

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA DE AGRONOMIA

**PREDICCIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE ALIMENTOS SECOS
PARA PERROS UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA DE REFLECTANCIA EN
EL INFRARROJO CERCANO (NIRS).**

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

DANITZA XIMENA ABARZÚA BENÍTEZ

VALDIVIA-CHILE

2006

PROFESOR PATROCINANTE:

Daniel Alomar Carrió
Ing. Agr., M. Sc.

PROFESORES INFORMANTES:

Suzanne Hodgkinson
B. Sc., M. Sc., Ph. D.

Luís Latrille Lanas
Ing. Agr., M. Sc., Ph. D.

DEDICADA A MI PAPÁ, MAMÁ Y HERMANA

AGRADECIMIENTOS

Al finalizar esta importante y hermosa etapa de mi vida quiero agradecer a todas aquellas personas que estuvieron junto a mí.

En primer lugar agradecer a mi profesor patrocinante Don Daniel Alomar, por su paciencia constante apoyo y excelente disposición durante todo este proceso.

A todas las personas que trabajan en el Laboratorio de Nutrición Animal, en especial a la Sra. Rita Fuchslocher por el gran apoyo y facilidades brindadas durante este periodo. También agradecer a Leonie, Sra. Susana, Sra. Marta y Ximena por sus consejos y constante preocupación.

No puedo dejar de mencionar a dos personas muy importantes que me acompañaron durante este proceso, Lorena y Christian, gracias por sus consejos y ayuda entregada.

Y por supuesto a mis Grandes Amigos, con los que compartí inolvidables momentos durante todos estos años de estudio.

INDICE DE MATERIAS

Capítulo		Página
1	INTRODUCCIÓN	1
2	REVISION BIBLIOGRAFICA	3
2.1	Espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano NIRS	3
2.1.1	Historia de la tecnología NIRS	4
2.1.2	Región del infrarrojo	4
2.1.3	Bases del método	5
2.1.4	Instrumentación NIRS	6
2.1.5	Colección de los espectros	7
2.1.6	Manejo de datos espectrales	7
2.1.7	Desarrollo de calibración	8
2.1.8	Transformaciones matemáticas de los datos	8
2.1.9	Métodos de regresión	9
2.1.10	Muestras aberrantes outliers	10
2.2	Criterio de selección de ecuaciones	10
3	MATERIAL Y METODO	12
3.1	Financiamiento y lugar de trabajo	12
3.2	Materiales	12
3.3	Análisis y determinaciones	13
3.4	Muestreo y manejo de las muestras	13
3.5	Análisis químicos de referencia	14
3.6	Desarrollo de calibraciones	16
3.6.1	Tratamientos matemáticos	16

Capítulo		Página
3.6.2	Métodos de regresión	16
3.6.3	Muestras aberrantes u outliers	16
3.7	Criterio de selección de ecuaciones	17
4	PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	18
4.1	Características del conjunto de muestras utilizadas	18
4.2	Descripción de los espectros	20
4.3	Desarrollo y calibración de ecuaciones	21
4.3.1	Materia seca	22
4.3.2	Fibra cruda	24
4.3.3	Energía bruta	25
4.3.4	Energía metabolizable	27
4.3.5	Proteína bruta	29
4.3.6	Arginina	30
4.3.7	Histidina	31
4.3.8	Isoleucina	33
4.3.9	Leucina	35
4.3.10	Lisina	36
4.3.11	Metionina – Cisteína	37
4.3.12	Fenilalanina - Tirosina	39
4.3.13	Treonina	41
4.3.14	Triptófano	42
4.3.15	Valina	43
4.3.16	Lípidos	45
4.3.17	Ácido linoleico	46
4.3.18	Minerales	47

Capítulo		Página
5	CONCLUSIONES	50
6	RESUMEN	52
	SUMMARY	54
7	BIBLIOGRAFIA	56
8	ANEXOS	60

