



UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE AGRONOMIA

Calibración de espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) para medición de la composición química de praderas (muestras secas) en la Décima Región.

Tesis presentada como parte de los requisitos para optar al grado de Licenciado en Agronomía.

JOSE MANUEL CUEVAS URZUA

VALDIVIA - CHILE

2005

Profesor Patrocinante

Daniel Alomar Carrio

Ing. Agr. M.Sc.

Profesores Informantes

René Anrique Gimpel

Ing. Agr. M.Sc. Ph.D.

Oscar Balocchi Leonelli

Ing. Agr. M.Sc. Ph.D.

INDICE DE MATERIAS

Capítulo		Página
1	INTRODUCCION	1
2	REVISION BIBLIOGRAFICA	3
2.1	Antecedentes generales	3
2.2	Espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS)	4
2.2.1	Origen y desarrollo de la técnica NIRS	4
2.2.2	Fundamentos básicos	5
2.2.2.1	Radiación electromagnética y su infrarrojo cercano	5
2.2.2.2	Interacción radiación – materia en el infrarrojo cercano	7
2.2.2.3	Enlaces moleculares e información entregada mediante irradiación	9
2.2.3	Equipos NIRS	10
2.2.3.1	Monocromadores de barrido	12
2.2.3.2	Fuentes de error en análisis NIRS	13
2.2.4	Calibraciones NIRS	13
2.2.5	Tratamiento de datos espectrales	14
2.2.5.1	Tratamientos matemáticos	14
2.2.5.2	Muestras aberrantes o extrañas	16
2.2.5.3	Métodos estadísticos para calibraciones NIRS	16
2.2.5.4	Criterios de selección de ecuaciones	18
2.2.5.5	Validación de ecuaciones	20
2.2.6	Medición de la composición química de praderas mediante NIRS	21
3	MATERIAL Y METODO	24

Capítulo		Página
3.1	Caracterización general del estudio	24
3.1.1	Duración y ubicación del estudio	24
3.1.2	Obtención de las muestras de pradera	24
3.2	Tratamiento de las muestras	25
3.3	Recolección de espectros	25
3.4	Medición de composición química de referencia	26
3.5	Desarrollo de calibraciones	27
4	PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS	30
4.1	Caracterización de las muestras	30
4.2	Espectros recolectados mediante la técnica NIRS	31
4.3	Calibraciones obtenidas para la medición de la composición química de praderas	33
4.3.1	Proteína Bruta	34
4.3.2	Proteína Soluble	37
4.3.3	Fibra Detergente Neutro	38
4.3.4	Nitrógeno Insoluble en Detergente Neutro	41
4.3.5	Fibra Detergente Acido	44
4.3.6	Ceniza Total	46
4.3.7	Extracto Etéreo	49
4.3.8	Carbohidratos Solubles	50
4.3.9	Materia Orgánica Digestible	52
4.3.10	Energía Metabolizable	54
4.4	Caracterización global de las ecuaciones de calibración NIRS	58
5	CONCLUSIONES	63

Capítulo		Página
6	RESUMEN	65
	SUMMARY	67
7	BIBLIOGRAFIA	69
	ANEXOS	76

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Bandas de absorción de enlaces químicos en la región NIRS	10
2	Predicción de la composición química de praderas mediante NIRS e indicadores estadísticos	23
3	Tratamientos matemáticos de corrección de datos espectrales aplicados a las distintas fracciones químicas de praderas	28
4	Rango de valores, promedio y desviación estándar de las fracciones químicas analizadas (Base Materia Seca)	30
5	Ecuaciones de calibración e indicadores estadísticos de su eficiencia predictiva para Proteína Bruta	34
6	Ecuaciones de calibración e indicadores estadísticos de su eficiencia predictiva para Proteína Soluble	37
7	Ecuaciones de calibración e indicadores estadísticos y su eficiencia predictiva para Fibra Detergente Neutro	40
8	Ecuaciones de calibración e indicadores estadísticos y su eficiencia predictiva para Nitrógeno Insoluble en Detergente Neutro	42
9	Ecuaciones de calibración e indicadores estadísticos y su eficiencia predictiva para Fibra Detergente Acido	45
10	Ecuaciones de calibración e indicadores estadísticos y su eficiencia predictiva para Ceniza Total	47
11	Ecuaciones de calibración e indicadores estadísticos y su eficiencia predictiva para Extracto Etéreo	49
12	Ecuaciones de calibración e indicadores estadísticos y su eficiencia predictiva para Carbohidratos Solubles	51

Cuadro		Página
13	Ecuaciones de calibración e indicadores estadísticos y su eficiencia predictiva para la Materia Orgánica Digestible	53
14	Ecuaciones de calibración e indicadores estadísticos y su eficiencia predictiva para Energía Metabolizable	56

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Agrupación de espectros recolectados de 98 muestras de pradera de la Décima Región de Los Lagos	31
2	Agrupación de espectros de muestras de pradera sometidos a una primera diferenciación (1:10:5:1)	33
3	Relación entre Proteína Bruta (%) y su predicción por NIRS	36
4	Relación entre Proteína Soluble (%) y su predicción por NIRS	39
5	Relación entre Fibra Detergente Neutro (%) y su predicción por NIRS	41
6	Relación entre Nitrógeno Insoluble en Detergente Neutro (%) y su predicción por NIRS	44
7	Relación entre Fibra Detergente Acido (%) y su predicción por NIRS	45
8	Relación entre Ceniza Total (%) y su predicción por NIRS	48
9	Relación entre Extracto Etéreo (%) y su predicción por NIRS	50
10	Relación entre Carbohidratos Solubles (g kg^{-1}) y su predicción por NIRS	52
11	Relación entre la Materia Orgánica Digestible (%), Valor <i>D</i> , y su predicción por NIRS	55
12	Relación entre Energía Metabolizable (Mj kg^{-1}) y su predicción por NIRS	57
13	Partición relativa de ecuaciones generadas con tratamientos de diferenciación espectral	58
14	Partición relativa de ecuaciones generadas con tratamientos de corrección matemática	60

Figura	Página
15	Ecuaciones de calibración y tratamientos matemáticos involucrados en su elaboración
	61

INDICE DE ANEXOS

Anexo		Página
1	Tratamientos matemáticos de corrección y diferenciación espectral usados en la determinación de ecuaciones para Proteína Bruta (%)	77
2	Tratamientos matemáticos de corrección y diferenciación espectral usados en la determinación de ecuaciones para Proteína Soluble (%)	78
3	Tratamientos matemáticos de corrección y diferenciación espectral usados en la determinación de ecuaciones para Fibra Detergente Neutro (%)	79
4	Tratamientos matemáticos de corrección y diferenciación espectral usados en la determinación de ecuaciones para Nitrógeno Insoluble en Detergente Neutro (%)	80
5	Tratamientos matemáticos de corrección y diferenciación espectral usados en la determinación de ecuaciones para Fibra Detergente Acido (%)	81
6	Tratamientos matemáticos de corrección y diferenciación espectral usados en la determinación de ecuaciones para Ceniza Total (%)	82
7	Tratamientos matemáticos de corrección y diferenciación espectral usados en la determinación de ecuaciones para Extracto Etéreo (%)	83
8	Tratamientos matemáticos de corrección y diferenciación espectral usados en la determinación de ecuaciones para Carbohidratos Solubles (g kg ⁻¹ MS)	84

Anexo	Página
9 Tratamientos matemáticos de corrección y diferenciación espectral usados en la determinación de ecuaciones para la Materia Orgánica Digestible, Valor <i>D</i> (%)	85
10 Tratamientos matemáticos de corrección y diferenciación espectral usados en la determinación de ecuaciones para Energía Metabolizable (Mj kg ⁻¹ MS)	86

1 INTRODUCCION

La Décima Región de Los Lagos destaca por sobre las demás regiones del país, por destinar la mayor parte de su superficie agrícola a praderas, siendo esta característica, entre otras, las que la definen como la zona ganadera más importante del país en los rubros de leche y carne. Para éstos, el recurso pradera representa la principal base alimenticia.

Las diferencias climáticas a lo largo del año, las fases fenológicas, la condición edáfica y las diversas tecnologías, se expresan en una composición nutricional de amplia variabilidad en las praderas, encontrándose marcadas diferencias en la calidad de éstas a través del año. Es por esto, y en busca de la optimización de los sistemas productivos, que es de suma importancia para el productor agrícola el poder conocer de manera rápida y lo más certeramente posible, la composición nutricional de sus praderas.

Para lo anterior, es necesario contar con recursos tecnológicos que permitan el análisis de las praderas en una forma rápida, precisa y no contaminante, originándose una problemática por la falta de métodos de análisis que cumplan en su totalidad los requisitos mencionados. Sin embargo, a partir de la década de los cincuenta se inició la aplicación de un nuevo método analítico que permite conseguir los objetivos señalados. Se trata de la Espectroscopía de Reflectancia en el Infrarrojo Cercano (NIRS), un método analítico aplicado a la agricultura que ha sido capaz de introducirse gracias a sus cualidades y desplazar aquellos sistemas tradicionales de análisis de forrajes.

La hipótesis general que se planteó en el presente estudio es: que mediante ecuaciones de calibración NIRS, es posible determinar la composición química de praderas de la Décima Región.

El objetivo general del presente estudio fue: evaluar la capacidad predictiva de NIRS para medir la composición química de praderas.

Los objetivos específicos fueron:

- Evaluar la eficacia de la técnica NIRS para estimar la composición químico-nutricional de distintos tipos de praderas, considerando las siguientes fracciones: Proteína Bruta, Proteína Soluble, Fibra Detergente Neutro, Nitrógeno Insoluble en Detergente Neutro, Fibra Detergente Acido, Ceniza Total, Extracto Etéreo, Carbohidratos Solubles, Materia Orgánica Digestible (Valor *D*) y Energía Metabolizable.
- Estimar el efecto de diferentes tratamientos matemáticos de los datos espectrales, sobre el grado de ajuste de las ecuaciones de predicción desarrolladas, en términos de su coeficiente de determinación y error estándar.

2 REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1 Antecedentes generales.

La Décima Región, cuenta con más de 1.350.000 hectáreas de praderas, de las cuales el 11 % corresponde a praderas artificiales, 39 % a praderas mejoradas y el 50 % restante a praderas naturales (BALOCCHI, 1999). Estas praderas presentan crecimientos variables a través del año. Se caracterizan por un buen crecimiento primaveral, luego es afectado por sequías estivales a partir, en general, del mes de diciembre y con una severidad variable según el agrosistema. Comenzado el otoño se percibe un aumento en las tasas de crecimiento, luego disminuida en invierno para recuperar nuevamente en el período primaveral (PINOCHET, 1999).

El conocimiento de la calidad de los forrajes, en forma rápida y confiable, es de particular relevancia en zonas ganaderas donde las praderas son la principal fuente de alimento para el ganado (ALOMAR y FUCHSLOCHER, 1998). Esto es esencial no sólo por la salud animal, también desde un punto de vista económico, donde el costo de la alimentación es simplemente el más importante de los costos en un sistema productivo, el que determina el esperado retorno financiero para el agricultor (GIVENS et al., 1997).

OSBORNE et al. (1993), señalan que diversas y modernas técnicas instrumentales basadas en la medida de propiedades físicas de una muestra, han sido desarrolladas en respuesta a la necesidad de métodos analíticos alternativos a las técnicas tradicionales, en donde NIRS ha sido una de las más exitosas, la que combina rapidez, precisión y simplicidad experimental.

2.2 Espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS).

La técnica NIRS, es una ciencia combinada alternativa a los métodos tradicionales para análisis químicos que, dentro de sus aplicaciones, permite determinar la composición nutricional de distintos forrajes (ALOMAR y FUCHSLOCHER, 1998; FAUGHEY y SHARMA, 2000).

En los últimos 40 años, ésta técnica ha logrado las mayores contribuciones a la producción de alimentos, mediante la determinación de calidad y usos potenciales de diversas fuentes alimenticias. La tecnología NIRS, es capaz de proveer máximos beneficios a la alimentación mundial, siempre y cuando se mantenga una debida interacción entre empresarios agrícolas, profesionales del área, ambientalistas, plantas procesadoras de alimentos y proveedores de materias primas (BATTEN, 1998).

Dentro de sus ventajas, siguiendo protocolos previamente establecidos, es posible contar con una técnica de alta precisión, exactitud, no destructiva, rápida y que requiere de una mínima o nula preparación de la materia en estudio (GIVENS *et al.*, 1997). De manera contraria, la principal desventaja de NIRS, señalada por ALOMAR y FUCHSLOCHER (1998), es el requerir de instrumentos para espectroscopía de alta precisión y valor comercial, aunque para OSBORNE *et al.* (1993), sería la dependencia de NIRS a los métodos empíricos tradicionales de análisis químicos de alimentos.

2.2.1 Origen y desarrollo de la técnica NIRS. El primer espectro de reflectancia en el infrarrojo data de los estudios de William Herschel en el año 1800 (HINDLE, 1999). Posteriormente, en el año 1881, Abney y Festing determinaron fotográficamente el espectro en el infrarrojo cercano (NIR) de varios líquidos orgánicos, comprendiendo en esta investigación la importancia

que representan los enlaces de hidrógeno en provocar la absorción de energía en la región NIR (OSBORNE et al., 1993).

Como es de apreciar, el origen de la técnica NIRS se remonta a Europa, sin embargo, su mayor desarrollo tomó lugar en los Estados Unidos de Norteamérica, (OSBORNE et al., 1993), en donde, el desarrollo tecnológico no permitiría sino hasta la década de 1950 la construcción de espectrofotómetros, con los cuales el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA), en la misma década, comenzara a estudiar materiales biológicos (HINDLE, 1999). Norris et al. (1976) citados por GIVENS et al. (1997), dan a conocer en su trabajo *Predicting Forage Quality by Infrared Reflectance Spectroscopy*, una de las primeras aplicaciones de NIRS para predecir la composición, consumo y digestibilidad de forrajes en el ganado. Trabajo que más tarde fuera la base para establecer un sistema computacional para investigaciones sobre forrajes en el USDA (GIVENS et al., 1997).

2.2.2 Fundamentos básicos. La espectroscopía se basa esencialmente en la interacción de la radiación electromagnética y la materia a ser analizada (REEVES, 2000). El funcionamiento básico de esta técnica, busca la absorción de energía por parte de las moléculas constituyentes de la materia y su posterior reacción vibratoria, de extensión o doblamiento, de los enlaces covalentes que las conforman (ALOMAR y FUCHSLOCHER, 1998).

2.2.2.1 Radiación electromagnética y su infrarrojo cercano. MORCILLO (1974) y OSBORNE et al. (1993), señalan que la radiación electromagnética, puede ser considerada como un conjunto de *ondas armónicas simples*, las que ondulan interconectadas entre sí mediante campos eléctricos perpendiculares a la dirección de propagación y campos magnéticos con la misma frecuencia y perpendicular al campo eléctrico, siendo éstos los que interactúan con la materia objetivo. Por su parte, un movimiento de onda armónico simple, puede

ser caracterizado por las propiedades del seno de ésta, tales como; frecuencia (número de ciclos por segundo de la onda) y longitud de onda. Además, para caracterizar la radiación electromagnética, es de uso frecuente el término de *número de onda*, el cual se define como; “el recíproco de la longitud de onda expresado en centímetros, que a la vez se considera como ciclos por centímetro de radiación emitida” (inverso de la longitud de onda).

El vasto espectro de la radiación electromagnética, se encuentra clasificado en varias categorías, las cuales, según HECHTZ y ZAJAC (1986), corresponden a una división bastante ligera y sin universalidad en la nomenclatura física actual. Una de las anteriores categorías constituye la región infrarroja, la cual se extiende aproximadamente desde los 780 nm (cercana a la región del espectro visible) hasta 1,0 mm (región de microondas), siendo subdividida en infrarrojos cercano, intermedio, lejano y extremo.

La región NIR, para HECHTZ y ZAJAC (1986), está comprendida entre los 780 nm y 3.000 nm, mientras que OSBORNE *et al.* (1993), indican como límite superior los 2.500 nm. A pesar de lo anterior, INFRASOFT INTERNATIONAL (1992), es coincidente y determinante con lo propuesto por OSBORNE *et al.* (1993), en que el límite superior de NIR corresponde a los 2.500 nm. Por su parte REEVES (2000), menciona que existe otra región que se encuentra ubicada entre la visible (400 – 760 nm) y el NIR, siendo ésta denominada *NIR onda corta* (short-wave-NIR) ubicada entre 760 y 1.100 nm, y que en ciertas ocasiones es incluida y utilizada como parte de NIR. Es en este caso donde la región NIR se consideraría desde los 760 a 2.500 nm según el autor antes mencionado. INFRASOFT INTERNATIONAL (1992), señala que la región NIR corresponde desde los 1.100 a 2.500 nm, y desde los 700 a 1.100 es una etapa de transición entre las regiones visible y NIR.

2.2.2.2 Interacción radiación – materia en el infrarrojo cercano. La interacción de la radiación infrarroja con una muestra puede ser registrada mediante un espectro de transmitancia o reflectancia. Este se define como la representación gráfica de la radiación infrarroja incidente (transmitida o absorbida) en función de la longitud de onda (o número de onda) de la misma (MORCILLO, 1974).

Debido a la naturaleza desorganizada o confusa de las vibraciones moleculares, un espectro de la región infrarroja se caracteriza por bandas de absorción fundamentales de las moléculas, ocurridas en el infrarrojo medio (GIVENS et al., 1997). Estas bandas de absorción producen ecos o rebotes, expresándose como *sobretonos* o *armónicos* de las bandas o combinaciones de las bandas fundamentales las que luego son captadas en el infrarrojo cercano (MORCILLO, 1974; DAVIS y GRANT, 1987). Una banda de absorción se define como la región del espectro donde se plasma una absorción de radiación, en la cual su frecuencia o número de ondas, corresponde al punto más elevado de la máxima registrada. Esta banda de absorción de una molécula dada corresponde a *bandas fundamentales de absorción* las que suelen ser muy intensas. Además, existen bandas de menor intensidad que son los llamados; *armónicos* o *sobretonos*, situados a dos o tres veces del número de onda de las fundamentales. (MORCILLO, 1974).

Esencialmente, la técnica NIRS puede ser aplicada mediante dos modos (de radiación); transmitancia y reflectancia de la energía (MURRAY, 1993). Cuando la radiación incidente (I_o) interactúa con una muestra, ésta puede ser absorbida (I_a), transmitida (I_t) o reflejada (I_r), en donde, según la ley de conservación de la energía, la radiación total incidente debe ser igual a la sumatoria de los distintos caminos que pueda seguir la radiación. Esta se representa en la ecuación 2.1. (MURRAY, 1993; OSBORNE et al., 1993).

$$I_0 = I_a + I_t + I_r \quad (2.1)$$

La luz total reflejada por una muestra es la suma de la reflexión especular más la reflexión difusa. Esta última representa la dispersión de las ondas, y ocurre cuando la energía es transmitida momentáneamente y a la vez absorbida de manera parcial a través de una muestra para luego emerger difusamente sin un patrón definido. La dispersión sufrida por las ondas se encuentra sujeta a las propiedades físicas de la superficie sometida, es decir, de la composición física de la muestra. Las más importantes son; el tamaño de partículas, contenido de humedad y temperatura de la misma. La heterogénea composición de una muestra es causante, en adición a las características físicas, de una mayor distorsión en la dispersión de la luz expresada en el solapamiento de las bandas espectrales correspondientes a la materia analizada (GIVENS et al., 1997).

SHENK y WESTERHAUS (1994) y REEVES (2000), aclaran que de acuerdo a la ley de Beer-Lambert, la radiación absorbida por una muestra (A) es directamente proporcional a la absorbancia de ésta al momento que ocurre transmisión (T) de energía, estableciendo que la concentración de los enlaces moleculares es lineal al $\log 1/T$ (ecuación 2.2). Dicha relación, es fundamental para cuantificar la absorción y puede además ser aplicada en mediciones de reflectancia (R) para aquellos materiales que dispersan luz. La interpretación de la ley de Beer-Lambert para utilizarse en reflexión difusa se expresa en la ecuación 2.3.

$$A = \log 1/T = \log I_o / I_r \quad (2.2)$$

$$A = \log 1/R = \log I_o / I_r \quad (2.3)$$

2.2.2.3 Enlaces moleculares e información entregada mediante irradiación. En el infrarrojo cercano, es donde las muestras observan una baja absorción comparado con otras regiones del infrarrojo. Esto permite la penetración de la luz en la muestra. Luego de ocurrida la interacción de la radiación con la materia en análisis, los enlaces covalentes han de sufrir la acción vibratoria y de desdoblamiento, provocada por la radiación incidente (ALOMAR y FUCHSLOCHER, 1998; URUGUAY, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS, INIA, 2001).

Cuando una muestra es irradiada, la luz es absorbida selectivamente de acuerdo a la frecuencia vibratoria específica de las moléculas, es decir, ocurre un acoplamiento de iguales frecuencias produciendo cambios en el estado energético de éstas, y así, entregando la información de los grupos moleculares presentes (MORCILLO, 1974; GIVENS *et al.*, 1997).

Las reacciones vibratorias moleculares ocurridas, corresponden principalmente a moléculas asociadas al átomo de hidrógeno, como pueden ser uniones C-H, O-H y N-H (INIA, 2001). Ampliamente, todos los enlaces de origen orgánico presentan bandas de absorción en la región del infrarrojo cercano, mientras que los minerales pueden sólo ser detectados en complejos orgánicos o quelados, o indirectamente por su efecto sobre enlaces de hidrógeno (CIAVARELLA *et al.*, 1998; REEVES, 2000).

Las uniones moleculares pueden presentar más de una banda de absorción. OSBORNE *et al.* (1993), mencionan que, para el enlace más importante en las moléculas orgánicas, C-H, estudios han reportado hasta cinco bandas de absorción para un mismo compuesto. En el Cuadro 1 se presentan algunas bandas de absorción que identifican a los constituyentes de una muestra mediante sus enlaces químicos.

CUADRO 1 Bandas de absorción de enlaces químicos en la región NIRS.

Longitud de onda (nm)	Constituyente	Enlace asignado
1152	CH ₃	C-H
1170	HC=CH	C-H
1200	Lípidos, CH ₂	C-H
1440	Agua, almidón, sacarosa	O-H
1730	Lípidos	C-H
1780	Lípidos, celulosa	C-H
1940	Agua	O-H
1980	Proteínas	N-H
2080	Almidón, sacarosa	O-H
2180	Proteína, CH ₂	C=O, N-H
2320	Lípidos	C-H
2350	Lípidos, celulosa	C-H

FUENTE: Adaptado de DAVIS y GRANT, (1987) y OSBORNE *et al.*, (1993).

En la ecuación 2.3 se presentó la relación que permite aplicar la ley de Beer-Lambert para reflectancia. La información obtenida a partir de los enlaces moleculares presentes en una muestra es captada por detectores quienes la amplifican. Posteriormente los antecedentes espectrales son promediados y expresados como $\log 1/R$ (1 = referencia) para la longitud de onda correspondiente (COVENTRY, 1988; GIVENS *et al.*, 1997).

