of Dairy Science* 98:6340-6360, <http://doi.org/10.3168/jds.2015-9379>
- Hoffman P. C., N. M. Brehm, L. M. Bauman, J. B. Peters and D. J. Undersander (1999)** Prediction of laboratory and *in situ* protein fractions in legume and grass silages using near-infrared reflectance spectroscopy. *Journal of Dairy Science* 82:764 - 770, [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75294-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75294-X)
- Juárez L. F. I., D. G Fox, R. W. Blake and A. N. Pell (1999)** Evaluation of tropical grasses for milk production by dual-purpose cows in tropical Mexico. *Journal Dairy Science* 82:2136-2145, [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(99\)75457-3](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(99)75457-3)
- Lanzas C., G. A. Broderick and D. G. Fox (2008)** Improved feed protein fractionation schemes for formulating rations with the Cornell net carbohydrate and protein system. *Journal of Dairy Science* 91:4881- 4891, <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1440>
- Lascano C. E. (2002)** Caracterización de pasturas para maximizar la producción animal. *Archivos Latinoamericanos. Producción Animal* 10:126-132, [https://ojs.alpa.uy/index.php/ojs\\_files/article/view/191/188](https://ojs.alpa.uy/index.php/ojs_files/article/view/191/188)
- Lee H. W., S. Jang, H. J. Lee and H. S. Park (2014)** Studies on 5 protein fractions prediction of forage legume mixture by NIRS. *Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science* 34:214-218, <https://doi.org/10.5333/kgfs.2014.34.3.214>
- Licitra G., T. M. Hernandez and P. J. Van Soest (1996)** Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology* 57:347-358, [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(95\)00837-3](https://doi.org/10.1016/0377-8401(95)00837-3)
- Mazabel J., M. Worthington, V. Castiblanco, M. Peters and J. Arango (2020)** Using near infrared reflectance spectroscopy for estimating nutritional quality of *Brachiaria humidicola* in breeding selections. *Agrosystems, Geosciences & Environment* 3: 1-9, <https://doi.org/10.1002/agg2.20070>
- Molano M. L., M. L. Cortés, P. Á. Ávila, S. D. Martens y L. S. Muñoz (2016)** Ecuaciones de calibración en espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) para predicción de parámetros nutritivos en forrajes tropicales. *Tropical Grasslands* 4:139 - 145, [https://doi.org/10.17138/TGFT\(4\)139-145](https://doi.org/10.17138/TGFT(4)139-145)
- Monroy M., D. Gutiérrez, M. Miranda, K. Hernández and G. J. Renán (2017)** Determination of *Brachiaria* spp. forage quality by near-infrared spectroscopy and partial least squares regression. *Journal of the Chilean Chemical Society* 62:3472 - 3477, <https://doi.org/10.4067/S0717-97072017000200010>
- Nie Z., J. Han, T. Liu and X. Liu (2008)** Hot topic: application of support vector machine method in prediction of alfalfa protein fractions by near infrared reflectance spectroscopy. *Journal of Dairy Science* 91:2361 - 2369, <https://doi.org/10.3168/jds.2008-0985>
- Parrini S., A. Acciaioli, A. Crovetti and R. Bozzi (2018)** Use of FT-NIRS for determination of chemical components and nutritional value of natural pasture. *Italian journal of animal science* 17:87 - 91, <https://doi.org/10.1080/1828051X.2017.1345659>
- Rivera R. A. y M. J. M. Alba (2017)** Revisión: NIRS en el análisis de alimentos para la nutrición animal. *Revista Ingenio* 13:2 - 14, <https://doi.org/10.22463/2011642X.2149>
- Roberts C. A., J. Workman and J. B. Reeves (2003)** Near infrared spectroscopy in agriculture. *Agronomy* 44. American Society of Agronomy Inc. Madison, Wisconsin, USA. 785 p.
- Shenderey C., I. Shmulevich, V. Alchanatis, H. Egozi, A. Hoffman, V. Ostrovsky, S. Lurie, R. Ben Ari and Z. Schmilovitch (2010)** NIRS detection of moldy core in apples. *Food and Bioprocess Technology* 3:79 - 86, <https://doi.org/10.1007/s11947-009-0256-1>
- Shenk J. S. and M. O. Westerhaus (1996)** Calibration the ISI way. In: *Near Infrared Spectroscopy: The future waves*. A.M.C. Davies., P.C. Williams (eds). Chichester, UK. pp. 198 - 202.
- Tedeschi L. O. and D. G. Fox (2001)** Application of the Cornell Net Carbohydrate and Protein System for tropical conditions. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria* 3:1-10, [https://doi.org/10.21930/rcta.vol3\\_num2\\_art:181](https://doi.org/10.21930/rcta.vol3_num2_art:181)
- Valdés C., S. Andrés, F. J. Giráldez, R. García and A. Calleja (2006)** Potential use of visible and near infrared reflectance spectroscopy for the estimation of nitrogen fractions in forages harvested from permanent meadows. *Journal of the Science Food and Agriculture* 86:308 - 314, <https://doi.org/10.1002/jsfa.2309>
- Valenciaga D. y E. O. S. Saliba (2006)** La espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) y sus potencialidades para la evaluación de forrajes. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola* 40:259 - 267, <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=1930/193017723001>
- Vapnik V. N. (1999)** An overview of statistical learning theory. *IEEE Transactions on Neural Networks* 10: 988-999, <http://doi.org/doi:10.1109/72.788640>
- Vásquez D. R., B. Abadía y L. C. Arreaza (2004)** Aplicación de la espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) para la caracterización nutricional del pasto Guinea y del grano de maíz. *Revista Corpoica* 5:49 - 55, [https://doi.org/10.21930/rcta.vol5\\_num1\\_art:24](https://doi.org/10.21930/rcta.vol5_num1_art:24)