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Bandas de enlaces en alimentos	6
2	Análisis químico de referencia	14
3	Características químicas de alimentos secos para adultos y cachorros usadas para realizar la calibración	19
4	Mejores ecuaciones obtenidas para materia seca	22
5	Mejores ecuaciones obtenidas para fibra cruda	24
6	Mejores ecuaciones obtenidas para energía bruta	26
7	Mejores ecuaciones obtenidas para energía metabolizable	27
8	Mejores ecuaciones obtenidas para proteína bruta	29
9	Mejores ecuaciones obtenidas para arginina	31
10	Mejores ecuaciones obtenidas para histidina	32
11	Mejores ecuaciones obtenidas para isoleucina	33
12	Mejores ecuaciones obtenidas para leucina	35
13	Mejores ecuaciones obtenidas para lisina	37
14	Mejores ecuaciones obtenidas para metionina – cisteína	38
15	Mejores ecuaciones obtenidas para fenilalanina - tirosina	40
16	Mejores ecuaciones obtenidas para treonina	41
17	Mejores ecuaciones obtenidas para triptófano	42
18	Mejores ecuaciones obtenidas para valina	44
19	Mejores ecuaciones obtenidas para lípidos	45
20	Mejores ecuaciones obtenidas para ácido linoleico	46
21	Mejores ecuaciones obtenidas para macrominerales y microminerales	49

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Espectros de alimentos molidos (a) y alimentos enteros (b)	20
2	Espectros de alimentos molidos (a) y alimentos enteros (b) con tratamiento 1 -4 -4 -1, <i>SNV & Detrend</i> .	21
3	Relación existente entre valores de referencia (%) y predicho por NIRS (%) para materia seca (MS). a) Alimentos enteros, b) Alimentos molidos	24
4	Relación existente entre valores de referencia (%) y predicho por NIRS (%) para fibra cruda (FC). a) Alimentos enteros, b) Alimentos molidos	25
5	Relación existente entre valores de referencia (kcal/g) y predicho por NIRS (kcal/g) para energía bruta (EB). a) Alimentos enteros, b) Alimentos molidos	27
6	Relación existente entre valores de referencia (kcal/g) y predicho por NIRS (kcal/g) para energía metabolizable. a) Alimentos enteros, b) Alimentos molidos	28
7	Relación existente entre valores de referencia (%) y predicho por NIRS (%) para proteína bruta. a) Alimentos enteros, b) Alimentos molidos.	30
8	Relación existente entre valores de referencia (mg/100mg) y predicho por NIRS (mg/100mg) para arginina. a) Alimentos enteros, b) Alimentos molidos.	31
9	Relación existente entre valores de referencia (mg/100mg) y predicho por NIRS (mg/100mg) para histidina. a) Alimentos enteros, b) Alimentos molidos	33
10	Relación existente entre valores de referencia (mg/100mg) y predicho por NIRS (mg/100mg) para isoleucina. a) Alimentos enteros, b) Alimentos molidos	34

Figura		Página
11	Relación existente entre valores de referencia (mg/100mg) y predicho por NIRS (mg/100mg) para leucina. a) Alimentos enteros, b) Alimentos molidos.	36
12	Relación existente entre valores de referencia (mg/100mg) y predicho por NIRS (mg/100mg) para lisina. a) Alimentos enteros, b) Alimentos molidos.	37
13	Relación existente entre valores de referencia (mg/100mg) y predicho por NIRS (mg/100mg) para metionina-cisteína. a) Alimentos enteros, v) Alimentos molidos	39
14	Relación existente entre valores de referencia (mg/100mg) y predicho por NIRS (mg/100mg) para fenilalanina-tirosina. w) Alimentos enteros, b) Alimentos molidos.	40
15	Relación existente entre valores de referencia (mg/100mg) y predicho por NIRS (mg/100mg) para treonina. a) Alimentos enteros, b) Alimentos molidos	42
16	Relación existente entre valores de referencia (mg/g) y predicho por NIRS (mg/g) para triptófano. a) Alimentos enteros, b) Alimentos molidos	43
17	Relación existente entre valores de referencia (mg/100mg) y predicho por NIRS (mg/100mg) para valina. a) Alimentos enteros, b) Alimentos molidos	44
18	Relación existente entre valores de referencia (%) y predicho por NIRS (%) para lípidos. a) Alimentos enteros, b) Alimentos molidos.	46
19	Relación existente entre valores de referencia (%) y predicho por NIRS (%) para Ácido linoleico. a) Alimentos enteros, b) Alimentos molidos	47