2.2.3 Equipos NIRS. El desarrollo tecnológico experimentado en las últimas décadas, ha permitido el avance de la técnica NIRS en la creación de nuevos diseños, tanto de equipos como de sus componentes (ALOMAR y FUCHSLOCHER, 1998). Las ciencias involucradas con la técnica; óptica, electrónica, computación (hardware y software) y quimometría, y por ende su desarrollo, han sido importantes condicionantes para la evolución en los últimos años de los equipos NIRS (HINDLE, 1999; REEVES, 2000).

Al considerar la variada y abundante información entregada por los espectros NIRS, obtenida por ejemplo, de distintos alimentos como forrajes o leche, la cual sólo puede ser extraída mediante el procesamiento matemático

de los datos, OSBORNE et al. (1993), destacan la relevancia de los computadores utilizados como componente de los equipos, señalando que la información obtenida no sería posible de utilizar sin la disponibilidad de éstos y que a medida que la velocidad y capacidad de ellos aumente, así lo hará la utilización de NIRS.

La disponibilidad de diferentes modelos de equipos NIRS, es alta. Sin embargo, esencialmente están compuestos por; una fuente que irradia energía, un discriminador de longitudes de onda, un medio para exponer la muestra a la irradiación, un detector que convierta la energía irradiada a una señal eléctrica y un procesador de la señal y lector (GIVENS et al., 1997). No obstante, la configuración básica de los dispositivos antes mencionados, difiere entre instrumentos según sea el carácter de acción de la radiación que utilice el equipo; transmitancia o reflectancia (OSBORNE et al., 1993).

En la actualidad, los instrumentos NIRS es posible de encontrarlos en una amplia variedad de tamaños y formas. REEVES (2000), señala que existen diversas formas de clasificación para equipos. Según el mecanismo de presentar la muestra pueden ser de: fibra óptica, celdas rotatorias para muestras molidas, cubetas para materiales voluminosos y contenedores para líquidos. En base al diseño óptico pueden clasificarse en equipos de: filtros, rejillas (red de difracción), diodos emisores de luz (diode array), detectores simples (single detectors) y esferas integradas. Según el rango de longitud de onda que emitan, pueden clasificarse en: infrarrojo cercano (NIR), onda corta NIR (SWNIR), SWNIR y NIR e infrarrojo medio (MIDIR). Sin embargo, DEAVILLE y FLINN (2000), mencionan que los equipos más ampliamente difundidos son los equipos monocromadores de barrido, que presentan la ventaja de emitir longitudes de onda tales que abarcan el infrarrojo cercano en su totalidad.

2.2.3.1 Monocromadores de barrido. Este instrumento, comparte con los demás equipos la presencia de una fuente de radiación, espejos o lentes para enfocar la luz, detectores para cuantificar la luz reflejada y un estándar interno para ajustar distintas condiciones ambientales (Clark et al., 1991, citados por BEYER, 1997).

La absorción en NIR, requiere de una fuente de energía de tal magnitud, que la emisión de ésta debe abarcar la región espectral del infrarrojo cercano es su totalidad. Prácticamente todos los instrumentos NIRS utilizan bombillas con filamento de tungsteno como fuente emisora, existiendo además, bombillas halógenas de cuarzo de mayor duración que las anteriores (OSBORNE et al., 1993). Como fuente dispersora de la luz emitida, un monocromador utiliza un prisma o red de difracción que genera diferentes longitudes de onda (GIVENS et al. 1997; ALOMAR y FUCHSLOCHER, 1998), las que son cuantificadas mediante “detectores infrarrojos”, comúnmente de sulfuro de plomo (material fotosensible), y por último, como estándar interno se utiliza un cerámico (GIVENS et al., 1997).

La manera de presentar una muestra para la obtención de su espectro, es mediante dispositivos especialmente diseñados para equipos NIRS. Los más utilizados en reflectancia cuentan del siguiente diseño; una cubierta circular de cuarzo, diámetro de 3,5 cm, montada en un cilindro plástico o aluminio (color negro) de un centímetro de profundidad. Estas pueden ser utilizadas en el análisis de materiales finamente molidos o con algún grado de preparación. Otros modelos de recipientes, permiten trabajar indistintamente en el modo de reflectancia o transmitancia y con muestras intactas para lo cual deben poseer una doble ventana de cuarzo, entre las cuales se deposita la muestra, permitiendo así el paso de la radiación para el caso de transmitancia (INFRAISOFT INTERNATIONAL, 1992; REEVES, 2000).

2.2.3.2 Fuentes de error en análisis NIRS. Las principales fuentes de variación en la técnica son referidas a factores intrínsecos de la muestra en lo que respecta a; tamaño de partícula, temperaturas de la muestra e instrumento y diversidad composicional. En relación al equipo, se mencionan factores concernientes al mismo como fuente de error (REEVES, 2000). Sin embargo, NORRIS (1989), advierte que la mayor fuente de error en mediciones NIRS es la muestra misma en su proceso anterior al análisis, producto de errores de muestreo, inestabilidad de la muestra, desuniformidad de la muestra, problemas de almacenamiento y errores en los análisis de referencia.

2.2.4 Calibraciones NIRS. Estas se definen como el procedimiento matemático mediante el cual se relacionan las medidas ópticas de NIRS con un constituyente o propiedad física deseado de conocer en una materia definida (DEAVILLE y FLINN, 2000).

Según OSBORNE *et al.* (1993), para poder realizar medidas cuantitativas con instrumentos NIRS es necesaria la calibración e independientemente de los equipos utilizados, todos requieren de una forma de calibración. MURRAY (1988) y GIVENS *et al.* (1997), señalan que al no existir una ley matemática que permita describir la interacción de la radiación con un medio de dispersión de ondas, el cual resulta en una heterogénea distribución de éstas, las técnicas de espectroscopía son empíricas o secundarias puesto que requieren de calibraciones por medio de muestras de conocida composición, determinada mediante técnicas primarias o métodos tradicionales de análisis químicos.

El procedimiento usual para calibraciones, involucra la colección de un grupo de muestras, las cuales deben ser representativas de la población que a futuro será analizada con el instrumento (DEAVILLE y FLINN, 2000). El siguiente paso en la calibración es la colección de los espectros y análisis de

referencia, pre-tratamiento de la información espectral, modelos estadísticos y su validación (GIVENS et al., 1997).

2.2.5 Tratamiento de datos espectrales. Luego de almacenados los datos de reflectancia como absorbancia ($\log 1/R$), es necesario someter la información espectral a tratamientos matemáticos para posteriormente, mediante análisis estadísticos determinar las calibraciones más satisfactorias (SHENK y WESTERHAUS, 1994; ALOMAR y FUCHSLOCHER, 1998).

2.2.5.1 Tratamientos matemáticos. Estos permiten, en general, reducir interferencias por factores como el tamaño de partícula de la muestra, destacar rasgos del espectro y facilitar el análisis estadístico de regresión (SHENK y WESTERHAUS, 1994; ALOMAR y FUCHSLOCHER, 1998), además de eliminar la falta de linealidad en datos espectrales, debida a la dispersión de luz (GIVENS et al., 1997).

El tamaño de partículas de una muestra, produce interferencias tales como la expansión o contracción del espectro en forma multiplicativa y variaciones en la capacidad de penetración de la luz incidente sobre la muestra, para lo cual diversos tratamientos matemáticos pueden ser aplicados al espectro, ya sea en partes localizadas o a la totalidad de éste. Con esto se consigue eliminar *ruidos* o *interferencias* en la muestra, logrando lo que se denomina un espectro *suavizado* (INFRAISOFT INTERNATIONAL, 1992; SHENK y WESTERHAUS, 1994; ALOMAR y FUCHSLOCHER, 1998).

El tratamiento de diferenciaciones o derivadas es señalado como el más común entre las posibles alternativas a utilizar, el que a su vez puede ser aplicado en conjunto a otros tratamientos. Sin embargo, el uso de derivaciones es sólo parcialmente atractivo, puesto que reduce sustancialmente el efecto del tamaño de partículas, pero no lo remueve totalmente (MURRAY, 1988;

OSBORNE *et al.*, 1993). La utilización de diferenciaciones permite tratar matemáticamente el espectro mediante cambios locales del mismo y considera el cálculo de promedios y sustracciones de los datos de absorción a distintas longitudes de onda a lo largo del espectro (SHENK y WESTERHAUS, 1994), así reduciendo la alta correlación entre los datos espectrales a diferentes longitudes de onda (OSBORNE *et al.*, 1993).

Según DAVIS y GRANT (1987) e INFRASOFT INTERNATIONAL (1992), sobre la base de tratamientos de diferenciación, es posible mejorar considerablemente la resolución de las bandas de absorción mediante la descomposición de la compleja combinación de picos que forman un espectro infrarrojo. ALOMAR y FUCHSLOCHER (1998), dan a conocer un ejemplo de este tratamiento, el que sería: 1-10-5; donde el primer número indica el orden de derivación o diferenciación, el segundo es la amplitud o distancia entre los segmentos a sustraer y el tercero la longitud del segmento a ser suavizado. SINNAEVE *et al.* (1994), señalan que los mejores resultados obtenidos en el análisis de forrajes, se ha obtenido con una primera o segunda derivada, considerando segmentos e intervalos de cinco datos o puntos.

Los tratamientos matemáticos más destacables dentro de la literatura que permiten transformaciones a la totalidad del espectro son; Transformación de Fourier, Corrección de Variación Normal Estándar (SNV), Corrección de Dispersión Multiplicativa (MSC), Detrend y el tratamiento más ampliamente recomendado que sería “SNV y Detrend” (SNV-D) (INFRASOFT INTERNATIONAL, 1992; DARDENNE *et al.*, 2000; DEAVILLE y FLINN, 2000).

En el procedimiento de MSC, se fija un espectro promedio del grupo de muestras y se busca el ajuste de éste mediante su contracción o expansión, logrando así el mejor parecido de los espectros al promedio seleccionado (INFRASOFT INTERNATIONAL, 1992; DEAVILLE y FLINN, 2000).

El tratamiento SNV-D, corresponde a un método de corrección combinado que permite, mediante SNV, eliminar la interferencia multiplicativa o dispersión, reduciendo el efecto de tamaño de partícula mediante el ajuste de cada espectro para obtener una desviación estándar de 1,0. En base a Detrend, eliminar la tendencia lineal y cuadrática presente en el espectro de reflectancia (INFRAISOFT INTERNATIONAL, 1992).

2.2.5.2 Muestras aberrantes o extrañas. Según Westerhaus (1989) citado por BEYER (1997), durante el proceso de calibración, uno de los parámetros más importantes es la determinación de límites para detectar y eliminar muestras aberrantes u *outliers*.

Según MURRAY (1988) e INFRAISOFT INTERNATIONAL (1992), existen dos criterios para clasificar una muestra como aberrante: en base a los valores de referencia (información química), valor denominado “T”, o a sus datos espectrales, valor denominado “H”, donde el primero representa la relación entre el valor de predicción y el de referencia para cada muestra, y el segundo relaciona cada espectro con el resto de las muestras que forman el grupo de calibración.

2.2.5.3 Métodos estadísticos para calibraciones NIRS. El método estadístico más utilizado en NIRS es el análisis de regresión (INFRAISOFT INTERNATIONAL, 1992). GIVENS *et al.* (1997), destacan la variada disponibilidad de métodos multivariantes de calibración, sin embargo todos poseen igual forma básica que se muestra en la ecuación 2.4.

$$Y = a + b_1 X_1 + b_2 X_2 + \dots + b_k X_k \quad (2.4)$$

donde: Y es la variable a ser medida; a es el intercepto o constante de regresión de la ecuación; b_1 a b_k son los coeficiente de regresión y X_1 a X_k son los términos de valores espectrales. En referencia a la ecuación, WALPOLE et al. (1999), señalan que cuando este modelo es lineal en los coeficientes, se denomina *modelo de regresión lineal múltiple*. MONTGOMERY y RUNGER (1996), aclaran que se utiliza el término lineal porque la ecuación (2.3) es una función lineal de los parámetros desconocidos; a y b_1 a b_k . Además, mencionan que frecuentemente los modelos de regresión lineal múltiple se emplean como funciones de aproximación. Esto es, se desconoce la verdadera relación funcional entre Y y b_1 a b_k , pero sobre ciertos rangos de las variables independientes el modelo de regresión lineal múltiple constituye una aproximación adecuada.

Las técnicas de regresión lineal más utilizadas para desarrollar calibraciones NIRS son; regresión múltiple, regresión múltiple paso a paso, componentes principales (PCR), cuadrados mínimos parciales (PLS) y el método de regresión de los cuadrados mínimos parciales modificados (MPLS). Los mejores resultados han sido obtenidos con las técnicas PCR, PLS y MPLS, de las cuales se señala a MPLS como el método más estable y exacto que se encuentra disponible (SINNAEVE et al., 1994; ALOMAR y FUCHSLOCHER, 1998; DEAVILLE y FLINN, 2000).

Para la regresión múltiple paso a paso, WALPOLE et al. (1999), indican que esta técnica es un procedimiento estándar para buscar el “subconjunto óptimo” de variables. Se basa en la introducción secuencial de las variables al modelo una por una. Esta considera una modificación del método de selección hacia adelante (step-up), la que consiste en una prueba adicional en cada etapa para asegurar la efectividad continua de las variables insertas en el modelo de la etapa anterior, es decir, según INFRASOFT INTERNATIONAL

(1992), se van agregando longitudes de onda en el modelo a medida que hayan sido previamente seleccionadas por su ajuste a los datos espectrales.

La esencia de los métodos PCR y PLS radica en la asignación de factores provenientes de los datos espectrales. El objetivo es el de reducir la cantidad de información espectral a variables no relacionadas, y así evitar problemas de sobre ajuste de las ecuaciones obtenidas, pero, sin desechar cualquier información útil (OSBORNE *et al.*, 1993). La diferencia entre los métodos antes mencionados, se establece en la información utilizada. PLS utiliza la información química de las muestras pertenecientes al grupo de calibración para realizar la asignación de los factores mientras que para PCR se generan factores omitiendo la información química (INFRAISOFT INTERNATIONAL, 1992).

Según INFRAISOFT INTERNATIONAL (1992), el MPLS es una covariante del método PLS, donde los valores residuales a cada longitud de onda son estandarizados mediante la división por el valor medio residual luego de calculado cada factor.

2.2.5.4 Criterios de selección de ecuaciones. La selección de la mejor ecuación de calibración está dada por la relación entre los coeficientes de determinación (R^2) más altos y los errores estándar de calibración (standard error of calibration, SEC) más bajos (REEVES *et al.*, 1991; ALOMAR y FUCHSLOCHER, 1998).

Según WALPOLE *et al.* (1999), por definición el R^2 sólo indica qué proporción de la variación total en la respuesta Y (valor predicho) se explica con el modelo ajustado, debiendo utilizarse éste como un criterio más para seleccionar la mejor ecuación de regresión. MONTGOMERY y RUNGER (1996), señalan que un valor elevado de R^2 no necesariamente implica que el

modelo de regresión sea satisfactorio. La adición de una variable al modelo siempre aumenta el R^2 , sin importar si la variable es o no estadísticamente significativa. Es así como los modelos que presenten elevados coeficientes pueden proporcionar predicciones pobres de nuevas observaciones o estimaciones de la respuesta promedio.

En consideración a lo expuesto anteriormente, REEVES et al. (1991), MURRAY (1993) y Westerhaus (1989) citado por BEYER (1997), señalan que al momento de seleccionar una ecuación es necesario considerar ambos indicadores, R^2 y SEC, como discriminador de ecuaciones. La formula general para el SEC y R^2 , se presentan en las ecuaciones 2.5 y 2.6, respectivamente.

$$SEC = \sqrt{\frac{\sum (y - x)^2}{(N - tc - 1)}} \quad (2.5)$$

donde: y es el valor de referencia; x es el valor predicho por NIRS; N es el número de muestras en el grupo de calibración y tc es el número de términos en la ecuación de regresión.

El coeficiente de determinación se define mediante la siguiente formula:

$$R^2 = 1 - \frac{SEC^2}{SD^2} \quad (2.6)$$

donde: SD representa la desviación estándar de los valores de referencia (Westerhaus 1989, citado por BEYER, 1997).

2.2.5.5 Validación de ecuaciones. INFRASOFT INTERNATIONAL (1992), sugiere que la ecuación seleccionada debe ser sometida a una validación independiente, en base a muestras distintas a las utilizadas en la determinación de la ecuación predicha, y con las cuales se deben comparar los resultados con métodos de referencia tradicionales, constituyendo así una validación externa.

Realizada la validación externa, es necesario el cálculo de los indicadores que permiten discriminar de una ecuación a otra. ALOMAR y FUCHSLOCHER (1998), señalan que se calcula un R^2 (ecuación 2.6) y un error estándar de predicción (standard error of performance, SEP) el que se determina con los desvíos de los valores predichos respecto de los valores de referencia. La formula del SEP se presenta en la ecuación 2.7.

$$SEP = \sqrt{\frac{\sum (y - x)^2}{(n_v - 1)}} \quad (2.7)$$

donde: y es el valor de referencia; x es el valor predicho por NIRS y n_v el número de muestras en el grupo de calibración.

En el software NIR 3.0 desarrollado por Infrasoftware International, existe un nivel intermedio entre la ecuación resultante y su validación externa, al cual se denomina validación cruzada. Esta última, divide el grupo de muestras de calibración en subgrupos los que son usados secuencialmente como muestras externas, así logrando validar la ecuación desarrollada a partir de los demás grupos (INFRASOFT INTERNATIONAL, 1992).

Algunas de las principales ventajas de una validación cruzada, es el eficiente uso de las muestras al ser utilizadas para calibrar y validar. Además se consigue una adecuada estimación del error de predicción y se evita el sobre

ajuste en las ecuaciones de calibración (WORTEL *et al.*, 1999; SHENK y WESTERHAUS, 1994), ya que permite estimar el número adecuado de términos en las ecuaciones (SHENK y WESTERHAUS, 1991).

Realizada la validación cruzada, los indicadores para determinar las mejores ecuaciones serán: coeficiente de determinación ($1-VR$) y el error estándar de validación cruzada (standard error of cross validation, SECV), donde el último corresponde al desvío de los valores predichos respecto de los valores de referencia (KENNEDY *et al.*, 1995; SHENK y WESTERHAUS, 1994), y que según WALPOLE *et al.* (1999), en estadística pura, los errores de validación cruzada para predicción se utilizan en lugar de los errores de ajuste, los que se conocen como "residuos PRESS".

Según SHENK y WESTERHAUS (1994), el SECV tiene la misma forma que el SEP, y es un excelente indicador de la exactitud de predicción debido a la utilización de varios grupos para el cálculo de su promedio. Para poder seleccionar la mejor ecuación de predicción, KENNEDY *et al.* (1995), proponen una relación que considera adecuado un valor del SECV menor o igual a un tercio de la desviación estándar de los valores de referencia. Otro criterio es utilizado por CLARK *et al.* (1987) y corresponde al Coeficiente de Variación calculado a partir del error estándar de predicción y el promedio de los datos. Este se expresa porcentualmente representando la variación de los valores predichos respecto del promedio de los valores del grupo. BERARDO (1997), aplica el mismo criterio a una validación cruzada en donde considera la relación SECV y promedio de los datos expresados porcentualmente.

2.2.6 Medición de la composición química de praderas mediante NIRS. Actualmente, es posible encontrar diversos estudios que dan a conocer resultados de predicción mediante el uso de NIRS para fracciones químicas de forrajes. Gran parte de estos trabajos estiman la composición de forrajes

conservados. Estos análisis divergen en la preparación de la muestra, ya sean, secas o frescas. Uno de estos estudios ha estimado la composición química de forrajes, previamente sometidos a secado, tales como: *Dactylis glomerata* L. y *Festuca arundinacea* Schreb. Este trabajo destaca que los mejores resultados de calibración se han obtenido utilizando la totalidad del espectro, con el método SNV-D y con diferenciaciones de primer y segundo orden (NAYDENOVA et al., 1998). En el Cuadro 2 se presentan algunos de los resultados obtenidos por varios autores en la predicción de la composición química de praderas considerando varias especies.

ALOMAR y FUCHSLOCHER (1998), señalan que en experimentos realizados en la medición de fracciones químicas de forrajes, no se han logrado predicciones seguras como es para el caso de fracciones fibrosas: Fibra Detergente Neutro (FDN) y Fibra Detergente Acido (FDA). Sin embargo, DE LA ROZA et al. (1998) y NAYDENOVA et al. (1998), mencionan que modelos de calibración NIRS ofrecen una precisión aceptable en la estimación de nutrientes contenidos en la pared celular, así como también de su digestibilidad y valor nutritivo. En la predicción de valores para proteína, Waters y Givens (1992) citados por GIVENS et al. (1997), demostraron que mediante calibraciones NIRS es posible estimar los valores de proteína para forrajes frescos. En la determinación de minerales, INFRASOFT INTERNATIONAL (1992), señala que al trabajar con la fracción de ceniza, se debe considerar que los minerales no absorben en la región NIR, por lo que sólo pueden ser detectados si forman parte de compuestos orgánicos. Además, al trabajar con muestras de forrajes previamente secadas, la concentración mineral de éstas es relativamente baja. Por lo tanto, la absorción debida a la presencia de minerales es difícil de detectar, no debiendo esperarse eficientes ecuaciones de predicción.

CUADRO 2 Predicción de la composición química de praderas mediante NIRS e indicadores estadísticos.

FRACCION QUIMICA	R ² ca	SEC	R ² vc	SECV	R ² p	SEP	REFERENCIA
Proteína Bruta (%)	0,90	1,00	-	-	0,95	0,80	(REDSHAW <i>et al.</i> , 1986).
	0,93	-	-	-	-	0,99	(BARTON y WINDHAM, 1988).
	0,98	0,62	-	-	0,96	0,90	(SHENK <i>et al.</i> , 1981).
Fibra Detergente Neutro (%)	0,88	3,30	-	-	0,90	2,90	(REDSHAW <i>et al.</i> , 1986).
	0,92	5,30	-	-	-	-	(NORRIS <i>et al.</i> , 1976).
	0,92	1,56	0,90	1,68	-	-	(NAYDENOVA <i>et al.</i> , 1998).
Fibra Detergente Acido (%)	0,88	2,00	-	-	0,71	2,20	(REDSHAW <i>et al.</i> , 1986).
	0,90	-	-	-	-	1,56	(BARTON y WINDHAM, 1988).
	0,91	1,66	-	-	0,88	1,99	(SHENK <i>et al.</i> , 1981).
	0,93	1,14	0,91	1,29	-	-	(NAYDENOVA <i>et al.</i> , 1998).
Ceniza Total (%)	0,84	0,80	-	-	0,64	1,20	(REDSHAW <i>et al.</i> , 1986).
	0,97	-	0,92	-	-	-	(BERARDO, 1997).
Carbohidratos Solubles (g kg⁻¹)	0,79	12,40	-	-	0,85	13,70	(BROWN <i>et al.</i> , 1987).
Digestibilidad de la Materia Orgánica (%)	0,87	2,60	0,84	2,85	-	-	(NAYDENOVA <i>et al.</i> , 1998).
Energía Metabolizable (Mj kg⁻¹)	0,96	0,34	0,87	0,59	-	-	(FLORES <i>et al.</i> , 2000).