INDICE DE ANEXOS

Anexo		Página
1	Listado de alimentos para perros adultos en etapa de mantención	61
2	Listado de alimentos para perros en etapa de crecimiento	61

1 INTRODUCCIÓN

Con el correr de los años la alimentación para perros ha ido incrementando su importancia en cuanto a su calidad nutricional, para entregar una ración completa y balanceada. Ya en 1860 James Spratt, lanzó al mercado un alimento completo para perros (en forma de galleta) (EDIVET, 2001). Desde entonces han aparecido diferentes empresas que se han encargado de crear nuevos alimentos extruidos con el fin de entregar una alimentación balanceada para perros.

En Chile, según datos de la FAO (2003), las importaciones de alimentos destinados a animales domésticos en el año 1990 fueron de 55 ton, aumentando a 35.000 ton en el año 2000, existiendo además un fuerte incremento de las industrias nacionales dirigidas a la fabricación de estos productos, lo que ha provocado una fuerte competencia entre las distintas empresas por entregar productos de buena calidad y precio para el consumidor. Debido a esto se comercializan muchos productos como alimentos completos para perros, los cuales probablemente no cumplen con la composición química adecuada para serlo, motivo por el cual se deben realizar análisis químicos para poder determinar con certeza su composición.

Producto de esto se ha incorporado, además del análisis químico tradicional, la posibilidad de usar una nueva técnica más rápida para estimar la composición química, que es la espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS).

La hipótesis general que se plantea en este estudio es que la espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) es una metodología apropiada para la predicción de la composición nutricional de alimentos para perros.

Debido a ello los objetivos son:

- Evaluar la capacidad de la técnica NIRS para predecir la composición nutricional de los alimentos para perros.
- Evaluar la posibilidad de desarrollar ecuaciones confiables para alimentos extruidos y alimentos molidos.
- Evaluar el resultado de los distintos tratamientos matemáticos en la calidad predictiva de las ecuaciones desarrolladas.

2 REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

2.1 Espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS)

NORRIS (1989), define la espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) como un método de análisis instrumental que permite medir rápidamente la composición química de muestras con una mínima o nula preparación. Se fundamenta en que cada uno de los componentes químicos mayores como: proteína, carbohidratos estructurales y no estructurales y agua de una muestra de alimento presentan absorción en el infrarrojo.

La espectroscopia infrarroja ha llegado a ser una técnica muy importante en la determinación de la estructura molecular, por lo que sus aplicaciones de tipo analítico la han convertido en una herramienta necesaria en el laboratorio químico (MORCILLO, 1974).

Según Davies y Grant (1987), citados por BEYER (1997), la espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) es un método utilizado para analizar la calidad de alimentos y productos agrícolas por efecto de la luz que ellos reflejan. Esta técnica permite la predicción de la composición nutricional de una muestra basándose en una relación matemática, la cual ha sido establecida con anterioridad por medio de un computador, entre las características de reflexión o transmisión de la luz infrarroja, y él o los parámetros que se desee pronosticar.

En la producción animal, es muy importante conocer el contenido de nutrientes entregados en la dieta de los animales para mantener la salud y el bienestar de estos, y la espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano se presenta como un método eficiente para lograrlo (SHENK y WETERHAUS, 1994).

2.1.1 Historia de la tecnología NIRS. OSBORNE *et al*, (1993) señalan que la primera práctica con espectro NIR corresponde al año 1800 cuando Herschel realiza mediciones de la energía solar más allá de la fracción roja del espectro visible. Debido a esto, Herschel recibe un reconocimiento histórico, llamando infrarrojo de Herschel a la zona comprendida entre 780 y 1100 nm.

En la década de los 60, Karl Norris en Estados Unidos, utiliza por primera vez la tecnología NIRS para predecir el contenido de humedad en granos (ALOMAR, 1997).

Luego en los años 70 en este mismo país se comienza a utilizar la tecnología NIRS a escala industrial, siendo el pionero en el desarrollo de esta técnica, cuyas primeras aplicaciones fueron centradas en el análisis de cereales (NIRSOLUCIONES S.L., 2002). GARRIDO *et al* (1996), añaden que en esta década la tecnología NIRS comienza a vislumbrarse como una técnica viable y posteriormente en la década de los 80 y 90, gracias a las mejores instrumentaciones y software y particularmente a la expansión en el uso de equipos monocromadores, un número elevado de publicaciones muestran la precisión del NIRS para la predicción de parámetros como materia seca, energía, entre otros.

Con el correr de los años se ha ido aplicando a otros productos alimenticios y no alimenticios como los de la industria petroquímica; esto debido a que posee numerosas ventajas en comparación con otras técnicas de análisis tradicional, destacando fundamentalmente su rapidez, versatilidad y sobre todo por ser no contaminante y económica, ya que posibilita un importante ahorro en el costo analítico a las empresas (www.nirsoluciones.com/el%20dia.htm).

2.1.2 Región del infrarrojo. La región infrarroja es una determinada zona de la radiación electromagnética, ubicada más allá de la parte roja de la región visible. Ahora como toda radiación electromagnética, la radiación infrarroja es un movimiento ondulatorio, formado por un campo eléctrico oscilante, perpendicular a la dirección de

propagación, y un campo magnético oscilante, con la misma frecuencia y perpendicular al campo eléctrico. Por lo tanto, la radiación infrarroja puede caracterizarse tanto por esta frecuencia de oscilación, ν , como por la longitud de onda, λ (MORCILLO, 1974).

La región del infrarrojo se subdivide a su vez en tres regiones, la del infrarrojo cercano o próximo (NIR), infrarrojo medio o fundamental y la del infrarrojo lejano (MORCILLO, 1974).

El NIR, región cercana al infrarrojo, es parte del espectro electromagnético comprendido entre los 700 a 2500 nm, y es la porción del espectro en el cual las muestras observan una baja absorción comparada con otras regiones del infrarrojo (INIA LA ESTANZUELA, 2001). Esta región incluye absorciones moleculares de sobretono (700 a 1800 nm) y bandas combinadas (1800 a 2500 nm) (SHENK y WESTERHAUS, 1994). La baja absorción permite que la radiación infrarroja penetre muestras sin preparación, modificación o dilución. La radiación incidente provoca la vibración de los enlaces covalentes de las uniones C-H, O-H y N-H, (INIA LA ESTANZUELA, 2001).

2.1.3 Bases del método. Cuando la luz incide sobre una muestra (L_i), una parte de los fotones puede transmitirse a través de la muestra (L_t) y el resto es reflejado (L_r), o absorbido (L_a), por algunos enlaces covalentes que actúan como resortes oscilantes que se acoplan con la frecuencia (cm^{-1}) o longitud de onda (nm) exacta de la radiación lumínica. Al absorber energía, los enlaces de las moléculas vibran en dos formas fundamentales: se extienden, aumentando la distancia interatómica a lo largo del eje entre dos átomos (lo que ocurre a frecuencias más altas o menor longitud de onda); o se doblan (a frecuencias más bajas o mayor longitud de onda), cambiando el ángulo de enlace entre dos átomos (ALOMAR y FUCHSLOCHER, 1998).

Las vibraciones de extensión pueden ser simétricas o asimétricas y aquellas que producen pliegues, los pueden ocasionar dentro del plano, con movimiento de tijera y oscilaciones; o fuera de éste, en forma de coleteos y torcedoras (SHENK y

WESTERHAUS, 1994). La absorción es por lo tanto selectiva y depende de los grupos moleculares involucrados (composición química) y del tipo de radiación incidente (ALOMAR, 1997).

CUADRO 1. Bandas de enlaces en alimentos

Longitud de onda (nm)	Constituyente	Elementos relacionados
1200	Lipidos	C-H
1020	Proteínas	N-H
1440	Agua y Carbohidratos	O-H
1730	Lipidos	C-H
1780	Lipidos	C-H
1940	Agua	O-H
1980	Proteinas	N-H
2050	Proteinas	N-H
2080	Carbohidratos	O-H
2100	Carbohidratos	O-H
2180	Proteinas	C=O, N-H
2310	Lipidos	C-H
2320	Lipidos	C-H
2350	Lipidos	C-H

FUENTE: OSBORNE *et al.*, (1993).