R²ca y SEC: Coeficiente de determinación y error estándar de calibración; R²vc y SECV: Coeficiente de determinación y error estándar de validación cruzada; R²p y SEP: Coeficiente de determinación y error estándar de predicción.

En el único trabajo publicado para la zona sur de Chile, FLORES *et al.* (2000), estimaron mediante NIRS la calidad de gramíneas forrajeras sometidas a distintos períodos de rezago. El experimento realizado en la Décima Región (Valdivia), demostró una alta eficiencia de NIRS en la predicción de la composición química para las fracciones de proteína, FDN, FDA, energía metabolizable y ceniza total.

3 MATERIAL Y METODO

3.1 **Caracterización general del estudio.**

En términos generales el estudio consistió en dos etapas prácticas llevadas a cabo simultáneamente y una fase final de análisis de la información recopilada. La primera de estas etapas fue la labor realizada en terreno con la finalidad de recolectar las muestras de pradera, las que posteriormente, en la segunda etapa del estudio, fueron llevadas a las dependencias dotadas con la infraestructura y equipos necesarios para el análisis de las mismas.

3.1.1 Duración y ubicación del estudio. La recolección de las muestras de praderas se realizó entre los meses de marzo de 2001 y enero de 2002, con una frecuencia aproximadamente semanal. El área geográfica de donde se obtuvieron las muestras comprende las provincias de Valdivia, Osorno y Llanquihue.

El análisis NIRS y de la composición química de las muestras colectadas se realizó en las dependencias del Laboratorio de Nutrición del Instituto de Producción Animal pertenecientes a la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Austral de Chile el que contó con el material y personal necesario para la realización del estudio.

3.1.2 Obtención de las muestras de pradera. Las muestras de pradera fueron representativas de las distintas zonas agroecológicas de las provincias ya señaladas, provenientes de praderas debidamente identificadas, de las cuales se obtuvieron 98 muestras.

La colección de las muestras se realizó cortando con tijeras para obtener el forraje con una altura mayor a 5 cm sobre el nivel del suelo, con un mínimo de 10 submuestras y un peso aproximado de 1 kilogramo por muestra. Posteriormente fueron introducidas en bolsas de polietileno y trasladadas al Laboratorio de Nutrición, donde fueron procesadas inmediatamente o refrigeradas hasta su procesamiento.

3.2 Tratamiento de las muestras.

Las muestras fueron primeramente picadas con tijeras en segmentos no mayores a 6–7 cm de largo y homogeneizadas manualmente en un recipiente plástico y luego sometidas a secado en una estufa de aire forzado a 60° C por 48 horas. Con posterioridad, fueron molidas en molino Wiley con tamiz de 1 mm e introducidas en un desecador para evitar variaciones en el contenido de humedad de la muestra.

3.3 Recolección de espectros.

Se utilizó un monocromador de barrido *NIRSystems^{MR}*, modelo 6500, manejado por un computador personal con el software NIRS Versión 3.0, desarrollado por Infracsoft International (INFRAISOFT INTERNATIONAL, 1992). Las muestras secas y molidas se introdujeron en celdas circulares metálicas de 35 mm de diámetro y 10 mm de espesor provistas de una ventana de cuarzo. Para introducir la muestra en la celda se utilizó una paleta plástica especialmente diseñada para trabajar con materiales finamente molidos. Luego las celdas fueron insertadas en un módulo de rotación, que permite lecturas mientras la muestra gira.

Todos los espectros se colectaron por reflectancia entre los 400 y 2500 nm de longitud de onda y fueron almacenados en un archivo computacional.

Especial cuidado se dio a la limpieza de las celdas antes de ser utilizadas en la colección de los espectros. Partículas o impurezas en la ventana de cuarzo pueden alterar significativamente el análisis, por lo cual se utilizaron cepillos especiales y papel absorbente humedecido que permiten la limpieza sin dañar la ventana. Se procuró en todo caso, que la ventana estuviera seca al momento de la lectura. De igual manera se administró el respaldo de los archivos obtenidos en una unidad de diskette.

3.4 Medición de composición química de referencia.

En el Laboratorio de Nutrición del Instituto de Producción Animal, las muestras parcialmente secas y molidas a las cuales se les realizó la lectura de espectros, se analizaron químicamente para determinar las siguientes fracciones con las técnicas que se indican:

- Proteína Bruta, Micro Kjeldahl, $N \times 6.25$ (BATEMAN, 1970).
- Proteína Soluble en buffer (LICITRA *et al.*, 1995).
- Fibra Detergente Neutro, digestión en detergente neutro (VAN SOEST *et al.*, 1991).
- Nitrógeno Insoluble en Detergente Neutro, Micro Kjeldahl (LICITRA *et al.*, 1995).
- Fibra Detergente Acido, digestión en detergente ácido (AOAC, 1996).
- Ceniza Total, calcinación en mufla (BATEMAN, 1970).
- Extracto Etéreo (BATEMAN, 1970).

- Carbohidratos Solubles (AGRICULTURAL DEVELOPMENT AND ADVISORY SERVICE, 1985).
- Materia Orgánica Digestible (Valor *D*), Digestibilidad *in vitro* con licor ruminal (GOERING y VAN SOEST, 1972).
- Energía Metabolizable, regresión a partir del Valor *D* (GARRIDO y MANN, 1981).

Del total de 98 muestras que fueron analizadas para determinar la composición química hubo fracciones que no pudieron ser medidas en todas las muestras, por contar con insuficiente cantidad de material. En particular para la fracción de extracto etéreo y carbohidratos solubles se concretaron 94 y 91 muestras analizadas, respectivamente.

3.5 Desarrollo de calibraciones.

Los espectros e información recolectada con el equipo fueron almacenados en forma de Log 1/R. Para el desarrollo de las calibraciones se trabajó con el software *WinISI II* de Infracsoft International (INFRAISOFT INTERNATIONAL, 1992).

Posteriormente, para destacar ciertas características de los espectros y contribuir a la reducción del efecto por distintos tamaños de partículas, se realizó tratamientos de derivación (diferenciación). En el Cuadro 2, se ordenan los tratamientos matemáticos de corrección de datos utilizados para la calibración, en donde el primer término indica el orden de derivación o diferenciación (sin, primera y segunda derivación), el segundo la amplitud o distancia entre los segmentos a sustraer, el tercero la longitud del segmento a ser suavizado y el cuarto dígito el número de veces que se promedia cada segmento, lo que correspondería al número de “suavizaciones” a efectuar

(INFRAISOFT INTERNATIONAL, 1992). En particular para este último dígito, todos los tratamientos fueron aplicados con una suavización.

Para realizar una adecuada corrección por tamaño de partículas, los datos se analizaron con y sin la aplicación de la combinación de los métodos de “SNV y Detrend”, descritos en la literatura y disponibles en el software NIRS.

CUADRO 3 Tratamientos matemáticos de corrección de datos espectrales aplicados a las distintas fracciones químicas de praderas.

Sin derivación	1° derivada	2° derivada
0:0:5:1	1:5:5:1	2:5:5:1
0:0:8:1	1:8:8:1	2:8:8:1
0:0:12:1	1:12:12:1	2:12:12:1

Como método de regresión se aplicó el de los Mínimos Cuadrados Parciales Modificados (MPLS), evaluando el grado en que las muestras se ajustan a las ecuaciones mediante el coeficiente de determinación (R^2) y el error estándar de calibración (SEC).

La validación y selección de ecuaciones se realizó mediante una validación cruzada. Para ésta se establecieron 5 grupos de validación, es decir, que cada calibración se generó a partir de 4 grupos de muestras con las que se predijo el grupo restante y así sucesivamente hasta que todas las muestras fueron predichas a partir del resto (INFRAISOFT INTERNATIONAL, 1992). Además, se consideró un máximo de 12 términos para cada ecuación resultante y dos pases de eliminación de muestras aberrantes.

Durante el proceso de validación y calibración, se detectaron las muestras aberrantes o fuera de rango en base al valor T (para determinar discrepancias con los datos de laboratorio) y al valor H (o distancia de Mahalanobis), para detectar espectros de muestras que se alejen del promedio

del grupo. Los valores críticos dados para las muestras fuera de rango fueron establecidos en base a recomendaciones de INFRASOFT INTERNATIONAL (1992), siendo 2.5 y 10.0 para outliers T y H , respectivamente.

Los criterios utilizados para cada fracción en la selección de las ecuaciones generadas fueron, el coeficiente de determinación (1-VR) y el error estándar de validación cruzada (SECV). Se consideró además, como principal criterio discriminador entre ecuaciones, la relación recomendada por KENNEDY *et al.* (1995) quienes aconsejan que el SECV no sea superior a un tercio de la desviación estándar (SD) de los valores de referencia. Valores de la SD superiores a 3.0 veces el SECV son indicativos de ecuaciones con un adecuado carácter predictivo. A igualdad del criterio anterior, se discrimina por el valor de 1-VR y luego por el SECV.

4 PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS

En el presente capítulo, se presenta una caracterización química y espectral de las muestras así como los resultados de las calibraciones desarrolladas.

4.1 Caracterización de las muestras.

En el Cuadro 4 se presenta un resumen de las fracciones químicas determinadas para el set de muestras considerando su rango de valores, promedio y desviación estándar.

CUADRO 4 Rango de valores, promedio y desviación estándar de las fracciones químicas analizadas (Base Materia Seca).

FRACCION QUIMICA	RANGO	PROMEDIO	SD
Proteína Bruta (%) (PB)	8,12-37,32	20,45	6,69
Proteína Soluble (%) (PS)	2,09-20,98	9,22	4,13
Fibra Detergente Neutro (%) (FDN)	25,74-65,66	45,05	7,34
Nitrógeno Insoluble en Detergente Neutro (%) (FDNIN)	0,21-2,06	0,76	0,35
Fibra Detergente Acido (%) (FDA)	16,27-37,58	26,33	4,49
Ceniza Total (%) (CT)	7,09-17,11	10,06	1,77
Extracto Etéreo (%) (EE)	1,52-5,03	2,88	0,73
Carbohidratos Solubles (g kg ⁻¹) (CHOS)	18,49-108,1	50,46	21,53
Materia Orgánica Digestible, Valor <i>D</i> (%) (MOD)	56.34-83.11	72.24	5.88
Energía Metabolizable (Mj kg ⁻¹) (EM)	8.83-12.47	10.99	0.80

Para las fracciones químicas analizadas se observó un amplio rango de valores en las muestras. Esto se explica por los distintos tipos de pradera y épocas de recolección, permitiendo así incorporar praderas divergentes en su composición química producto de distintas especies y variaciones en el valor

nutricional de las mismas a través del año. Con relación al promedio, éste es indicativo de praderas de alta calidad, correspondiente en la mayoría de los casos a praderas de pastoreo pertenecientes a sistemas lecheros de alta producción.

4.2 Espectros recolectados mediante la técnica NIRS.

En el transcurso del período de colección de muestras, y al revisar los espectros recolectados de las mismas, es posible observar en la Figura 1 la agrupación de éstas en tres sectores distintos del eje Y ($\log 1/R$). Estos grupos se extienden, el primero de ellos desde el $\log (1/R)$ de 0,617 hasta 0,760 $\log (1/R)$. El segundo grupo se ubica en la coordenada Y desde el $\log (1/R)$ de 1,351 hasta el $\log (1/R)$ de 1,585 y por último, el tercer grupo desde el $\log (1/R)$ de 2,542 hasta el $\log (1/R)$ de 2,650, en la parte superior de la gráfica.

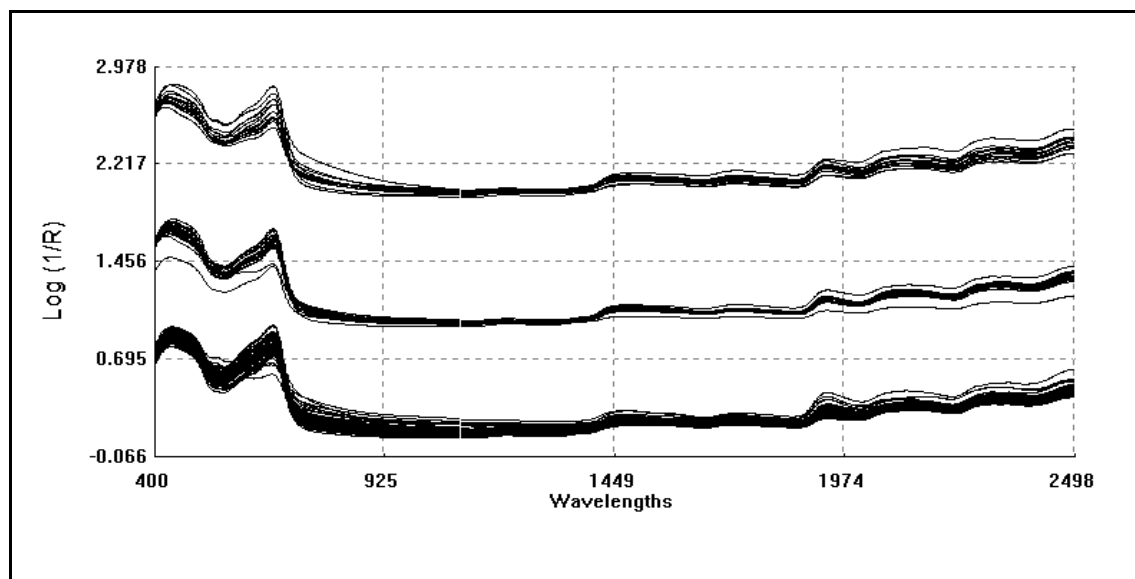


FIGURA 1 Agrupación de espectros recolectados de 98 muestras de pradera de la Décima Región de Los Lagos.

La formación de estos grupos se explica en la recolección de espectros a lo largo del período de realización del estudio, en donde acontecieron hechos tales como; el cambio de lámpara del equipo, lo que explicó las diferencias entre el primer y segundo grupo. Debido a lo anterior, las muestras tomadas después del cambio de lámpara formaron parte del segundo grupo de muestras. El tercer grupo se formó a fines del año 2001 cuando ocurrió la necesidad de un ajuste de rutina del equipo.

Ante una situación irregular en una agrupación de espectros, vista en la Figura 1, es de considerar lo expuesto por REEVES (2000), quien señala la necesidad de examinar los espectros y determinar si aparentemente existe alguna irregularidad en su distribución gráfica. No obstante, es de fácil apreciación que a pesar de existir un despliegue de los grupos antes mencionados, éstos no difieren en las bandas de absorción para la totalidad de los espectros (tienden a ser paralelos). Es decir, que para una determinada longitud de onda los tres grupos presentan similares curvaturas. Estos picos de absorción o curvaturas presentes en el espectro, son representativos de las bandas de absorción producidas específicamente por la presencia de distintos grupos químicos que caracterizan la composición de una muestra de pradera.

Dentro de la literatura especializada en la técnica NIRS, es posible encontrar numerosos trabajos que exponen en extenso las variaciones ocurridas en una agrupación espectral de información, ante el sometimiento de un determinado tratamiento matemático de corrección de datos aplicable a la totalidad del espectro, o bien ante aquellos que buscan destacar ciertas características de éste para un segmento dado de longitudes de onda.

Dentro de la literatura consultada, ALOMAR y FUCHSLOCHER (1998), como ejemplo proponen un tratamiento; 1:10:5:1, y sus resultados se observan en la Figura 2. La agrupación de espectros vista en la figura anterior

ha sido removida y ordenada centrando la totalidad de los espectros alrededor de la Línea Base (línea cero) de la gráfica. Esto permite optimizar la extracción de la información analíticamente útil. Con el tratamiento se han destacado las bandas de absorción de los constituyentes de las muestras y se aprecian en los picos más altos de los espectros, es decir, ha ocurrido un acercamiento o “limpieza” de los datos espectrales. La primera derivada realizada en este caso cambia los picos de absorción a menores longitudes de onda, cambios que a su vez son dependientes de la mayor o menor intensidad de los picos máximos de absorción.

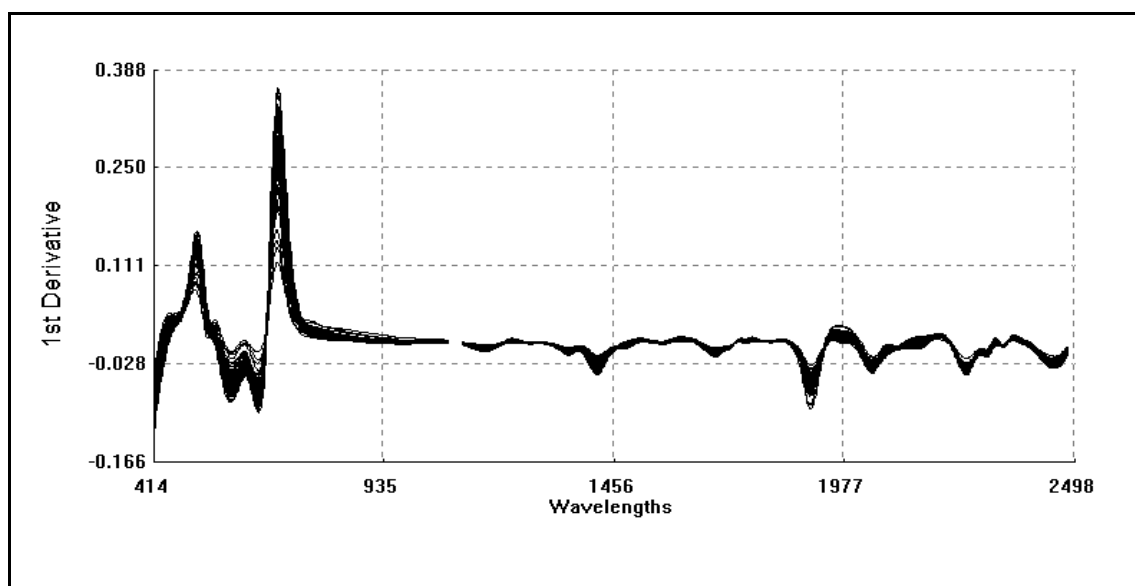


FIGURA 2 Agrupación de espectros de muestras de pradera sometidos a una primera diferenciación (1:10:5:1).

4.3 Calibraciones obtenidas para la medición de la composición química de praderas.

Luego de aplicados los diferentes tratamientos de diferenciación, corrección matemática y el posterior análisis estadístico de regresión (MPLS), se dan a conocer en los siguientes puntos las tres mejores ecuaciones de

calibración, para cada fracción química analizada, que presentaron los mejores índices de predicción de la composición química de praderas. Además, se expone gráficamente la mejor ecuación obtenida para cada fracción considerando los valores predichos por NIRS contra los obtenidos en laboratorio. La discusión en los siguientes puntos se centrará en los tratamientos matemáticos e indicadores estadísticos generados para la mejor ecuación. La totalidad de los tratamientos aplicados (18) y sus resultados se presentan en los Anexos 1 al 10.

4.3.1 Proteína Bruta. Los resultados obtenidos para la fracción de PB se presentan en el Cuadro 5, indicando tratamiento matemático (TM) utilizado para generar cada ecuación, número de muestras (N°M) en el set de calibración, número de términos de la ecuación (Ntec), coeficientes de determinación de la calibración (R^2) y validación cruzada (1-VR), sus respectivos errores estándares SEC y SECV, relación SD-SECV y Coeficiente de Variación (CV).

Anteriormente se mencionó que el principal criterio discriminador de una ecuación e indicador de su eficiencia predictiva corresponde a la relación SD-SECV. En el Cuadro 5 se aprecia que esta relación supera ampliamente el criterio propuesto por KENNEDY *et al.* (1995), quienes señalan que una ecuación de calibración apropiada será aquella donde el SECV sea inferior o igual a un tercio de la desviación estándar, es decir, valores superiores a 3,0 (SD/SECV). En las ecuaciones seleccionadas para Proteína Bruta esta relación superó las 8,0 unidades, alcanzando para la mejor un valor SD-SECV de 8,65.

CUADRO 5 Ecuaciones de calibración e indicadores estadísticos de su eficiencia predictiva para Proteína Bruta.

TM	N°M	Ntec	R^2	SEC	1-VR	SECV	SD/SECV	CV
1:12:12:1 SNV-D	94	11	0,994	0,532	0,987	0,785	8,651	3,835
0:0:5:1 SNV-D	95	12	0,991	0,639	0,986	0,805	8,410	3,941
0:0:8:1 SNV-D	95	12	0,991	0,647	0,986	0,811	8,348	3,971

BERARDO (1997), ha demostrado la aplicabilidad del coeficiente de variación (CV) en validaciones cruzadas (originalmente aplicado en validaciones externas). Aunque no menciona qué variación porcentual del promedio puede estar representada por el SECV en una calibración aceptable se ha estimado en esta investigación proponer que valores inferiores a un 5,0 % reflejan un bajo error en el ajuste de los datos. Sobre este último criterio los valores del CV estimados para PB corroboran los valores de la relación SD-SECV, siendo el menor error de un 3,84 %.

El tratamiento que arrojó los índices predictivos más eficientes (y el que representa la ecuación) fue el de una primera derivada; 1:12:12:1 con la corrección combinada de SNV-D, para el cual todos los índices son coincidentes en ser superiores al de otras ecuaciones. Respecto a los coeficientes de determinación, el de calibración es superior al de validación, lo que normalmente es de esperar. El primero con un 99,4 % y el segundo levemente inferior, 98,7 %, declaran un elevado grado de ajuste de los datos predichos respecto a los reales y una buena predicción de las ecuaciones desarrolladas, respectivamente.

Al comparar los R^2 de calibración con los reportados por SHENK et al. (1981) y REDSHAW et al. (1986), los obtenidos en este estudio son superiores. De igual manera aconteció con los valores del R^2 de predicción y, aunque estos últimos hayan sido estimados para validación externa por los autores antes señalados, es posible utilizarlos con fines comparativos. Los errores de calibración y predicción entregados por SHENK et al. (1981) son de 0,62 y 0,90, respectivamente, y algo superiores a los presentados en el Cuadro 5.

En la Figura 3 se ratifica lo antes descrito. La distribución de los valores fue compatible con los coeficientes de determinación, indicando un

excelente ajuste de los datos predichos por NIRS con relación a los obtenidos en laboratorio, además de encontrarse una distribución bastante homogénea a lo largo de la línea de igual respuesta.

Cabe señalar la notoria agrupación de los datos en la gráfica dentro de un rango aproximado de 10 a 30 % de PB en las muestras de pradera. No obstante, algunas se encuentran por sobre o bajo el rango mencionado producto que en el set de muestras se incorporaron praderas de alfalfa (*Medicago sativa*) y de praderas naturales de baja calidad.

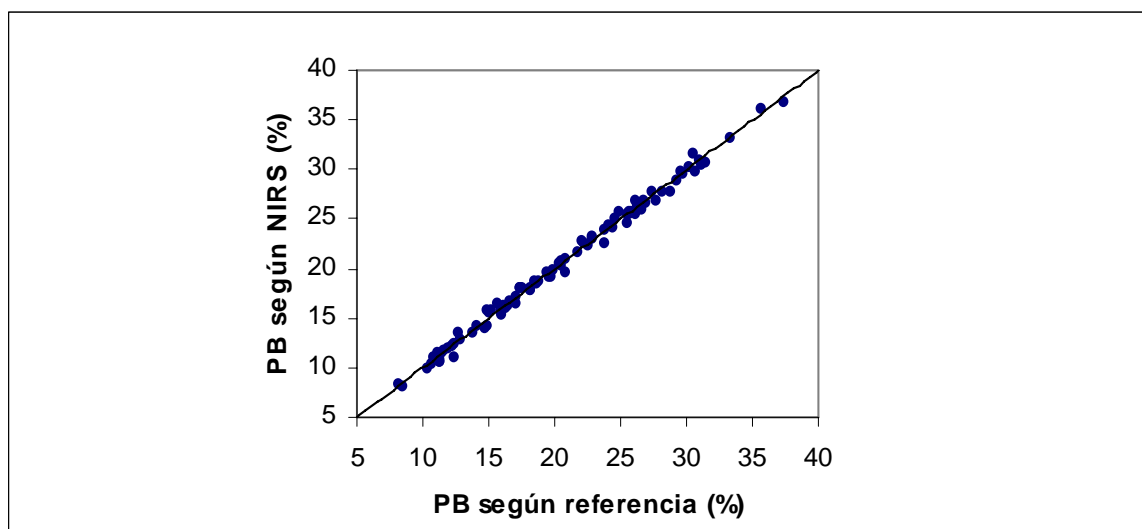


FIGURA 3 Relación entre Proteína Bruta (%) y su predicción por NIRS.

La ecuación seleccionada para PB cuenta de 11 términos. INFRAISOFT INTERNATIONAL (1992), destaca que pocos términos en una ecuación resultan en una baja precisión mientras que demasiados en un sobre ajuste. Sin embargo, como se mencionara en la revisión literaria por SHENK y WESTERHAUS (1991), una de las ventajas de la validación cruzada es el evitar el sobre ajuste de datos mediante la elección adecuada del número de términos en la ecuación.

4.3.2 Proteína Soluble. Los resultados obtenidos de la calibración para Proteína Soluble se presentan en el Cuadro 6. El TM aplicado sobre los datos espectrales que presenta los índices más apropiados de predicción es 2:8:8:1 con SNV-D. En el mismo cuadro se aprecia que todas las ecuaciones mostradas necesitaron de SNV-D y derivadas de segundo orden. Esto implica que la resolución de las bandas de absorción para determinar PS requiere de una mayor descomposición de las combinaciones de picos que forman el espectro.

CUADRO 6 Ecuaciones de calibración e indicadores estadísticos de su eficiencia predictiva para Proteína Soluble.

TM	N°M	Ntec	R ²	SEC	1-VR	SECV	SD/SECV	CV	
2:8:8:1	SNV-D	94	10	0,980	0,588	0,945	0,981	4,275	10,550
2:5:5:1	SNV-D	94	8	0,980	0,593	0,941	1,014	4,136	10,904
2:12:12:1	SNV-D	94	10	0,976	0,643	0,941	1,019	4,116	10,958

Los coeficientes de correlación y errores estándares son apropiados para la predicción de PS en muestras futuras. Sin embargo, se observa una diferencia entre los R² de calibración y validación; de 98 % disminuye a 94,5 %, respectivamente, indicando un buen ajuste de los datos, pero inferior calidad en la predicción. De igual tendencia se presentan los errores estándares.

El CV (que considera el error estándar de validación cruzada) se escapa de los valores porcentuales adecuados, siendo un 10,55 %. Al considerar sólo el CV como indicador de eficiencia predictiva y que los valores inferiores a un 5,0 % son representativos de un bajo error de la ecuación en la predicción, se observó que la totalidad de los tratamientos matemáticos que se muestran en el Cuadro 6 presentan valores entre 10,55 y 10,96 %, con lo que se indica que son tratamientos que no generan ecuaciones de calibración confiables en la predicción de PS. Esto se fundamenta en los factores que definen el CV, revelando que el SECV se desvía impropiamente del promedio

de los valores referenciales obtenidos en laboratorio, superando así una barrera de confiabilidad establecida.

A pesar de lo expuesto en el párrafo anterior, y sin desacreditar el Coeficiente de Variación, éste no es criterio suficiente para discriminar la factibilidad o potencialidad de futuras predicciones de la Proteína Soluble en muestras de pradera, puesto que, se considera la relación SD-SECV como elemento concluyente de la calidad predictiva de las ecuaciones, y en el caso de PS la relación se encuentra entre 4,28 y 4,12 para las ecuaciones vistas en el cuadro anterior.

Los índices estadísticos y los criterios (SD-SECV y CV) que se desprenden de ellos mismos, se integran con la información proyectada en la Figura 4, donde los datos espectrales y de referencia se distribuyen con aceptable exactitud, pero mostrando menor ajuste de los valores predichos en comparación a la Proteína Bruta.

Nuevamente y tal como para PB, se encuentran valores llamativamente por sobre el promedio grupal, sin embargo, para los niveles inferiores de PS no hay presencia de muestras que se alejan demasiado por debajo del promedio.

4.3.3 Fibra Detergente Neutro. La predicción de FDN mediante NIRS se encuentra ampliamente documentada en la literatura. No por esto los resultados obtenidos han sido satisfactorios, aunque en general superan R^2 de un 90 % tanto en calibración como validación.

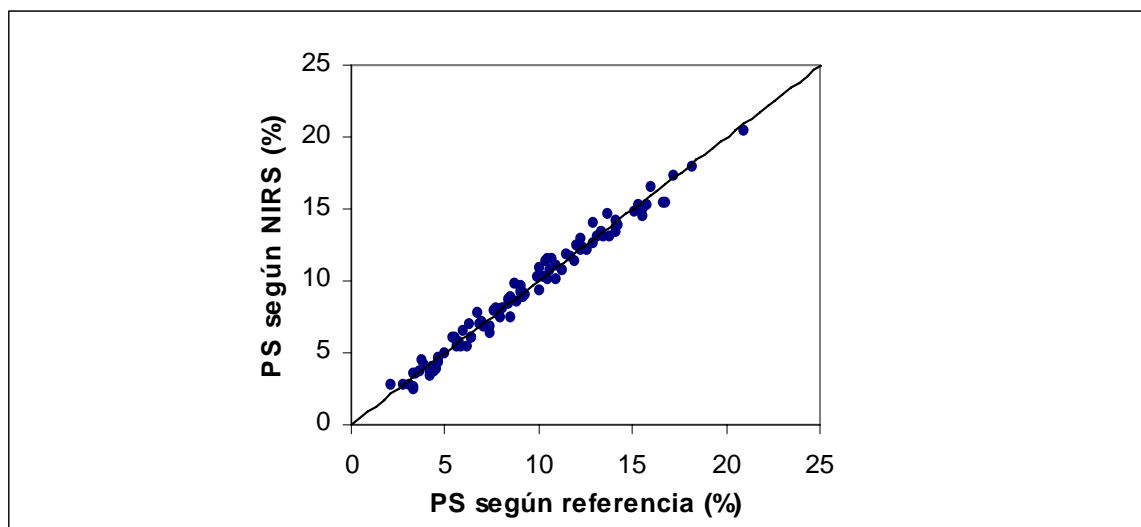


FIGURA 4 Relación entre Proteína Soluble (%) y su predicción por NIRS.

NORRIS *et al.*, (1976), presentan el primer trabajo en predicción de FDN, reportando un R^2 de 92 %, pero un amplio SEC de 5,3. Trabajos posteriores han entregado mejores resultados producto de la incorporación de nuevas tecnologías NIRS, no obstante los métodos analíticos de referencia se mantienen inalterables. NAYDENOVA *et al.* (1998), utilizaron 327 muestras para determinar FDN en especies forrajeras, alcanzando un 1-VR de 90 % y SECV de 1,68. Asimismo entregan una relación SD-SECV de 3,2 para la mejor ecuación encontrada. En el Cuadro 7 se muestran los resultados obtenidos para FDN en el presente trabajo.

Si bien es cierto que los índices aquí expuestos revelan mejores resultados en la predicción; 1-VR de 96,5 %, SECV de 1,37 y relación SD-SECV de 5,31 para la mejor ecuación obtenida, se debe reconocer las diferencias en el número de muestras utilizadas la cual tiente a un breve análisis. De esta observación se puede deducir que las ecuaciones presentadas por NAYDENOVA *et al.* (1998) son de una mayor exactitud que las expuestas en el actual trabajo por el hecho de incluir un set de muestras más amplio. Sin

embargo, en contraposición y defensa de la presente investigación, MURRAY (1988), indica que el adecuado número de muestras depende de la complejidad de la población y de la fracción química en cuestión, por lo tanto, en el análisis de iguales materias los resultados son comparables.

CUADRO 7 Ecuaciones de calibración e indicadores estadísticos y su eficiencia predictiva para Fibra Detergente Neutro.

TM	N°M	Ntec	R ²	SEC	1-VR	SECV	SD/SECV	CV	
2:8:8:1	NONE	93	12	0,989	0,753	0,965	1,366	5,305	3,021
2:5:5:1	NONE	94	9	0,984	0,910	0,960	1,458	4,953	3,240
2:12:12:1	NONE	94	11	0,982	0,971	0,958	1,496	4,869	3,316

El coeficiente de variación confirma los excelentes índices alcanzados en las ecuaciones para FDN, siendo del orden de un 3 %. Por su parte los números de términos en las ecuaciones varían entre 9 y 12. La mejor ecuación se dio con el tratamiento 2:8:8:1 e incorpora 12 términos. Al observar en el Cuadro 7 los demás tratamientos, el de 2:5:5:1 y 2:12:12:1 consideran 9 y 11 términos, respectivamente, donde se observa que los segmentos diferenciados o derivatizados varían junto a los términos en la ecuación.

Para esta fracción los mejores resultados se han obtenido con derivadas de segundo orden y sin considerar corrección por tamaño de partículas. El no aplicar el tratamiento de SNV-D implica que los datos espectrales necesarios para rescatar la información analíticamente útil precinden de correcciones debidas a interferencias multiplicativas o de dispersión, es decir, la información entregada por el espectro es posible de interpretar con mayor facilidad debido a una alta actividad de los grupos funcionales involucrados con el contenido de la pared celular.

En la Figura 5 se exponen gráficamente los valores actuales y predichos para el tratamiento 2:8:8:1. El excelente ajuste alcanzado por los

valores predichos mediante NIRS respecto a los obtenidos en laboratorio, se integra plenamente con los índices de eficiencia predictiva expuestos en el Cuadro 7, demostrando en que son de promisoría predicción para FDN.

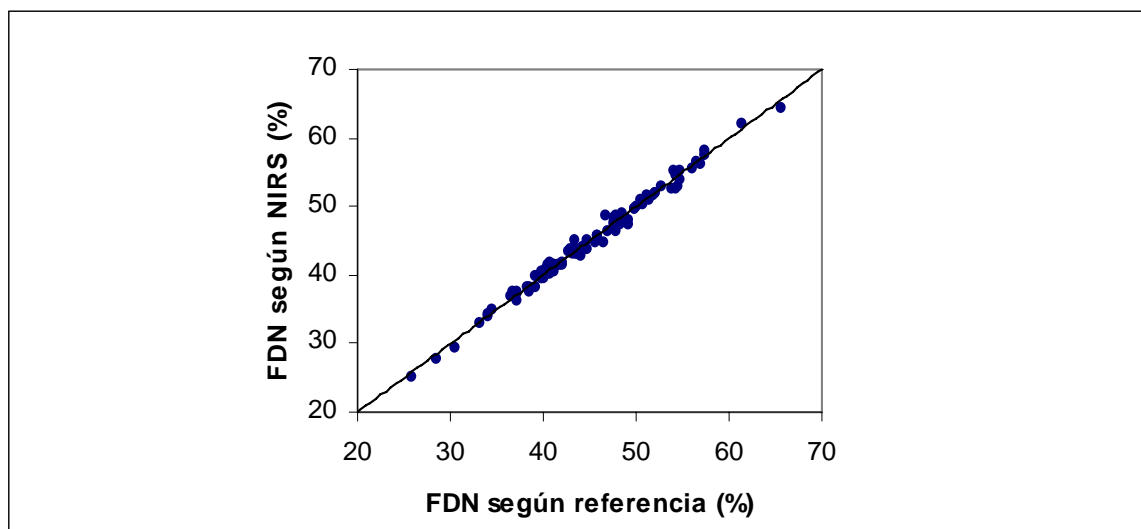


FIGURA 5 Relación entre Fibra Detergente Neutro (%) y su predicción por NIRS.

En la gráfica para FDN, se observó unos pocos valores extremos, menores a 35% y mayores a 60% de FDN. La presencia de estas muestras se debe a las épocas en que se recolectaron y en parte a las especies que conformaron los distintos tipos de pradera. Muestras avanzadas en su estado de madurez, se expresan en mayores contenidos de fibra (pared celular) en la pradera. Por el contrario, muestras en pleno estado vegetativo, en parte del invierno y primavera, se expresan en bajos contenidos de pared celular.

4.3.4 Nitrógeno Insoluble en Detergente Neutro. En la determinación del FDNIN y en comparación a los resultados vistos anteriormente, se observó que la mejor ecuación se alcanzó sin correcciones por tamaño de partículas y sin tratamiento de diferenciación en los datos espectrales. Asimismo, el número de muestras que es incorporado automáticamente en el set de calibración por el

software utilizado varió entre 91 y 93. Por último el número de términos asociado a la ecuación varió entre 6 y 7. En el Cuadro 8 se presentan los resultados obtenidos para la fracción de Nitrógeno Insoluble.

De igual manera como se mencionara para FDN, la información ha sido posible de extraer sin corrección por tamaño de partículas. En particular para esta fracción, se encontró que las mejores ecuaciones se obtienen indistintamente con dos tratamientos matemáticos que informan iguales índices predictivos, siendo éstos: 0:0:5:1 y 0:0:8:1, ambos sin corrección matemática mediante SNV-D, los que consideran 91 muestras en el set de calibración y una ecuación de 7 términos. Los R^2 de calibración y validación son de 93,6 y 92 % con errores estándares de 0,078 y 0,087 %, respectivamente.

Si bien es cierto que los índices estadísticos revelan una menor correlación y mayores errores que los discutidos previamente en este trabajo, la relación SD-SECV es de 3,53, señalando que las ecuaciones generadas presentan un adecuado nivel de precisión. Sin embargo, el CV se contrapone a esta afirmación superando largamente el punto crítico de un 5,0 %, pero en atención de los criterios estadísticos de evaluación ya descritos para FDNIN, el CV no es elemento suficiente para rechazar la aplicación de NIRS en predicciones de esta fracción, sino que un factor más de consideración de las potencialidades y eficiencias predictivas de NIRS.

CUADRO 8 Ecuaciones de calibración e indicadores estadísticos y su eficiencia predictiva para Nitrógeno Insoluble en Detergente Neutro.

	TM	N°M	Ntec	R^2	SEC	1-VR	SECV	SD/SECV	CV	
	0:0:5:1	NONE	91	7	0,936	0,078	0,920	0,087	3,529	11,805
	0:0:8:1	NONE	91	7	0,936	0,078	0,920	0,087	3,529	11,805
	2:5:5:1	NONE	93	6	0,961	0,061	0,919	0,089	3,494	11,978

El no haber seleccionado ecuaciones tratadas con diferenciaciones de primer o segundo orden como la mejor de éstas, no excluye el hecho que se realicen cambios en los datos espectrales. El tratamiento 0:0:5:1 consigue seleccionar segmentos de 5 puntos de datos (correspondiente a 10 nanómetros) los que son promediados una vez y donde se utiliza la totalidad del espectro.

Lo anterior es posible de aclarar recordando lo expuesto anteriormente en referencia a la irregularidad observada en los espectros del presente estudio (capítulo 4.1). En el caso particular de las ecuaciones de FDNIN obtenidas con el tratamiento 0:0:5:1, las tres agrupaciones de espectros se mantienen nítidamente delimitadas, pero ha ocurrido una reubicación de éstos sobre la Línea Base del gráfico, es decir, un acercamiento o reducción matemática de datos espectrales.

A pesar de lo anterior, la tercera ecuación seleccionada en el Cuadro 8 consideró diferenciaciones de segundo orden. Sin embargo, para esta ecuación se incluyó 93 muestras en vez de 91 y 6 términos en la ecuación, en donde producto de la incorporación de dos muestras se requiere un término menos pero, en desmedro del 1-VR y SECV que disminuye y aumenta, respectivamente. Por su parte el R^2 de calibración aumenta y el SEC disminuye, demostrando así un mayor grado de ajuste de la ecuación modelo de calibración pero una disminución en su predicción. Lo anterior demuestra la relevancia de fijar como criterio determinante en la selección de ecuaciones la relación SD-SECV y el valor de 1-VR y SECV.

En la Figura 9 se despliegan gráficamente los valores de FDNIN según laboratorio y NIRS para la mejor ecuación encontrada. En la figura se evidencia una distribución medianamente aceptable de los datos debido a la variación en la respuesta del valor predicho y que se explica e integra con los

índices estadísticos dados a conocer. Por otra parte, y en contraste con fracciones previamente discutidas, se observa una distribución más homogénea en los rangos de valores para FDNIN, es decir no se presentan valores que resalten significativamente por su lejanía al grupo total de muestras.

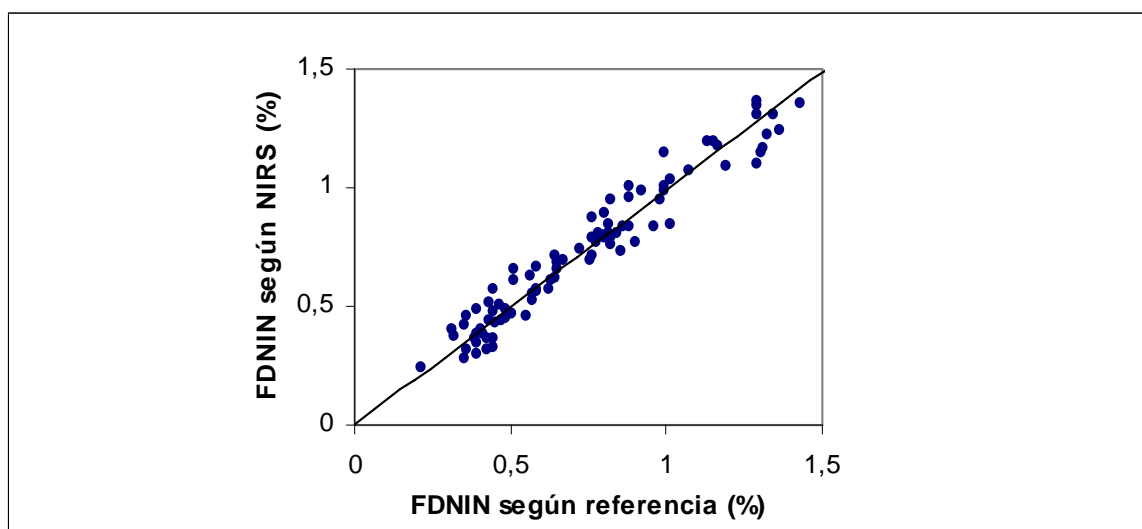


FIGURA 6 Relación entre Nitrógeno Insoluble en Detergente Neutro (%) y su predicción por NIRS.

4.3.5 Fibra Detergente Acido. Los resultados obtenidos para FDA se muestran en el Cuadro 9 y la mejor de las ecuaciones es desplegada en la Figura 7. Para esta fracción se ha superado las expectativas de predicción al ser comparadas con los estudios realizados por BARTON y WINDHAM (1988) y NAYDENOVA *et al.* (1998), quienes reportaron R^2 de calibración de 90 y 93 %, respectivamente. El último de estos autores logra valores para 1-VR de 0,91 y errores de validación cruzada de 1,29. Los índices logrados en el presente trabajo; 0,93 para 1-VR y SECV de 1,198, avalan lo antes mencionado.

La mejor ecuación se obtuvo con el tratamiento matemático de 2:5:5:1 con SNV-D para la cual se incluyeron 8 términos en la ecuación y un set de 95 muestras. Los criterios calculados SD-SECV y CV se muestran dentro de

los rangos aceptables, alcanzando para el primero de éstos 3,79 y 4,54 para el segundo.

CUADRO 9 Ecuaciones de calibración e indicadores estadísticos y su eficiencia predictiva para Fibra Detergente Acido.

	TM	N°M	Ntec	R ²	SEC	1-VR	SECV	SD/SECV	CV	
	2:5:5:1	SNV-D	95	8	0,972	0,763	0,932	1,198	3,794	4,540
	2:8:8:1	SNV-D	96	8	0,963	0,873	0,921	1,286	3,527	4,881
	2:8:8:1	NONE	96	7	0,954	0,972	0,920	1,292	3,511	4,904

En la gráfica para FDA, se observó que el grado de ajuste de los valore predichos por NIRS respecto a los obtenidos en laboratorio, es bastante aceptable, aunque en comparación a FDN el ajuste es menor.

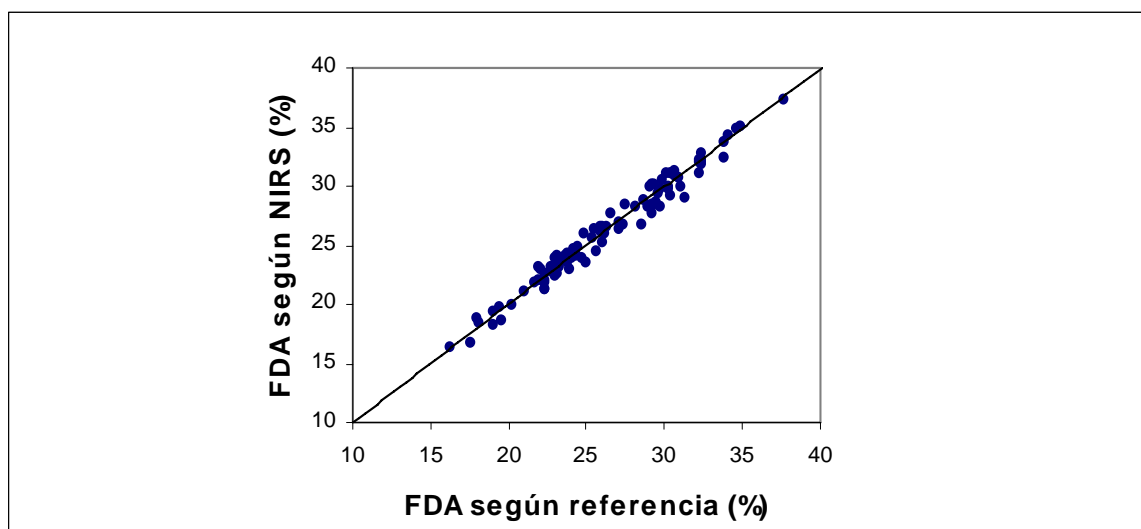


FIGURA 7 Relación entre Fibra Detergente Acido (%) y su predicción por NIRS.

De igual manera que para FDN, se observó en la gráfica de FDA que unos pocos valores escapan al grupo promedio, lo que se explica por diferencias en el estado de madurez de las praderas recolectadas y analizadas. Por lo mismo, fue de esperar que para las demás fracciones en estudio, se

presentaron valores que escapan del promedio grupal, debido a la interacción existente entre las fracciones químicas. Un aumento en los contenidos de fibra, conlleva a una disminución de la proteína, energía y digestibilidad del forraje, así como también un aumento en la fracción mineral.

En relación con el tratamiento que logró la mejor ecuación, cabe señalar que NAYDENOVA *et al.* (1998), aplicaron igual tratamiento a los datos espectrales, derivadas de segundo orden con segmentos e intervalos entre éstos de 5 puntos de datos (10 nm) y corrección combinada mediante SNV-D. Este antecedente amerita cuestionar la razón de la diferencia entre los índices reportados; por estos autores y los del presente ensayo. El promedio de las muestras analizadas en el presente estudio para FDA fue de 26,33 % y para el estudio sobre el cual se compara de 33,24 %. La diferencia entre los promedios evidencia que a pesar de estar frente a especies forrajeras, éstas difieren en su composición química y en especial para sus fracciones fibrosas. Sin embargo, las diferencias se establecen en el criterio de selección del límite para muestras aberrantes, en el presente caso aberrantes “H”. En este estudio se consideró como límite 10,0 para aberrantes “H” mientras que Naydenova y colaboradores fueron más estrictos en su selección dando un valor máximo de 3,6. Lo anterior implica que con un valor de 10,0 es posible considerar una mayor amplitud en el rango de valores para FDA, es decir, incorporar al modelo de calibración, espectros de muestras que se habrían eliminado como aberrantes al usar un valor “H” más “exigente”.

4.3.6 Ceniza Total. La dificultad de predecir mediante NIRS las fracciones inorgánicas y en este caso la ceniza total de una muestra es un hecho conocido y ampliamente documentado. La absorción de energía NIRS por parte de los compuestos inorgánicos sólo se evidencia si éstos se encuentran ligados a compuestos orgánicos. REDSHAW *et al.* (1986), realizaron calibraciones que posteriormente validaron con muestras externas. Los resultados obtenidos por

estos autores confirman lo antes expuesto, alcanzando un discreto R^2 en la calibración de 84 % con un excedido SEC de 0,8 %. En la validación externa de estas ecuaciones realizadas por estos autores se confirmó la limitada aplicabilidad de NIRS en determinaciones minerales, alcanzando un pobre R^2 de 64 % y nuevamente con error estándar (de predicción) elevado, de 1,20.

En el Cuadro 10 se caracterizan las mejores ecuaciones obtenidas en el presente trabajo para CT, y que además presentan mejores índices estadísticos de predicción que el estudio antes mencionado. No obstante, los criterios de evaluación no son satisfactorios ni suficientes para catalogar las ecuaciones como adecuadas. Las relaciones SD-SECV y CV se muestran bajo 3,0 y sobre un 5,0 %, en forma respectiva. Los coeficientes R^2 y 1-VR difieren ampliamente, de igual manera que el SEC y SECV, donde lo que comienza como un elevado grado de ajuste (95,8 %) en la calibración, termina en una baja proporción de la varianza explicada (84,5 %) de los valores predichos, en la validación cruzada para la mejor ecuación. Del mismo modo con los errores estándares que prácticamente se ven duplicados.

CUADRO 10 Ecuaciones de calibración e indicadores estadísticos y su eficiencia predictiva para Ceniza Total.

	TM	NM	Ntec	R^2	SEC	1-VR	SECV	SD/SECV	CV	
	2:5:5:1	SNV-D	92	10	0,958	0,354	0,845	0,694	2,500	6,920
	2:8:8:1	SNV-D	93	10	0,932	0,451	0,830	0,726	2,386	7,251
	2:12:12:1	SNV-D	94	12	0,929	0,476	0,795	0,819	2,182	8,127

Excepcionalmente, BERARDO (1997), determinó mediante NIRS la fracción de CT alcanzando coeficientes de determinación para calibración de un 97 % y validación cruzada de 92 %, índices que contradicen la teoría de limitada eficiencia predictiva para fracciones minerales. Aunque el citado trabajo fue realizado exclusivamente con muestras de alfalfa, se permite su comparación para observar la variación entre los coeficientes de determinación,

los que disminuyen notoriamente de calibración a validación, siendo elementos indicadores de las limitaciones de NIRS para CT.

En la Figura 8 se exponen las muestras representadas gráficamente por la fracción de CT. El grado de ajuste de los valores predichos por NIRS respecto a los obtenidos en laboratorio, es de catalogar como deficiente en comparación a otras fracciones graficadas, pero, considerando la predicción de un material inorgánico como CT y que se observan valores que se alejan considerablemente de la línea de igual respuesta, el ajuste expuesto por la gráfica e indicadores en el Cuadro 10, es aceptable.

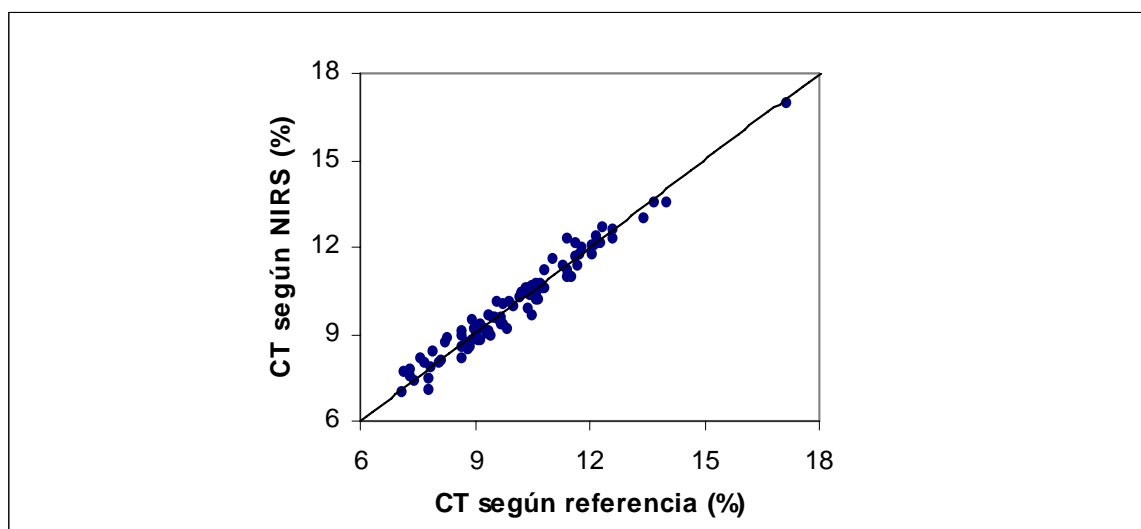


FIGURA 8 Relación entre Ceniza Total (%) y su predicción por NIRS.

En ésta gráfica, se debe reconocer la presencia de una muestra que se aleja largamente del grupo. La existencia de ésta podría significar una fuente de error o, al permitir que forme parte del set de calibración, que se agregue una muestra atípica a la población. Pese a esto, dicha muestra no ha sido detectada como aberrante o fuera de rango y se consideró en el modelo de calibración, implicando la ausencia de errores en los datos de laboratorio, es decir; predicha con un diferencial de residuos inferior al

valor “T” de 2,5 que se evidencia por la cercanía del punto a la línea de igual respuesta, y que su espectro es representativo del grupo de muestras, ya que la distancia del espectro al promedio del grupo es inferior al valor “H” de 10,0.

4.3.7 Extracto Etéreo. Se debe registrar la pobre presencia de grasas en los forrajes y que el EE sólo representa un discreto índice del contenido real de grasa, por lo cual la estimación de esta fracción no es de gran utilidad en la práctica como ejemplo para determinar raciones alimenticias. Estos motivos son causa de que en la literatura actual y disponible no se encontró trabajos basados en determinaciones mediante NIRS para esta fracción química.

En el Cuadro 11 se caracterizan las mejores ecuaciones obtenidas para EE. Los tratamientos matemáticos utilizados corresponden a diferenciaciones de primer orden aplicados con y sin el método combinado de SNV y Detrend. Asimismo, los números de términos en las mejores ecuaciones encontradas fluctúan entre 9 y 10.

Los valores de R^2 se encuentran entre un 91,5 y 89 %, disminuyendo considerablemente a valores entre 82,1 y 80,8 % para 1-VR, con respecto al CV, los valores se alejan considerablemente del 5,0 % crítico, alcanzando un 9,99 % para la mejor ecuación generada con el TM de 1:8:8:1 y SNV-D.

CUADRO 11 Ecuaciones de calibración e indicadores estadísticos y su eficiencia predictiva para Extracto Etéreo.

TM	N°M	Ntec	R^2	SEC	1-VR	SECV	SD/SECV	CV	
1:8:8:1	SNV-D	88	9	0,896	0,215	0,821	0,283	2,357	9,993
1:5:5:1	SNV-D	90	10	0,915	0,202	0,815	0,300	2,317	10,545
1:8:8:1	NONE	89	10	0,890	0,210	0,808	0,277	2,285	9,903

Con el tratamiento de 1:5:5:1 se alcanzó el mayor R^2 (91,5 %) de calibración, pero se presenta la situación en que este indicador no clasifica la

ecuación como la mejor debido a que la relación SD-SECV y valor de 1-VR son inferiores a los del tratamiento 1:8:8:1, desplazando la ecuación al segundo lugar. Los valores SD-SECV se encuentran entre valores de 2,36 y 2,29 indicando que las ecuaciones logradas no son adecuadas para predecir EE.

En la Figura 9 se presenta la predicción de las muestras mediante NIRS por medio de los niveles de EE. En ésta se revela la modesta exactitud mostrada por los índices estadísticos. Se observa que los datos predichos se alejan notablemente de la línea de igual respuesta y que existen valores que se escapan del grupo promedio.

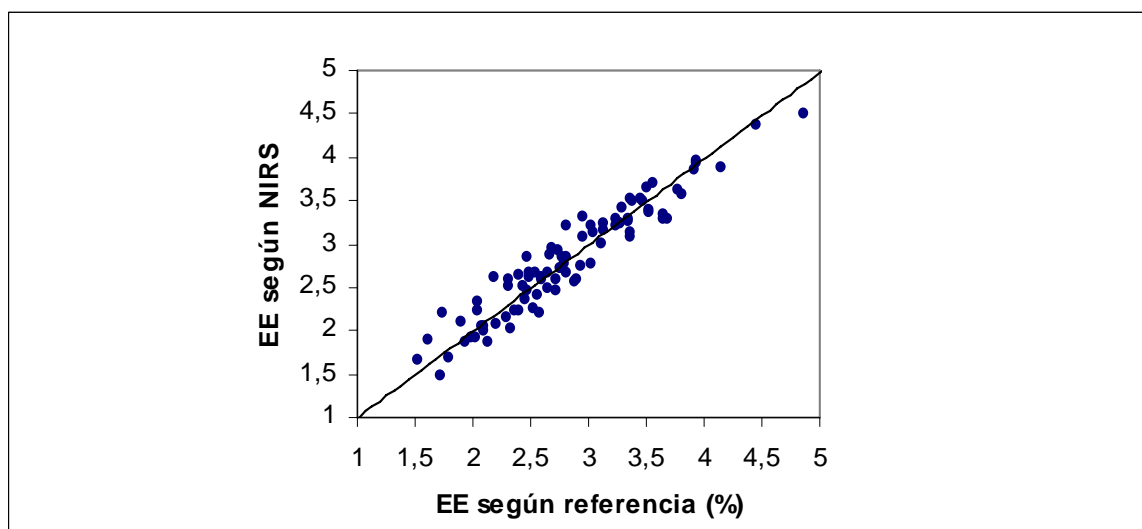


FIGURA 9 Relación entre Extracto Etéreo (%) y su predicción por NIRS.

4.3.8 Carbohidratos Solubles. En el Cuadro 12 se exponen las mejores ecuaciones obtenidas para CHOS y se caracterizan según los indicadores estadísticos producidos. Los TM con que se obtuvieron las ecuaciones corresponden en su totalidad a derivadas de segundo orden y con SNV-D para las que el número de términos en la ecuación varía entre 9 y 10. El R^2 de calibración logrado para la mejor ecuación con el TM de 2:5:5:1 es de un 96,6

% y superior al 79 % informado por BROWN *et al.* (1987), quienes validaron externamente la ecuación calculada alcanzando un 85 % para el R^2 de predicción, inferior al 88,9 % del presente estudio. Los mismos autores reportan abultados errores de 12,4 y 13,75 g kg⁻¹ para calibración y validación externa, en forma respectiva. Los valores del SEC y SECV aquí obtenidos son notoriamente inferiores, en particular para el SEC que se ve prácticamente triplicado por los valores de Brown y colaboradores.

Contrariamente a la superioridad mencionada en los índices estadísticos de las ecuaciones presentadas en el Cuadro 12, sólo la primera ecuación es relativamente aceptable. Sobre la base de la relación SD-SECV, ésta alcanza el límite de 3,0, siendo este indicador apropiado. No obstante, presenta un significativo CV de 13,8 % causante de la relativa aceptabilidad.

CUADRO 12 Ecuaciones de calibración e indicadores estadísticos y su eficiencia predictiva para Carbohidratos Solubles.

TM	N°M	Ntec	R ²	SEC	1-VR	SECV	SD/SECV	CV	
2:5:5:1	SNV-D	87	9	0,966	3,900	0,889	6,990	3,005	13,808
2:8:8:1	SNV-D	87	10	0,962	4,100	0,884	7,133	2,945	14,090
2:12:12:1	SNV-D	87	10	0,952	4,592	0,874	7,450	2,820	14,717

En la Figura 10 se presenta la disposición gráfica de los valores predichos mediante NIRS para la mejor ecuación obtenida con el TM 2:5:5:1 y SNV-D. El ajuste observado por los valores predichos respecto a los reales es bastante aceptable, más aún si se le compara con la fracción de Extracto Etéreo, recién analizada.

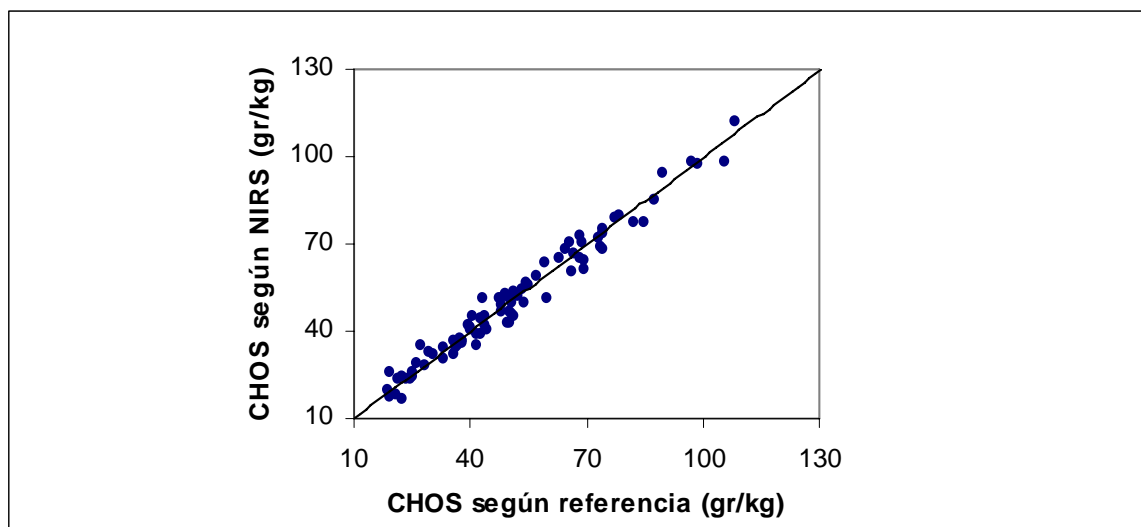


FIGURA 10 Relación entre Carbohidratos Solubles (g kg^{-1}) y su predicción mediante NIRS.

El rango de valores para CHOS en las muestras analizadas es considerablemente amplio y es debido a la recolección de muestras en distintas épocas del año, consecuentemente, adquiriendo muestras heterogéneas en sus niveles de carbohidratos. Nuevamente, se observó valores que se alejan del grupo. El promedio de valores para CHOS fue de $50,46 \text{ g kg}^{-1}$, sin embargo, en la gráfica se observan los valores correspondientes a contenidos por sobre los 100 g kg^{-1} , documentando el variado contenido de CHOS en las muestras.

Destacando la importancia que representan los CHOS como fuente energética en los forrajes y en especial en la conservación (ensilajes) de éstos, sería de gran conveniencia que en estudios futuros o en el caso de ampliar el set actual de muestras, se incorporaran praderas con mayores contenidos de CHOS, con lo cual, probablemente se lograría desarrollar ecuaciones de calibración más “robustas” en la predicción de CHOS.

4.3.9 Materia Orgánica Digestible. Las ecuaciones obtenidas para MOD se presentan en el Cuadro 13. La mejor de éstas se obtuvo con el tratamiento

matemático de 2:8:8:1 y corrección combinada de SNV-D. Los índices estadísticos R^2 y 1-VR explican la variación en los valores predichos en 93,6 y 84,8 %, respectivamente. La relación SD-SECV es inferior al punto crítico de 3,0, indicando que la ecuación no es apropiada para predicciones futuras o al menos no lo suficientemente robusta. Pese a lo anterior, se presenta anormal para el presente trabajo que los CV son inferiores (para todas las ecuaciones mostradas en el cuadro 13) al 5,0 %, siendo que al obtener relaciones SD-SECV inferiores a 3,0 los valores del CV generalmente son superiores al límite crítico.

En general para las ecuaciones de MOD, los datos espectrales fueron tratados con diferenciaciones de segundo orden. Bajo este contexto, particular es el hecho que el tratamiento 2:8:8:1 permitió generar ecuaciones seleccionadas con y sin tratamiento combinado SNV-D, como se aprecia en el Cuadro 13. Conjuntamente, al utilizar o no el tratamiento de corrección por tamaño de partículas, varían cuantiosamente los números de términos de la ecuación. El TM 2:8:8:1 con SNV-D entrega una ecuación de 9 términos, muy superior a los 4 que se presentan con la opción NONE. También cabe reseñar que el set de calibración se mantuvo invariable en 94 muestras.

CUADRO 13 Ecuaciones de calibración e indicadores estadísticos y su eficiencia predictiva para la Materia Orgánica Digestible.

TM		N°M	Ntec	R^2	SEC	1-VR	SECV	SD/SECV	CV
2:8:8:1	SNV-D	94	9	0,936	1,438	0,848	2,223	2,560	3,069
2:5:5:1	NONE	94	4	0,878	2,082	0,846	2,337	2,546	3,233
2:8:8:1	NONE	94	4	0,875	2,102	0,846	2,340	2,543	3,237

Las diferencias en los Ntec se evidencian claramente en la utilización del tratamiento SNV-D, el cual en este caso, se utilizó para aumentar la precisión de las ecuaciones. El no aplicar SNV-D disminuye el número de términos y empeora levemente los índices estadísticos y relaciones entre ellos,

demostrando que se requiere de una mayor información espectral, expresada en los Ntec, y de corrección por tamaño de partículas para predecir más eficientemente la materia orgánica digestible.

Esto es corroborado por NAYDENOVA *et al.* (1998), quienes generaron ecuaciones de calibración para MOD de 14 términos. Asimismo, los indicadores estadísticos obtenidos fueron similares a los del presente estudio, siendo la relación SD-SECV de 2,5, R^2 de calibración de 87 % y el de validación cruzada de un 84 %. Las diferencias entre ambas investigaciones estuvieron dadas, principalmente por el tratamiento matemático utilizado (1:10:5:1 y SNV-D) por los autores antes aludidos. Por su parte, los errores obtenidos por ellos fueron superiores a los del cuadro 13 con 2,60 y 2,89 % para SEC y SECV, respectivamente.

En la Figura 11 se presentan los valores predichos por NIRS en la determinación del contenido de Materia Orgánica Digestible en la materia seca (Valor *D*). Los valores referenciales son predichos con relativa exactitud y acorde a los índices estadísticos, mostrando una heterogénea disposición y considerable lejanía de la línea de igual tendencia, es decir, un deficiente ajuste de los valores.

La disposición de valores que escapan del grupo promedio por sobre y bajo de éste, se complementa con lo expuesto para las fracciones antes analizadas, en donde, la variación de la composición química de las praderas derivada de cambios en el estado de madurez y por ende en la morfología de las especies que la componen, se expresa en una mayor o menor digestibilidad de las muestras de pradera recolectada.

4.3.10 Energía Metabolizable. Las ecuaciones de calibración resultantes para esta fracción fueron de gran similitud a las obtenidas para MOD. Lo

anterior se fundamenta en el método de determinación utilizado para estimar EM y que consiste en una regresión a partir del contenido de MOD (Valor *D*) creada por GARRIDO y MANN (1981), es decir, sobre la misma información de referencia obtenida en laboratorio se definen DMO y EM, diferenciadas sólo por la transformación matemática producto de la ecuación de regresión aplicada y que conlleva para EM una disminución en la magnitud de los valores.

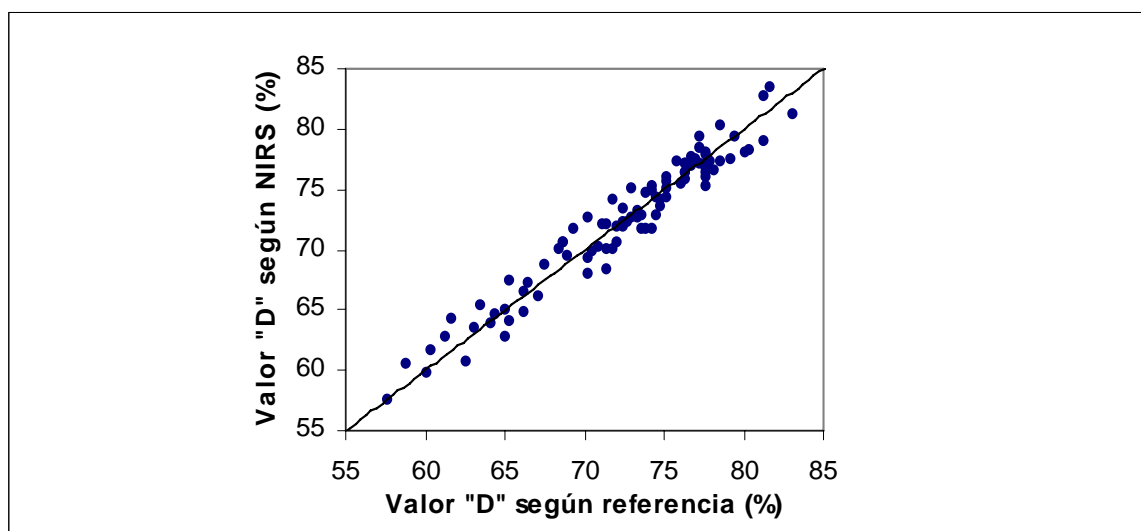


FIGURA 11 Relación entre la Materia Orgánica Digestible (%), Valor D, y su predicción por NIRS.

En el Cuadro 14 se caracterizan las ecuaciones obtenidas para EM y los TM con las que se generaron. En éste se puede apreciar la mínima diferencia existente con las ecuaciones de DMO. La mejor ecuación se obtuvo con el tratamiento 2:8:8:1 y SNV-D, considera 9 términos y 94 muestras en el set. Los coeficientes de determinación de 93,6 y 84,8 % para calibración y validación, de manera respectiva, exponen igual eficiencia predictiva en ambos casos. Los errores estándares y relaciones SD-SECV y CV varían respecto de la mejor ecuación encontrada para DMO producto de ser valores expresados en diferentes unidades.

Las diferencias encontradas en los TM que generaron las ecuaciones y en comparación a MOD, se produjeron con el tratamiento 2:12:12:1 y NONE que entregó una de las tres mejores ecuaciones vistas en el Cuadro 14. De igual manera que para MOD, el número de términos en las ecuaciones, también varió entre los 9 y 4 factores.

CUADRO 14 Ecuaciones de calibración e indicadores estadísticos y su eficiencia predictiva para Energía Metabolizable.

TM	N°M	Ntec	R ²	SEC	1-VR	SECV	SD/SECV	CV	
2:8:8:1	SNV-D	94	9	0,936	0,196	0,848	0,303	2,554	2,750
2:5:5:1	NONE	94	4	0,877	0,283	0,846	0,318	2,544	2,891
2:12:12:1	NONE	93	4	0,875	0,283	0,844	0,315	2,537	2,860

FLORES et al. (2000), definieron ecuaciones NIRS para la fracción energética con bastante exactitud. Utilizando el TM 0:0:5:1 alcanzaron un R² de calibración de 96 % y de validación de 87 %, superiores a los encontrados en el presente estudio. Sin embargo, los errores SEC y SECV fueron superiores a los vistos en el Cuadro 14, siendo de 0,34 y 0,59 Mj (0,08 y 0,14 Mcal kg⁻¹ MS), respectivamente. La relación SD-SECV calculada por FLORES et al. (2000), no superó los 3,0 puntos, evidenciando similar desvío de los valores aquí presentados y una deficiente predicción de NIRS para EM.

En la Figura 12 se presenta la relación entre los valores determinados por laboratorio y NIRS para EM. La gráfica expone igual disposición de los datos que en MOD. Como se mencionara anteriormente, los valores para MOD y EM se diferencian en la magnitud de éstos, para lo cual ambas Figuras (11 y 12) documentan tal similitud sólo que a diferentes escalas.

En la aplicación práctica de la técnica NIRS sobre esta fracción, se debe reconocer la necesidad de mejorar la eficiencia predictiva de las ecuaciones generadas por la importancia económica que representa la Energía

Metabolizable en la formulación de raciones para animales de alta producción. Para este parámetro no existen métodos tradicionales que permitan estimar rápidamente su contenido, siendo de mayor relevancia aún el mejorar las estimaciones por medio de NIRS en vista de las cualidades de esta técnica.

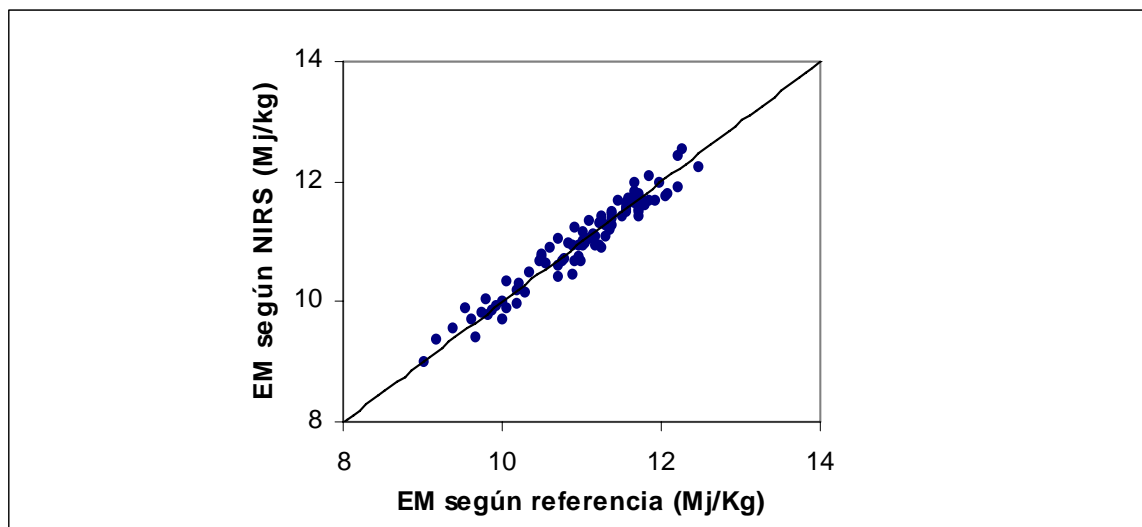


FIGURA 12 Relación entre Energía Metabolizable (Mj kg^{-1}) y su predicción por NIRS.

Posibles vías de mejoramiento de las ecuaciones son el aumentar el número de muestras en el set de calibración y el utilizar espectros reduciendo el rango de longitudes de onda para calibrar. Por otra parte, se debe considerar que la técnica NIRS es empírica o secundaria, en este caso, a través de MOD y su determinación in vitro. Por lo anterior, una de las posibles vías de mejoramiento en la predicción de EM podría comenzar por la utilización de otros medios de análisis de referencia en laboratorio.

4.4 Caracterización global de las ecuaciones de calibración NIRS.

En este capítulo se describen agrupadamente las ecuaciones NIRS generadas en función de los tratamientos matemáticos con que se obtuvieron. Lo anterior en busca de poder dilucidar la tendencia advertida o necesidad de someter a los datos espectrales a distintos tratamientos matemáticos que permitan extraer la información analíticamente útil para predecir la composición química de praderas.

La Figura 13 representa relativamente la distribución de los tratamientos de diferenciación o derivadas con los que se generaron las mejores 30 ecuaciones descritas en el capítulo anterior.

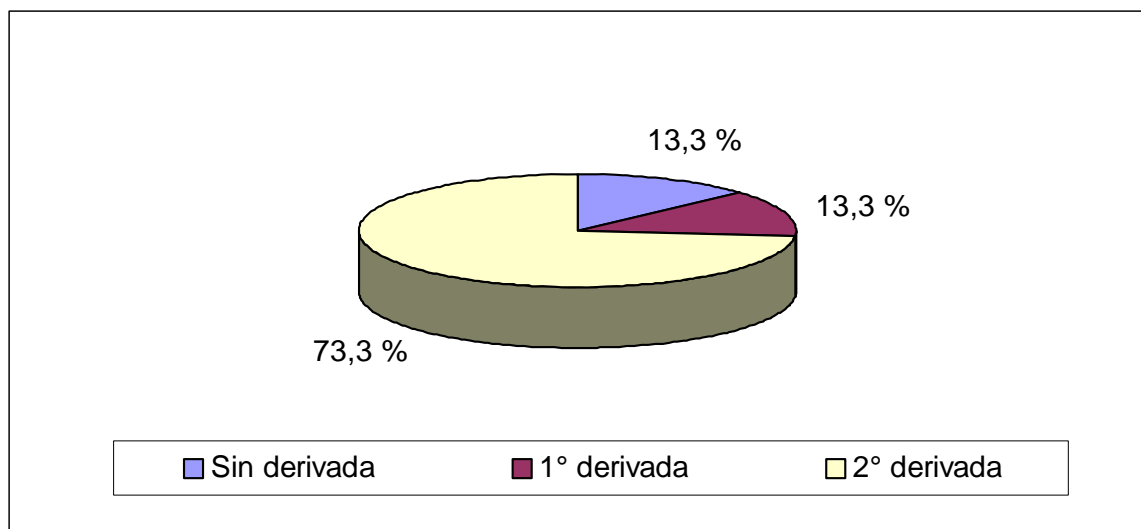


FIGURA 13 Partición relativa de ecuaciones generadas con tratamientos de diferenciación espectral.

La mayoría de las ecuaciones, sobre el 86 %, requirió de algún tratamiento de diferenciaciones. De éstas, las de segundo orden fueron largamente las más utilizadas para tratar los datos espectrales donde un 73,3 %

de las ecuaciones se produjeron con este orden, mientras que con derivadas de primer y sin orden se generó igual cantidad de ecuaciones, con un 13,3%.

Considerando en el mismo universo, tanto derivadas de primer como segundo orden, la amplitud o distancia entre los segmentos a sustraer y la longitud de los mismos más utilizada en las ecuaciones correspondió a 8 puntos de datos (16 nm), lo que se muestra contrario a lo propuesto por SINNAEVE et al. (1994), quienes señalan que los mejores resultados obtenidos en el análisis de forrajes, consideran segmentos e intervalos de cinco puntos de datos.

Complementario a lo expuesto por Sinnaeve y colaboradores, la tendencia de utilización de los TM observada en el presente estudio, se muestra coincidente con lo reportado por NAYDENOVA et al. (1998), quienes concluyeron luego de establecer ecuaciones de calibración NIRS, que con tratamientos de diferenciación de primer y segundo orden se logran mejores y mayores beneficios sobre los datos espectrales, los que se traducen en aumentos resolutivos de bandas de absorción de los compuestos asociados a una fracción química objetivo y que son representadas por la matriz de datos espectrales.

Las ecuaciones creadas en su mayoría demandaron de corrección por medio de SNV-D, donde éstas representaron el 60 % y con la opción NONE sólo se produjo un 40 %. Esta distribución se muestra en la Figura 14, y también es respaldada por NAYDENOVA et al. (1998), en que los mejores resultados son obtenidos con el tratamiento de los datos espectrales mediante el método combinado de SNV y Detrend.

Al considerar solamente las mejores ecuaciones originadas para cada fracción, se obtuvieron similares proporciones en cuanto a los tratamientos más utilizados. En la Figura 15 se presenta un ordenamiento de las mejores

ecuaciones según los tratamientos con que se originaron. Un 70 % de las ecuaciones se generó con diferenciaciones de segundo orden, 20 % con primer orden y 10 % sin diferenciaciones. Asimismo, el 80 y 20 % de las ecuaciones fue creada con y sin SNV-D, respectivamente, revelando un mayor contraste en relación a la utilización de tratamientos matemáticos mostrada en la Figura 14 y así la importancia que representa el pre-tratamiento de datos espectrales.

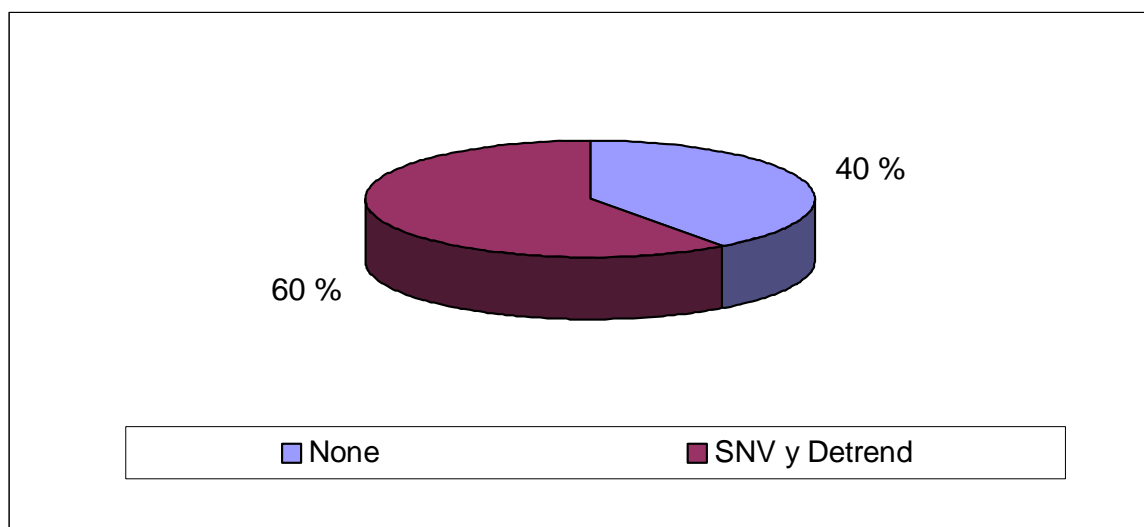


FIGURA 14 Partición relativa de ecuaciones generadas con tratamientos de corrección matemática.

En la interpretación de la información entregada por la Figura 15, se prueba que dentro del universo de tratamientos de corrección y diferenciación espectral posibles de aplicar en la creación de ecuaciones de calibración, el óptimo de éstos se centra en diferenciaciones de segundo orden y tratamiento combinado de SNV y Detrend.

Posterior al análisis de los resultados obtenidos en el presente trabajo y de la apreciación general de los tratamientos matemáticos más utilizados, es posible distinguir y por ende clasificar dentro tres grupos las fracciones estudiadas según su calidad predictiva, así pudiendo entregar más

objetivamente una respuesta de la verdadera eficiencia de las ecuaciones generadas en este estudio. Para lo anterior, si consideramos la relación SD-SECV, el valor de 1-VR y CV, se tiene que las fracciones de PB, FDN y FDA son eficientemente predichas mediante NIRS, puesto que la relación SD-SECV fue superior a 3,0, el valor de 1-VR mayor a un 90 % y el CV inferior al 5,0 %. Las fracciones de PS y FDNIN fueron de eficiencia media por presentar valores del CV superiores al 5,0 % y por último, las fracciones restantes de CT, EE, CHOS, MOD y EM fueron de eficiencia limitada al exponer valores de SD-SECV inferiores a 3,0, valores del 1-VR menor al 90 % y CV superior a 5,0 %.

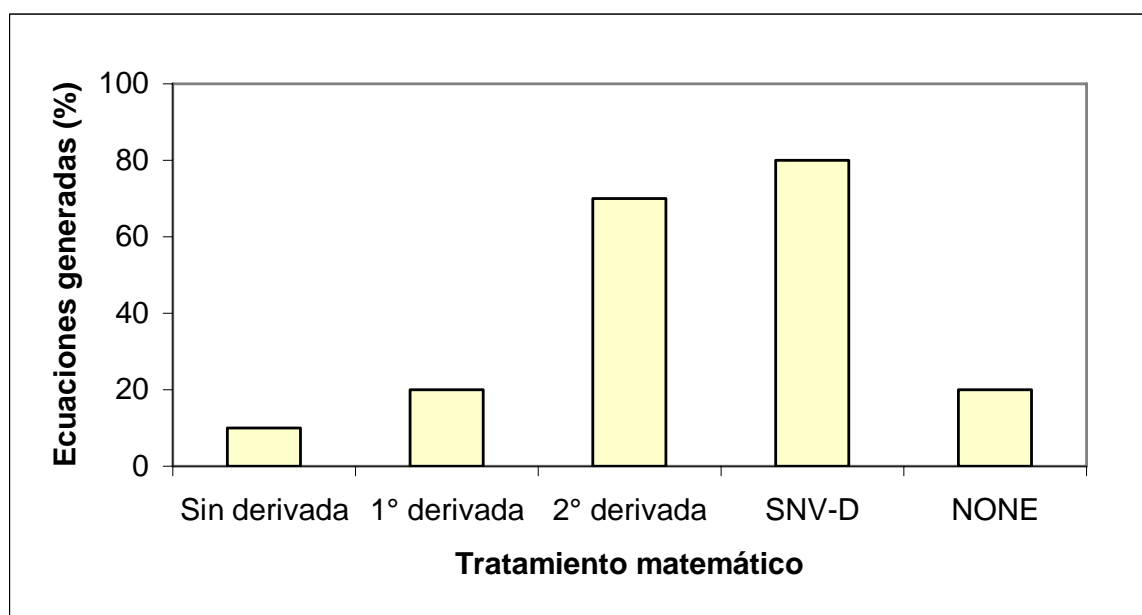


FIGURA 15 Ecuaciones de calibración y tratamientos matemáticos involucrados en su elaboración.

Según la clasificación anterior, las fracciones que son eficientemente predichas mediante NIRS son posibles de incorporar a los análisis de rutina en laboratorios tradicionales por medio de esta técnica para mediciones cuantitativas de la composición química. De igual manera es factible de realizar con fracciones de eficiencia media como PS y FDNIN, sin obviar la posibilidad

de generar ecuaciones más robustas por medio de calibraciones (o recalibraciones) que puedan ser validadas externamente.

Asimismo, sería importante continuar trabajando con calibraciones para CT, EE, CHOS, MOD y EM, buscando mejorar la calidad de las ecuaciones aquí encontradas. En todo caso, éstas podrían ser incorporadas al análisis de rutina con las ecuaciones aquí desarrolladas, con la finalidad de estimar rangos cualitativos o el contenido aproximado de estas fracciones en las praderas.

5 CONCLUSIONES

Se comprobó una alta eficiencia de la técnica NIRS en la predicción de la composición química de praderas, aunque no todos los parámetros fueron predichos con la misma exactitud. Las fracciones que mejor se predijeron mediante la técnica fueron: Proteína Bruta, Fibra Detergente Neutro, Fibra Detergente Acido y en forma algo menos precisa Proteína Soluble y Nitrógeno Insoluble en Detergente Neutro. Para las fracciones restantes; Ceniza Total, Extracto Etéreo, Carbohidratos Solubles, Materia Orgánica Digestible y Energía Metabolizable, se observó una marcada asociación de los datos espectrales con los resultados analíticos de referencia, pero estos no se pudieron predecir con seguridad mediante NIRS.

Existió una marcada tendencia a la utilización de tratamientos matemáticos por parte de las ecuaciones de predicción desarrolladas que permitió aumentar el grado de ajuste de éstas, desprendiéndose que:

- La mayoría de las ecuaciones desarrolladas, 60%, requirió de un pre-tratamiento de corrección de datos espectrales mediante el método combinado de Variación Normal Estándar y Detrend (SNV-D).
- La mayoría de las ecuaciones desarrolladas, por sobre el 86%, requirió de algún tratamiento de diferenciaciones o derivadas.
- El orden de diferenciación más utilizado fue el segundo, alcanzando un 73.3%.

- La amplitud entre los segmentos espectrales a sustraer y la longitud de éstos más utilizada correspondió a 8 puntos de datos.

6 RESUMEN

La presente investigación fue llevada a cabo en las dependencias pertenecientes al Laboratorio de Nutrición Animal del Instituto de Producción Animal de la Universidad Austral de Chile, entre los meses de marzo del 2001 y enero del 2002, donde se analizaron muestras de praderas provenientes de la Décima Región de Los Lagos mediante Espectroscopía de Reflectancia en el Infrarrojo Cercano (NIRS).

Los objetivos planteados en el estudio fueron: determinar la eficacia de NIRS en la predicción de la composición química de praderas para las fracciones de Proteína Bruta (PB), Proteína Soluble (PS), Fibra Detergente Neutro (FDN), Nitrógeno Insoluble en Detergente Neutro (FDNIN), Fibra Detergente Acido (FDA), Ceniza Total (CT), Extracto Etéreo (EE), Carbohidratos Solubles (CHOS), Materia Orgánica Digestible (MOD) y Energía Metabolizable (EM), y estimar el efecto de distintos tratamientos matemáticos sobre las ecuaciones desarrolladas.

Se recolectaron 98 muestras provenientes de distintas localidades de la región y tipos de pradera las que fueron secadas parcialmente y sometidas a un monocromador de barrido *NIRSystems^{MR}* modelo 6500, dotado del software NIRS Versión 3.0, con el cual se obtuvieron los espectros y posteriormente, fueron analizadas en laboratorio para obtener los datos referenciales.

En general, la técnica NIRS mostró una alta eficiencia predictiva mediante las ecuaciones desarrolladas. Las fracciones que mejor se predijeron fueron PB (1-VR 98.7% y SD/SECV 8.6), FDN (1-VR 96.5% y SD/SECV 5.3) y

FDA (1-VR 93.2% y SD/SECV 3.8), mientras que PS, FDNIN, CT, EE, CHOS, DMO y EM fueron algo menos eficientes.

Las mejores ecuaciones de calibración fueron obtenidas con tratamientos de diferenciación de segundo orden; en general con intervalos de sustracción y segmentos de suavización de 8 puntos de datos, y tratamiento de corrección de dispersión combinado de SNV y Detrend.

SUMMARY

The present investigation was carried out in the Animal Nutrition Laboratory dependences of the Institute of Animal Production at the Universidad Austral de Chile, between march 2001 - january 2002. Pasture samples of the X Region were analyzed by Near Infra-red Reflectance Spectroscopy (NIRS).

The objectives of the study were: to determine the effectiveness of NIRS in the prediction of the chemical composition of pasture for the fractions of Crude Protein (CP), Soluble Protein (SP), Neutral Detergent Fiber (NDF), Insoluble Nitrogen in Neutral Detergent (ININD), Acid Detergent Fiber (ADF), Total Ash (TA), Ethereal Extract (EE), Soluble Carbohydrates (SCHO), Digestible Organic Matter (DOM) and Metabolizable Energy (ME), and to estimate the effect of different mathematical treatments on the developed equations.

Ninety eight pasture samples from different types of swards and areas, were dried partially and scanned with a *NIRSystems*TM monochromator model 6500, with the software NIRS Version 3.0, to obtain the spectra. Further, the samples were analyzed in laboratory to obtain the reference data.

NIRS showed a high predictive efficiency by the developed equations. The better predicted fractions were CP (1-VR 98.7% and SD/SECV 8.6), NDF (1-VR 96.5% and SD/SECV 5.3) and ADF (1-VR 93.2% and SD/SECV 3.8). SP, ININD, TA, EE, SCHO, DOM and ME were less efficient in their prediction.

The best calibration equations were obtained with a second order derivative treatment; in general with smooth intervals and subtraction gaps of 8

data points, and scattering correction treatments of combining SNV and Detrend.

7 BIBLIOGRAFIA

- AGRICULTURAL DEVELOPMENT AND ADVISORY SERVICE. 1985. Carbohidrates, soluble, in herbage. **In:** Bailey, S. (ed). The Analysis of Agricultural Materials; A Manual of the Analytical Methods used by the Agricultural Development and Advisory Service. 3 th. ed. Reference Book N° 427. London. pp: 43-45.
- ALOMAR, D. y FUCHSLOCHER, R. 1998. Fundamentos de la espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) como método de análisis de forrajes. *Agro Sur* 26 (1): 88-104.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS INTERNATIONAL (A.O.A.C.). 1996. Animal feed. **In:** Windham, W. (ed). Official methods of analysis of AOAC International. 16 th. ed. AOAC International. Gaithersburg, Estados Unidos. v 1. 38 p.
- BALOCCHI, O. 1999. Recursos forrajeros utilizados en producción de leche. **In:** Anrique, R.; Latrille, L.; Balocchi, O.; Alomar, D.; Moreira, V.; Smith, R.; Pinochet, D.; Vargas, G. Competitividad de la Producción Lechera Nacional. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Vol 1. pp: 29-74.
- BARTON, F. y WINDHAM, W. 1988. Determination of acid-detergent fiber and crude protein in forage by near-infrared reflectance spectroscopy: collaborative study. *J. Association Official of Analytical Chemist* 71(6): 1162-1167.

- BATEMAN, J. 1970. Nutrición animal: manual de métodos analíticos. México. Centro Regional de Ayuda Técnica. 468 p.
- BATTEN, G. 1998. An appreciation of the contribution of NIR to agriculture. <www.nirpublications.com/j6abs.html> (15 mar. 2001).
- BERARDO, N. 1997. Prediction of the chemical composition of white clover by near-infrared reflectance spectroscopy. *Grass and Forage Science* 52: 27-32.
- BEYER, E. 1997. Dinámica de degradación ruminal de la materia seca de ensilajes y su predicción por espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS). Tesis Lic. Agr. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 118 p.
- BROWN, W.; PIACITELLI, C. y MISLEVY, P. 1987. Near infrared reflectance analysis of total nonstructural carbohydrate concentration in tropical grasses. *Crop Science* 27:786-788.
- CIAVARELLA, S.; BATTEN, D. y BLAKENEY, A. 1998. Measuring potassium in plant tissues using near infrared spectroscopy. *J. Near Infrared Spectroscopy* 6: 63-66.
- CLARK, D.; MAYLAND, H. y LAMB, R. 1987. Mineral analysis of forage with near infrared reflectance spectroscopy. *Agronomy J.* 79: 485-490.
- COVENTRY, G. 1988. The development and application of NIR with particular reference to the food industry. *Food Science and Technology Today* 2(2): 130-131.

- DARDENNE P.; SINNAEVE G. y BAETEN V. 2000. Multivariate calibration and chemometrics for near infrared spectroscopy. *J. Near Infrared Spectroscopy* 8: 229–237.
- DAVIES, A. y GRANT, A. 1987. Review: Near infra-red analysis of food. *Int. Journal Food Science. Technology* 22: 191-207.
- DEAVILLE, E. y FLINN, P. 2000. Near-infrared (NIR) spectroscopy: an alternative approach for the estimation of forage quality and voluntary intake. In: Givens, D., Owen, E., Axford, R. y Omed, H. (eds). *Forage Evaluation in Ruminant Nutrition*. CABI. Wallingford, UK. pp: 301-320.
- DE LA ROZA, B.; MARTINEZ, A. y SANTOS, B. 1998. The estimation of crude protein and dry matter degradability of maize and grass silages by near infrared spectroscopy. *J. Near Infrared Spectroscopy* 6: 145-151.
- FAUGHEY, G. y SHARMA, H. 2000. A preliminary evaluation of near infrared spectroscopy for assessing physical and chemical characteristics of flax fibre. *J. Near Infrared Spectroscopy* 8: 61-69.
- FLORES, M.; ALOMAR, D. y BALOCCHI, O. 2000. Efecto del período de rezago sobre la calidad de cinco gramíneas forrajeras y su predicción por NIRS. *Agro Sur* 28 (1): 41-55.
- GARRIDO, O. y MANN, E. 1981. Composición química, digestibilidad y valor energético de una pradera permanente de pastoreo a través del año. Tesis Lic. Agr. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 70 p.

- GIVENS, D.; DE BOEVER, J. y DEAVILLE, E. 1997. The principles, practices and some future infrared spectroscopy for predicting the nutritive value of foods for animals and humans. *Nutrition Research Reviews* 10: 83-114.
- GOERING, H. y VAN SOEST, P. 1972. Análisis de fibra de forrajes. Traducido por Pezo, D. Lima, Perú. Misión Agrícola de Carolina del Norte. 41 p.
- HECHT, E. y ZAJAC, A. 1986. *Optica*. Traducido por Malacara, D. 2 th. ed. Delaware, Estados Unidos. Iberoamericana. 586 p.
- HINDLE, P. 1999. The last millennium: a brief history of science leading to current infrared technology. **In:** Davies, A. y Giangiacomo, R. (eds). *Near Infrared Spectroscopy: Proceedings of the 9th International Conference*. Verona, Italia. pp: 1-6.
- INFRAISOFT INTERNATIONAL. 1992. NIRS 3.0: Routine Operation, Calibration and Network System Management Software for Near Infrared Instruments. ISI. Estados Unidos, Silver Spring. 328 p.
- KENNEDY, C.; SHELFORD, J. y WILLIAMS, P. 1995. Near infrared spectroscopy analysis of intact grass silage and fresh grass for dry matter, crude protein and acid detergent fiber. **In:** Davies, A. y Williams, P. (eds). *Near Infrared Spectroscopy: The future Waves*. VII International Conference on Near Infrared Spectroscopy. Montreal, Canada. pp: 524-530.
- LICITRA, G.; HERNANDEZ, T. y VAN SOEST, P. 1995. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology* 57: 347-358.

MONTGOMERY, D. y RUNGER, G. 1996. Probabilidad y Estadística aplicada a la ingeniería. Traducido por Urbina, E. México, D.F. Mc Graw-Hill. 895 p.

MORCILLO, J. 1974. Espectroscopía infrarroja. Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos. Washington, D.C. Departamento de Asuntos Científicos. 74 p.

MURRAY, I. 1988. Aspects of the interpretation of near infra red spectra. Food Science and Technology Today 2(2): 135-140.

_____. 1993. Forage analysis by near infrared reflectance spectroscopy. **In:** Davies, A., Baker, R., Grant, S. and Laidlaw, A. (eds). Sward Management Handbook. British Grassland Society, UK. pp: 285-312.

NAYDENOVA, Y.; TOMOV, P. y DARDENNE, P. 1998. Near infrared spectroscopy estimation of feeding value of forage perennial grasses in breeding programmes by global and specific calibrations. Estimation of chemical composition and digestibility. J. Near Infrared Spectroscopy 6: 153-165.

NORRIS, K.; BARNES, R.; MOORE, J. y SHENK, J. 1976. Predicting forage quality by infrared reflectance spectroscopy. J. Animal Science 43: 889-897.

OSBORNE, B.; FEARN, T. y HINDLE, P.H. 1993. Practical NIR spectroscopy with applications in food and beverage analysis. 2 th. Ed. Longmann Scientific and Technical. 227 p.

PINOCHET, D. 1999. Potencial productivo de las praderas permanentes de las regiones IX y X. **In:** Anrique, R.; Latrille, L.; Balocchi, O.; Alomar, D.; Moreira, V.; Smith, R.; Pinochet, D.; Vargas, G. Competitividad de la Producción Lechera Nacional. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Vol 1. pp 75-114.

REDSHAW, E.; MATHISON, G.; MILLIGAN, L. y WEISENBURGER, R. 1986. Near infrared reflectance spectroscopy for predicting forage composition and voluntary consumption and digestibility in cattle and sheep. *Canadian J. of Animal Science* 66: 103-115.

REEVES, J.; BLOSSER, T.; BALDE, A.; GLENN, B. y VANDERSAL, J. 1991. Near infrared spectroscopy analysis of forage samples digested *in situ* (nylon bag). *J. Dairy Science* 74: 2664-2673.

_____. 2000. Use of near infrared reflectance spectroscopy. **In:** D'Mello, J. (ed). *Farm Animal Metabolism and Nutrition*. CABI. Wallingford, UK. pp: 185-207.

SHENK, J.; LANDA, I.; HOOVER, M. y WESTERHAUS, M. 1981. Description and evaluation of a near infrared reflectance spectro-computer for forage and grain analysis. *Crop Science* 21: 355-358.

_____, y WESTERHAUS, M. 1991. Population definition, sample selection, and calibration procedures for near infrared reflectance spectroscopy. *Crop Science* 31: 469-474.

_____, y _____. 1994. The application of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to forage analysis. **In:** Fahey, G. (eds). *Forage Quality, Evaluation and Utilization*. National Conference on

Forage Quality, Evaluation and Utilization. Lincoln, Nebraska. pp 406-449.

SINNAEVE, G.; DARDENNE, P. y AGNEESSENS, R. 1994. Global or local. A choice for NIR calibrations in analyses of forage quality. *J. Near Infrared Spectroscopy* 2(3): 163-176.

URUGUAY, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS (INIA), 2001. <www.Inia.org.uy/DDRR/LaEstanzuela/Laboratorios/nirs/intronir.htm> (5 agos. 2001).

VAN SOEST, P.; ROBERTSON, J. y LEWIS, B. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Science* 74(10): 3583-3597.

WALPOLE, R.; MYERS, R. Y MYERS, S. 1999. Probabilidad y estadística para ingenieros. Traducido por Cruz, R. 6 th. ed. México D.F. Prentice-Hall. 752 p.

WORTEL, V.; HANSEN, W. y WIEDEMANN, S. 1999. Optimising multivariate calibration by robustness criteria. **In:** Davies, A. y Giangiaco, R. (eds). *Near Infrared Spectroscopy: Proceedings of the 9th International Conference*. Verona, Italia. pp: 267-271.

ANEXOS

ANEXO 1. Tratamientos matemáticos de corrección y diferenciación espectral usados en la determinación de ecuaciones para Proteína Bruta (%).

N°	DIFERENCIACION		CM	MEAN	RANGO	SD	N°M	SEC	R ²	Ntec	SECV	1-VR	CV	SD/SECV
1	Sin derivada	0:0:5:1	NONE	20,494	8,12-37,32	6,747	96	0,768	0,987	12	0,997	0,978	4,865	6,77
2	Sin derivada	0:0:8:1	NONE	20,494	8,12-37,32	6,747	96	0,778	0,987	12	1,032	0,977	5,036	6,54
3	Sin derivada	0:0:12:1	NONE	20,494	8,12-37,32	6,747	96	0,796	0,986	12	0,993	0,979	4,845	6,79
4	1° derivada	1:5:5:1	NONE	20,384	8,12-37,32	6,723	94	0,769	0,987	8	1,085	0,974	5,323	6,20
5	1° derivada	1:8:8:1	NONE	20,474	8,12-37,32	6,751	96	0,677	0,990	11	0,999	0,978	4,879	6,76
6	1° derivada	1:12:12:1	NONE	20,469	8,12-37,32	6,716	97	0,629	0,991	12	0,963	0,980	4,705	6,97
7	2° derivada	2:5:5:1	NONE	20,469	8,12-37,32	6,716	97	0,617	0,992	9	1,126	0,972	5,501	5,96
8	2° derivada	2:8:8:1	NONE	20,379	8,12-37,32	6,687	95	0,692	0,989	9	1,090	0,974	5,349	6,13
9	2° derivada	2:12:12:1	NONE	20,355	8,12-37,32	6,656	96	0,695	0,989	11	1,105	0,973	5,429	6,02
10	Sin derivada	0:0:5:1	SNV-D	20,425	8,12-37,32	6,770	95	0,639	0,991	12	0,805	0,986	3,941	8,41
11	Sin derivada	0:0:8:1	SNV-D	20,425	8,12-37,32	6,770	95	0,647	0,991	12	0,811	0,986	3,971	8,35
12	Sin derivada	0:0:12:1	SNV-D	20,425	8,12-37,32	6,770	95	0,652	0,991	12	0,822	0,985	4,024	8,24
13	1° derivada	1:5:5:1	SNV-D	20,412	8,12-37,32	6,670	93	0,523	0,994	10	0,820	0,985	4,017	8,13
14	1° derivada	1:8:8:1	SNV-D	20,316	8,12-37,32	6,722	94	0,516	0,994	12	0,808	0,986	3,977	8,32
15	1° derivada	1:12:12:1	SNV-D	20,472	8,12-37,32	6,791	94	0,532	0,994	11	0,785	0,987	3,835	8,65
16	2° derivada	2:5:5:1	SNV-D	19,870	8,12-35,55	6,342	92	0,593	0,991	6	0,779	0,985	3,920	8,14
17	2° derivada	2:8:8:1	SNV-D	20,110	8,12-37,32	6,513	95	0,566	0,992	8	0,861	0,983	4,281	7,56
18	2° derivada	2:12:12:1	SNV-D	20,112	8,12-35,55	6,487	94	0,733	0,987	5	0,902	0,981	4,485	7,19

CM: Corrección matemática, **Mean:** Promedio de los valores de Laboratorio, **SD:** Desviación estándar, **N°M:** Número de muestras en el set de calibración, **SEC:** Error estándar de calibración; **R²:** Coeficiente de determinación de calibración, **Ntec:** Número de términos en la ecuación, **SECV:** Error estándar de validación cruzada; **1-VR:** Coeficiente de determinación de predicción, **CV:** Coeficiente de variación y **SD/SECV:** relación entre SD y SECV.

ANEXO 2. Tratamientos matemáticos de corrección y diferenciación espectral usados en la determinación de ecuaciones para Proteína Soluble (%).

N°	DIFERENCIACION		CM	MEAN	RANGO	SD	N°M	SEC	R ²	Ntec	SECV	1-VR	CV	SD/SECV
1	Sin derivada	0:0:5:1	NONE	9,318	2,09-20,98	4,166	94	0,994	0,943	12	1,344	0,896	14,424	3,10
2	Sin derivada	0:0:8:1	NONE	9,254	2,09-20,98	4,190	95	1,013	0,942	12	1,392	0,890	15,042	3,01
3	Sin derivada	0:0:12:1	NONE	9,254	2,09-20,98	4,190	95	1,041	0,938	12	1,410	0,887	15,237	2,97
4	1° derivada	1:5:5:1	NONE	9,292	2,09-20,98	4,196	94	0,688	0,973	12	1,194	0,919	12,850	3,51
5	1° derivada	1:8:8:1	NONE	9,292	2,09-20,98	4,196	94	0,735	0,969	12	1,232	0,914	13,259	3,41
6	1° derivada	1:12:12:1	NONE	9,292	2,09-20,98	4,196	94	0,766	0,967	12	1,240	0,913	13,345	3,38
7	2° derivada	2:5:5:1	NONE	9,166	2,09-18,13	4,037	93	0,665	0,973	8	1,143	0,920	12,470	3,53
8	2° derivada	2:8:8:1	NONE	9,166	2,09-18,13	4,037	93	0,594	0,978	11	1,104	0,925	12,045	3,66
9	2° derivada	2:12:12:1	NONE	9,324	2,09-20,98	4,207	93	0,841	0,960	8	1,251	0,911	13,417	3,36
10	Sin derivada	0:0:5:1	SNV-D	9,241	2,09-20,98	4,206	94	0,890	0,955	11	1,147	0,925	12,412	3,67
11	Sin derivada	0:0:8:1	SNV-D	9,241	2,09-20,98	4,206	94	0,894	0,955	11	1,150	0,925	12,445	3,66
12	Sin derivada	0:0:12:1	SNV-D	9,241	2,09-20,98	4,206	94	0,955	0,948	10	1,179	0,921	12,758	3,57
13	1° derivada	1:5:5:1	SNV-D	9,299	2,09-20,98	4,194	94	0,611	0,979	11	1,141	0,926	12,270	3,68
14	1° derivada	1:8:8:1	SNV-D	9,283	2,09-20,98	4,174	95	0,628	0,977	12	1,095	0,931	11,796	3,81
15	1° derivada	1:12:12:1	SNV-D	9,240	2,09-20,98	4,175	94	0,677	0,974	12	1,107	0,930	11,981	3,77
16	2° derivada	2:5:5:1	SNV-D	9,299	2,09-20,98	4,194	94	0,593	0,980	8	1,014	0,941	10,904	4,14
17	2° derivada	2:8:8:1	SNV-D	9,299	2,09-20,98	4,194	94	0,588	0,980	10	0,981	0,945	10,550	4,28
18	2° derivada	2:12:12:1	SNV-D	9,299	2,09-20,98	4,194	94	0,643	0,976	10	1,019	0,941	10,958	4,12

CM: Corrección matemática, Mean: Promedio de los valores de Laboratorio, SD: Desviación estándar, N°M: Número de muestras en el set de calibración, SEC: Error estándar de calibración; R²: Coeficiente de determinación de calibración, Ntec: Número de términos en la ecuación, SECV: Error estándar de validación cruzada; 1-VR: Coeficiente de determinación de predicción, CV: Coeficiente de variación y SD/SECV: relación entre SD y SECV.

ANEXO 3. Tratamientos matemáticos de corrección y diferenciación espectral usados en la determinación de ecuaciones para Fibra Detergente Neutro (%).

N°	DIFERENCIACION		CM	MEAN	RANGO	SD	N°M	SEC	R ²	Ntec	SECV	1-VR	CV	SD/SECV
1	Sin derivada	0:0:5:1	NONE	45,234	28,34-65,66	7,143	96	1,642	0,947	12	2,027	0,921	4,481	3,52
2	Sin derivada	0:0:8:1	NONE	45,319	28,34-65,66	7,132	95	1,644	0,947	12	1,942	0,927	4,285	3,67
3	Sin derivada	0:0:12:1	NONE	45,234	28,34-65,66	7,143	96	1,667	0,946	12	2,049	0,919	4,530	3,49
4	1° derivada	1:5:5:1	NONE	45,048	25,74-65,66	7,340	98	1,596	0,953	7	1,913	0,933	4,247	3,84
5	1° derivada	1:8:8:1	NONE	45,048	25,74-65,66	7,340	98	1,643	0,950	7	1,961	0,930	4,353	3,74
6	1° derivada	1:12:12:1	NONE	45,115	25,74-65,66	7,370	96	1,743	0,944	6	1,928	0,932	4,274	3,82
7	2° derivada	2:5:5:1	NONE	45,004	25,74-65,66	7,222	94	0,910	0,984	9	1,458	0,960	3,240	4,95
8	2° derivada	2:8:8:1	NONE	45,223	25,74-65,66	7,247	93	0,753	0,989	12	1,366	0,965	3,021	5,31
9	2° derivada	2:12:12:1	NONE	45,115	25,74-65,66	7,284	94	0,971	0,982	11	1,496	0,958	3,316	4,87
10	Sin derivada	0:0:5:1	SNV-D	44,774	25,74-61,39	7,017	95	1,700	0,941	8	2,020	0,918	4,512	3,47
11	Sin derivada	0:0:8:1	SNV-D	44,774	25,74-61,39	7,017	95	1,707	0,941	8	2,014	0,918	4,498	3,48
12	Sin derivada	0:0:12:1	SNV-D	44,774	25,74-61,39	7,017	95	1,695	0,942	8	2,014	0,918	4,498	3,48
13	1° derivada	1:5:5:1	SNV-D	44,707	25,74-61,39	6,986	93	1,101	0,975	9	1,734	0,939	3,879	4,03
14	1° derivada	1:8:8:1	SNV-D	45,048	25,74-65,66	7,340	98	1,762	0,942	7	2,105	0,919	4,673	3,49
15	1° derivada	1:12:12:1	SNV-D	45,048	25,74-65,66	7,340	98	1,865	0,935	7	2,150	0,915	4,773	3,41
16	2° derivada	2:5:5:1	SNV-D	44,947	25,74-65,66	7,300	95	1,139	0,976	7	1,603	0,952	3,566	4,55
17	2° derivada	2:8:8:1	SNV-D	45,130	25,74-65,66	7,333	97	1,460	0,960	6	1,807	0,940	4,004	4,06
18	2° derivada	2:12:12:1	SNV-D	45,202	25,74-65,66	7,337	96	1,493	0,959	6	1,738	0,944	3,845	4,22

CM: Corrección matemática, Mean: Promedio de los valores de Laboratorio, SD: Desviación estándar, N°M: Número de muestras en el set de calibración, SEC: Error estándar de calibración; R²: Coeficiente de determinación de calibración, Ntec: Número de términos en la ecuación, SECV: Error estándar de validación cruzada; 1-VR: Coeficiente de determinación de predicción, CV: Coeficiente de variación y SD/SECV: relación entre SD y SECV.

ANEXO 4. Tratamientos matemáticos de corrección y diferenciación espectral usados en la determinación de ecuaciones para Nitrógeno Insoluble en Detergente Neutro (%).

N°	DIFERENCIACION	CM	MEAN	RANGO	SD	N°M	SEC	R ²	Ntec	SECV	1-VR	CV	SD/SECV	
1	Sin derivada	0:0:5:1	NONE	0,737	0,21-1,43	0,307	91	0,078	0,936	7	0,087	0,920	11,805	3,53
2	Sin derivada	0:0:8:1	NONE	0,737	0,21-1,43	0,307	91	0,078	0,936	7	0,087	0,920	11,805	3,53
3	Sin derivada	0:0:12:1	NONE	0,733	0,21-1,43	0,306	91	0,080	0,932	6	0,088	0,919	12,005	3,48
4	1° derivada	1:5:5:1	NONE	0,737	0,21-1,43	0,304	93	0,085	0,922	5	0,101	0,891	13,704	3,01
5	1° derivada	1:8:8:1	NONE	0,737	0,21-1,43	0,304	93	0,085	0,921	5	0,101	0,891	13,704	3,01
6	1° derivada	1:12:12:1	NONE	0,737	0,21-1,43	0,304	93	0,083	0,926	6	0,104	0,884	14,111	2,92
7	2° derivada	2:5:5:1	NONE	0,743	0,21-1,43	0,311	93	0,061	0,961	6	0,089	0,919	11,978	3,49
8	2° derivada	2:8:8:1	NONE	0,744	0,21-1,43	0,309	94	0,065	0,955	7	0,094	0,908	12,634	3,29
9	2° derivada	2:12:12:1	NONE	0,744	0,21-1,43	0,309	94	0,071	0,948	7	0,098	0,901	13,172	3,15
10	Sin derivada	0:0:5:1	SNV-D	0,744	0,21-1,43	0,309	94	0,103	0,888	3	0,112	0,870	15,054	2,76
11	Sin derivada	0:0:8:1	SNV-D	0,744	0,21-1,43	0,309	94	0,103	0,889	3	0,112	0,870	15,054	2,76
12	Sin derivada	0:0:12:1	SNV-D	0,744	0,21-1,43	0,309	94	0,103	0,889	3	0,112	0,870	15,054	2,76
13	1° derivada	1:5:5:1	SNV-D	0,740	0,21-1,43	0,311	92	0,065	0,956	10	0,105	0,887	14,189	2,96
14	1° derivada	1:8:8:1	SNV-D	0,740	0,21-1,43	0,311	92	0,065	0,956	10	0,106	0,885	14,324	2,93
15	1° derivada	1:12:12:1	SNV-D	0,740	0,21-1,43	0,311	92	0,062	0,961	12	0,103	0,892	13,919	3,02
16	2° derivada	2:5:5:1	SNV-D	0,737	0,21-1,43	0,304	93	0,071	0,946	6	0,104	0,884	14,111	2,92
17	2° derivada	2:8:8:1	SNV-D	0,737	0,21-1,43	0,306	92	0,073	0,944	6	0,098	0,899	13,297	3,12
18	2° derivada	2:12:12:1	SNV-D	0,734	0,21-1,43	0,307	91	0,066	0,954	8	0,096	0,903	13,079	3,20

CM: Corrección matemática, Mean: Promedio de los valores de Laboratorio, SD: Desviación estándar, N°M: Número de muestras en el set de calibración, SEC: Error estándar de calibración; R²: Coeficiente de determinación de calibración, Ntec: Número de términos en la ecuación, SECV: Error estándar de validación cruzada; 1-VR: Coeficiente de determinación de predicción, CV: Coeficiente de variación y SD/SECV: relación entre SD y SECV.

ANEXO 5. Tratamientos matemáticos de corrección y diferenciación espectral usados en la determinación de ecuaciones para Fibra Detergente Acido (%).

N°	DIFERENCIACION		CM	MEAN	RANGO	SD	N°M	SEC	R ²	Ntec	SECV	1-VR	CV	SD/SECV
1	Sin derivada	0:0:5:1	NONE	26,312	16,27-37,58	4,531	96	1,220	0,928	12	1,497	0,892	5,689	3,03
2	Sin derivada	0:0:8:1	NONE	26,312	16,27-37,58	4,531	96	1,228	0,927	12	1,494	0,893	5,678	3,03
3	Sin derivada	0:0:12:1	NONE	26,324	16,27-37,58	4,554	95	1,195	0,931	12	1,443	0,901	5,482	3,16
4	1° derivada	1:5:5:1	NONE	26,336	16,27-37,58	4,514	97	1,299	0,917	5	1,422	0,902	5,399	3,17
5	1° derivada	1:8:8:1	NONE	26,369	16,27-37,58	4,526	96	1,263	0,922	5	1,381	0,908	5,237	3,28
6	1° derivada	1:12:12:1	NONE	26,369	16,27-37,58	4,526	96	1,264	0,922	5	1,381	0,908	5,237	3,28
7	2° derivada	2:5:5:1	NONE	26,348	16,27-37,58	4,536	96	1,005	0,951	6	1,293	0,920	4,907	3,51
8	2° derivada	2:8:8:1	NONE	26,348	16,27-37,58	4,536	96	0,972	0,954	7	1,292	0,920	4,904	3,51
9	2° derivada	2:12:12:1	NONE	26,350	16,27-37,58	4,560	95	1,002	0,952	7	1,301	0,920	4,937	3,50
10	Sin derivada	0:0:5:1	SNV-D	26,336	16,27-37,58	4,514	97	1,304	0,917	8	1,596	0,877	6,060	2,83
11	Sin derivada	0:0:8:1	SNV-D	26,336	16,27-37,58	4,514	97	1,302	0,917	8	1,583	0,879	6,011	2,85
12	Sin derivada	0:0:12:1	SNV-D	26,336	16,27-37,58	4,514	97	1,313	0,915	8	1,584	0,878	6,015	2,85
13	1° derivada	1:5:5:1	SNV-D	26,336	16,27-37,58	4,514	97	1,315	0,915	5	1,534	0,886	5,825	2,94
14	1° derivada	1:8:8:1	SNV-D	26,369	16,27-37,58	4,526	96	1,310	0,916	5	1,500	0,892	5,688	3,02
15	1° derivada	1:12:12:1	SNV-D	26,369	16,27-37,58	4,526	96	1,323	0,915	5	1,507	0,891	5,715	3,00
16	2° derivada	2:5:5:1	SNV-D	26,386	16,27-37,58	4,545	95	0,763	0,972	8	1,198	0,932	4,540	3,79
17	2° derivada	2:8:8:1	SNV-D	26,348	16,27-37,58	4,536	96	0,873	0,963	8	1,286	0,921	4,881	3,53
18	2° derivada	2:12:12:1	SNV-D	26,348	16,27-37,58	4,536	96	0,924	0,958	9	1,314	0,917	4,987	3,45

CM: Corrección matemática, Mean: Promedio de los valores de Laboratorio, SD: Desviación estándar, N°M: Número de muestras en el set de calibración, SEC: Error estándar de calibración; R²: Coeficiente de determinación de calibración, Ntec: Número de términos en la ecuación, SECV: Error estándar de validación cruzada; 1-VR: Coeficiente de determinación de predicción, CV: Coeficiente de variación y SD/SECV: relación entre SD y SECV.

ANEXO 6. Tratamientos matemáticos de corrección y diferenciación espectral usados en la determinación de ecuaciones para Ceniza Total (%).

N°	DIFERENCIACION		CM	MEAN	RANGO	SD	N°M	SEC	R ²	Ntec	SECV	1-VR	CV	SD/SECV
1	Sin derivada	0:0:5:1	NONE	10,088	7,09-17,11	1,800	93	0,721	0,839	10	0,877	0,771	8,693	2,05
2	Sin derivada	0:0:8:1	NONE	10,088	7,09-17,11	1,800	93	0,722	0,839	10	0,879	0,770	8,713	2,05
3	Sin derivada	0:0:12:1	NONE	10,071	7,09-17,11	1,803	92	0,694	0,852	11	0,859	0,782	8,529	2,10
4	1° derivada	1:5:5:1	NONE	10,046	7,09-17,11	1,787	96	0,740	0,828	6	0,931	0,736	9,267	1,92
5	1° derivada	1:8:8:1	NONE	10,046	7,09-17,11	1,787	96	0,752	0,823	6	0,926	0,739	9,218	1,93
6	1° derivada	1:12:12:1	NONE	10,077	7,09-17,11	1,793	94	0,685	0,854	8	0,879	0,768	8,723	2,04
7	2° derivada	2:5:5:1	NONE	9,972	7,09-15,05	1,641	95	0,702	0,817	5	0,959	0,669	9,617	1,71
8	2° derivada	2:8:8:1	NONE	9,972	7,09-15,05	1,641	95	0,743	0,795	5	0,956	0,670	9,587	1,72
9	2° derivada	2:12:12:1	NONE	10,046	7,09-17,11	1,787	96	0,768	0,816	5	0,949	0,726	9,447	1,88
10	Sin derivada	0:0:5:1	SNV-D	9,986	7,09-15,05	1,638	96	0,854	0,728	7	1,061	0,594	10,625	1,54
11	Sin derivada	0:0:8:1	SNV-D	10,043	7,09-17,11	1,785	96	0,883	0,755	7	1,025	0,681	10,206	1,74
12	Sin derivada	0:0:12:1	SNV-D	9,986	7,09-15,05	1,638	96	0,870	0,718	7	1,062	0,593	10,635	1,54
13	1° derivada	1:5:5:1	SNV-D	9,972	7,09-15,05	1,641	95	0,764	0,783	5	0,938	0,683	9,406	1,75
14	1° derivada	1:8:8:1	SNV-D	9,972	7,09-15,05	1,641	95	0,776	0,776	5	0,945	0,678	9,477	1,74
15	1° derivada	1:12:12:1	SNV-D	10,046	7,09-17,11	1,787	96	0,807	0,796	5	0,982	0,706	9,775	1,82
16	2° derivada	2:5:5:1	SNV-D	10,029	7,09-17,11	1,735	92	0,354	0,958	10	0,694	0,845	6,920	2,50
17	2° derivada	2:8:8:1	SNV-D	10,013	7,09-17,11	1,732	93	0,451	0,932	10	0,726	0,830	7,251	2,39
18	2° derivada	2:12:12:1	SNV-D	10,078	7,09-17,11	1,787	94	0,476	0,929	12	0,819	0,795	8,127	2,18

CM: Corrección matemática, Mean: Promedio de los valores de Laboratorio, SD: Desviación estándar, N°M: Número de muestras en el set de calibración, SEC: Error estándar de calibración; R²: Coeficiente de determinación de calibración, Ntec: Número de términos en la ecuación, SECV: Error estándar de validación cruzada; 1-VR: Coeficiente de determinación de predicción, CV: Coeficiente de variación y SD/SECV: relación entre SD y SECV.

ANEXO 7. Tratamientos matemáticos de corrección y diferenciación espectral usados en la determinación de ecuaciones para Extracto Etéreo (%).

N°	DIFERENCIACION		CM	MEAN	RANGO	SD	N°M	SEC	R ²	Ntec	SECV	1-VR	CV	SD/SECV
1	Sin derivada	0:0:5:1	NONE	2,891	1,52-5,03	0,729	88	0,249	0,883	12	0,355	0,763	12,279	2,05
2	Sin derivada	0:0:8:1	NONE	2,886	1,52-5,03	0,727	89	0,321	0,805	10	0,404	0,690	13,999	1,80
3	Sin derivada	0:0:12:1	NONE	2,845	1,52-4,85	0,669	86	0,230	0,882	12	0,295	0,807	10,369	2,27
4	1° derivada	1:5:5:1	NONE	2,826	1,52-4,85	0,666	89	0,229	0,882	8	0,305	0,792	10,793	2,18
5	1° derivada	1:8:8:1	NONE	2,797	1,52-4,44	0,633	89	0,210	0,890	10	0,277	0,808	9,903	2,29
6	1° derivada	1:12:12:1	NONE	2,819	1,52-4,85	0,665	90	0,235	0,875	9	0,323	0,767	11,458	2,06
7	2° derivada	2:5:5:1	NONE	2,861	1,52-5,03	0,697	89	0,226	0,895	6	0,313	0,799	10,940	2,23
8	2° derivada	2:8:8:1	NONE	2,861	1,52-5,03	0,697	89	0,237	0,885	6	0,307	0,806	10,731	2,27
9	2° derivada	2:12:12:1	NONE	2,836	1,52-4,85	0,680	91	0,260	0,853	7	0,320	0,780	11,283	2,13
10	Sin derivada	0:0:5:1	SNV-D	2,837	1,52-4,85	0,676	92	0,325	0,768	8	0,385	0,678	13,571	1,76
11	Sin derivada	0:0:8:1	SNV-D	2,837	1,52-4,85	0,676	92	0,326	0,767	8	0,383	0,681	13,500	1,77
12	Sin derivada	0:0:12:1	SNV-D	2,837	1,52-4,85	0,676	92	0,327	0,766	8	0,381	0,685	13,430	1,77
13	1° derivada	1:5:5:1	SNV-D	2,845	1,52-4,85	0,695	90	0,202	0,915	10	0,300	0,815	10,545	2,32
14	1° derivada	1:8:8:1	SNV-D	2,832	1,52-4,85	0,667	88	0,215	0,896	9	0,283	0,821	9,993	2,36
15	1° derivada	1:12:12:1	SNV-D	2,836	1,52-4,85	0,680	91	0,233	0,883	11	0,323	0,775	11,389	2,11
16	2° derivada	2:5:5:1	SNV-D	2,865	1,52-5,03	0,716	91	0,226	0,900	7	0,343	0,770	11,972	2,09
17	2° derivada	2:8:8:1	SNV-D	2,886	1,52-5,03	0,709	89	0,260	0,865	6	0,320	0,795	11,088	2,22
18	2° derivada	2:12:12:1	SNV-D	2,876	1,52-4,85	0,662	88	0,270	0,834	6	0,316	0,773	10,987	2,09

CM: Corrección matemática, Mean: Promedio de los valores de Laboratorio, SD: Desviación estándar, N°M: Número de muestras en el set de calibración, SEC: Error estándar de calibración; R²: Coeficiente de determinación de calibración, Ntec: Número de términos en la ecuación, SECV: Error estándar de validación cruzada; 1-VR: Coeficiente de determinación de predicción, CV: Coeficiente de variación y SD/SECV: relación entre SD y SECV.

ANEXO 8. Tratamientos matemáticos de corrección y diferenciación espectral usados en la determinación de ecuaciones para Carbohidratos Solubles (g kg⁻¹ MS).

N°	DIFERENCIACION		CM	MEAN	RANGO	SD	N°M	SEC	R ²	Ntec	SECV	1-VR	CV	SD/SECV
1	Sin derivada	0:0:5:1	NONE	51,569	18,49-108,1	21,551	86	7,945	0,864	9	8,606	0,841	16,688	2,50
2	Sin derivada	0:0:8:1	NONE	51,569	18,49-108,1	21,551	86	7,979	0,863	9	8,664	0,838	16,801	2,49
3	Sin derivada	0:0:12:1	NONE	51,569	18,49-108,1	21,551	86	7,743	0,871	9	8,591	0,841	16,659	2,51
4	1° derivada	1:5:5:1	NONE	51,546	19-108,1	21,342	87	6,702	0,901	7	8,069	0,857	15,654	2,64
5	1° derivada	1:8:8:1	NONE	51,171	18,49-108,1	21,510	88	6,987	0,894	7	8,383	0,848	16,382	2,57
6	1° derivada	1:12:12:1	NONE	50,924	18,49-108,1	20,940	86	6,377	0,907	7	7,612	0,867	14,948	2,75
7	2° derivada	2:5:5:1	NONE	50,981	18,49-108,1	21,462	89	5,453	0,935	8	8,654	0,838	16,975	2,48
8	2° derivada	2:8:8:1	NONE	50,623	18,49-108,1	21,007	87	4,926	0,945	8	7,505	0,872	14,825	2,80
9	2° derivada	2:12:12:1	NONE	51,129	18,49-108,1	21,631	87	6,107	0,920	8	8,220	0,856	16,077	2,63
10	Sin derivada	0:0:5:1	SNV-D	51,171	18,49-108,1	21,510	88	7,359	0,883	8	8,788	0,833	17,174	2,45
11	Sin derivada	0:0:8:1	SNV-D	51,171	18,49-108,1	21,510	88	7,375	0,882	8	8,792	0,833	17,182	2,45
12	Sin derivada	0:0:12:1	SNV-D	51,171	18,49-108,1	21,510	88	7,390	0,882	8	8,758	0,834	17,115	2,46
13	1° derivada	1:5:5:1	SNV-D	51,171	18,49-108,1	21,510	88	6,884	0,898	6	8,661	0,838	16,926	2,48
14	1° derivada	1:8:8:1	SNV-D	51,350	19-108,1	21,299	88	7,284	0,883	6	8,671	0,835	16,886	2,46
15	1° derivada	1:12:12:1	SNV-D	51,350	19-108,1	21,299	88	7,378	0,880	6	8,817	0,829	17,170	2,42
16	2° derivada	2:5:5:1	SNV-D	50,623	18,49-108,1	21,007	87	3,900	0,966	9	6,990	0,889	13,808	3,01
17	2° derivada	2:8:8:1	SNV-D	50,623	18,49-108,1	21,007	87	4,100	0,962	10	7,133	0,884	14,090	2,95
18	2° derivada	2:12:12:1	SNV-D	50,623	18,49-108,1	21,007	87	4,592	0,952	10	7,450	0,874	14,717	2,82

CM: Corrección matemática, Mean: Promedio de los valores de Laboratorio, SD: Desviación estándar, N°M: Número de muestras en el set de calibración, SEC: Error estándar de calibración; R²: Coeficiente de determinación de calibración, Ntec: Número de términos en la ecuación, SECV: Error estándar de validación cruzada; 1-VR: Coeficiente de determinación de predicción, CV: Coeficiente de variación y SD/SECV: relación entre SD y SECV.

ANEXO 9. Tratamientos matemáticos de corrección y diferenciación espectral usados en la determinación de ecuaciones para Materia Orgánica Digestible (%), Valor *D*.

N°	DIFERENCIACION		CM	MEAN	RANGO	SD	N°M	SEC	R ²	Ntec	SECV	1-VR	CV	SD/SECV
1	Sin derivada	0:0:5:1	NONE	72,457	57,57-83,11	5,744	93	2,012	0,877	9	2,414	0,824	3,332	2,38
2	Sin derivada	0:0:8:1	NONE	72,457	57,57-83,11	5,744	93	2,016	0,877	9	2,417	0,823	3,336	2,38
3	Sin derivada	0:0:12:1	NONE	72,214	56,34-83,11	5,994	94	2,505	0,825	5	2,762	0,788	3,825	2,17
4	1° derivada	1:5:5:1	NONE	72,293	56,34-83,11	5,950	94	2,160	0,868	4	2,370	0,842	3,278	2,51
5	1° derivada	1:8:8:1	NONE	72,267	56,34-83,11	5,924	95	2,276	0,852	4	2,460	0,828	3,404	2,41
6	1° derivada	1:12:12:1	NONE	72,408	56,34-83,11	5,876	93	2,112	0,871	4	2,319	0,844	3,203	2,53
7	2° derivada	2:5:5:1	NONE	72,293	56,34-83,11	5,950	94	2,082	0,878	4	2,337	0,846	3,233	2,55
8	2° derivada	2:8:8:1	NONE	72,293	56,34-83,11	5,950	94	2,102	0,875	4	2,340	0,846	3,237	2,54
9	2° derivada	2:12:12:1	NONE	72,408	56,34-83,11	5,876	93	2,076	0,875	4	2,317	0,845	3,200	2,54
10	Sin derivada	0:0:5:1	SNV-D	72,307	56,34-83,11	5,877	97	2,604	0,804	4	2,859	0,764	3,954	2,06
11	Sin derivada	0:0:8:1	SNV-D	72,307	56,34-83,11	5,877	97	2,606	0,803	4	2,861	0,764	3,957	2,05
12	Sin derivada	0:0:12:1	SNV-D	72,307	56,34-83,11	5,877	97	2,610	0,803	4	2,870	0,762	3,969	2,05
13	1° derivada	1:5:5:1	SNV-D	72,659	58,80-83,11	5,512	94	1,939	0,876	6	2,329	0,822	3,205	2,37
14	1° derivada	1:8:8:1	SNV-D	72,659	58,80-83,11	5,512	94	1,956	0,874	6	2,335	0,821	3,214	2,36
15	1° derivada	1:12:12:1	SNV-D	72,659	58,80-83,11	5,512	94	1,983	0,871	6	2,368	0,816	3,259	2,33
16	2° derivada	2:5:5:1	SNV-D	72,500	57,57-83,11	5,697	95	2,088	0,866	4	2,423	0,819	3,342	2,35
17	2° derivada	2:8:8:1	SNV-D	72,433	57,57-83,11	5,690	94	1,438	0,936	9	2,223	0,848	3,069	2,56
18	2° derivada	2:12:12:1	SNV-D	72,465	56,34-83,11	5,739	95	2,399	0,825	3	2,713	0,777	3,744	2,12

CM: Corrección matemática, Mean: Promedio de los valores de Laboratorio, SD: Desviación estándar, N°M: Número de muestras en el set de calibración, SEC: Error estándar de calibración; R²: Coeficiente de determinación de calibración, Ntec: Número de términos en la ecuación, SECV: Error estándar de validación cruzada; 1-VR: Coeficiente de determinación de predicción, CV: Coeficiente de variación y SD/SECV: relación entre SD y SECV.

ANEXO 10. Tratamientos matemáticos de corrección y diferenciación espectral usados en la determinación de ecuaciones para Energía Metabolizable (Mj kg⁻¹ MS).

N°	DIFERENCIACION		CM	MEAN	RANGO	SD	N°M	SEC	R ²	Ntec	SECV	1-VR	CV	SD/SECV
1	Sin derivada	0:0:5:1	NONE	11,020	9,00-12,47	0,781	93	0,274	0,877	9	0,329	0,823	2,985	2,37
2	Sin derivada	0:0:8:1	NONE	11,020	9,00-12,47	0,781	93	0,275	0,876	9	0,329	0,823	2,985	2,37
3	Sin derivada	0:0:12:1	NONE	10,987	8,83-12,47	0,815	94	0,341	0,825	5	0,376	0,787	3,422	2,17
4	1° derivada	1:5:5:1	NONE	10,998	8,83-12,47	0,809	94	0,294	0,868	4	0,323	0,841	2,937	2,50
5	1° derivada	1:8:8:1	NONE	10,994	8,83-12,47	0,806	95	0,310	0,852	4	0,335	0,828	3,047	2,41
6	1° derivada	1:12:12:1	NONE	11,014	8,83-12,47	0,799	93	0,288	0,870	4	0,316	0,844	2,869	2,53
7	2° derivada	2:5:5:1	NONE	10,998	8,83-12,47	0,809	94	0,283	0,877	4	0,318	0,846	2,891	2,54
8	2° derivada	2:8:8:1	NONE	10,998	8,83-12,47	0,809	94	0,286	0,875	4	0,319	0,846	2,901	2,54
9	2° derivada	2:12:12:1	NONE	11,014	8,83-12,47	0,799	93	0,283	0,875	4	0,315	0,844	2,860	2,54
10	Sin derivada	0:0:5:1	SNV-D	11,000	8,83-12,47	0,799	97	0,355	0,803	4	0,389	0,764	3,536	2,05
11	Sin derivada	0:0:8:1	SNV-D	11,000	8,83-12,47	0,799	97	0,355	0,803	4	0,390	0,763	3,545	2,05
12	Sin derivada	0:0:12:1	SNV-D	11,000	8,83-12,47	0,799	97	0,355	0,802	4	0,391	0,762	3,555	2,04
13	1° derivada	1:5:5:1	SNV-D	11,048	9,16-12,47	0,750	94	0,264	0,876	6	0,317	0,821	2,869	2,37
14	1° derivada	1:8:8:1	SNV-D	11,048	9,16-12,47	0,750	94	0,266	0,874	6	0,318	0,821	2,878	2,36
15	1° derivada	1:12:12:1	SNV-D	11,048	9,16-12,47	0,750	94	0,270	0,870	6	0,322	0,815	2,915	2,33
16	2° derivada	2:5:5:1	SNV-D	11,026	9,00-12,47	0,775	95	0,284	0,865	4	0,330	0,819	2,993	2,35
17	2° derivada	2:8:8:1	SNV-D	11,017	9,00-12,47	0,774	94	0,196	0,936	9	0,303	0,848	2,750	2,55
18	2° derivada	2:12:12:1	SNV-D	11,021	8,83-12,47	0,781	95	0,327	0,825	3	0,369	0,776	3,348	2,12

CM: Corrección matemática, Mean: Promedio de los valores de Laboratorio, SD: Desviación estándar, N°M: Número de muestras en el set de calibración, SEC: Error estándar de calibración; R²: Coeficiente de determinación de calibración, Ntec: Número de términos en la ecuación, SECV: Error estándar de validación cruzada; 1-VR: Coeficiente de determinación de predicción, CV: Coeficiente de variación y SD/SECV: relación entre SD y SECV.