En el Cuadro 1, se presentan algunas bandas (longitud de onda) de absorción de los principales componentes orgánicos en los alimentos y los enlaces tentativos que los representan (OSBORNE *et al.*, 1993).

2.1.4 Instrumentación NIRS. MORCILLO (1974), señala que la instrumentación fundamental del mecanismo son: una fuente emisora de radiación (lámpara), un sistema dispersor de la radiación, el que individualiza las longitudes de onda, y detectores que miden las variaciones térmicas de la radiación reflejada desde la muestra transformándola en una señal amplificada y digitalizada, que es almacenada en un registro grafico en un computador.

De acuerdo a lo indicado por ALOMAR y FUCHSLOCHER (1998), existen tres tipos de instrumentos: filtros fijos o de interferencia, filtros inclinables y

monocromadores de barrido. Los instrumentos de filtros fijos se basan en el uso de filtros especiales que al ser iluminados por la fuente emisora, sólo dejan pasar una longitud de onda. Estos filtros llevan entre 6 a 20 filtros montados en un dispositivo que permite cambiar la posición y generar una longitud de onda específica. Son equipos útiles para análisis de rutina de sustancias poco complejas. Los instrumentos de filtros inclinables poseen entre 3 y 7 filtros, montados en un eje que al girar provoca una inclinación del filtro, cambiando el ángulo de la luz incidente sobre él, lo que cambia la longitud de onda que pasa a través. Con este instrumento se puede generar rango de barrido continuo entre 1380 y 2380nm. Los monocromadores de barrido son la alternativa más apropiada para centros de investigación, debido a su versatilidad. Estos equipos utilizan, en lugar de filtros, una especie de prisma que provoca dispersión de la luz, generando diferentes longitudes de onda. Los modelos más avanzados permiten irradiar las muestras en el rango de 400 a 2.500nm, o sea desde el espectro visible hasta el final del infrarrojo cercano (NIR).

2.1.5 Colección de los espectros. La colección de espectros se realiza presentando la muestra al instrumento por medio de diferentes accesorios. SHENK y WESTERHAUS (1994), señalan varios métodos para la presentación de muestras; siendo dos las formas más utilizadas, de acuerdo a lo señalado por MURRAY, (1993), y estas son: celdas circulares con ventana de cuarzo las que son apropiadas para muestras secas, molidas, relativamente homogéneas; cubetas rectangulares, para muestras frescas enteras y con alta humedad.

2.1.6 Manejo de datos espectrales. Una vez que la muestra ha sido irradiada, los datos almacenados en la forma de $\log 1/R$ (microabsorbancia), se pueden someter a transformaciones, lo que permite reducir el efecto de tamaño de partícula de la muestra, destacar rasgos del espectro y facilitar el análisis de regresión. La transformación, por lo tanto, sirve para dos objetivos básicos: Reducir el “ruido” en los datos y aislar o destacar la información espectral que se pueda relacionar con los datos químicos (ALOMAR y FUCHSLOCHER, 1998).

2.1.7 Desarrollo de calibración. El propósito de la calibración es establecer una relación matemática entre el espectro NIR y los resultados de los análisis químicos tradicionales de las muestras (MURRAY, 1988). Para lo cual se necesita tener un conjunto amplio de muestras representativas de una misma población, coleccionar sus espectros, analizar las muestras mediante un método de referencia confiable, desarrollar las ecuaciones de calibración que relacionen los datos espectrales con los resultados del método de referencia y, por último, validar dichas ecuaciones con otras muestras de la misma población general que no forme parte del set de calibración (ALOMAR y FUCHSLOCHER, 1998).

2.1.8 Transformaciones matemáticas de los datos. Varias formas de transformaciones matemáticas son utilizadas en los datos de $\log 1/R$ para reducir las variaciones, debido principalmente a la preparación y presentación de la muestra (BARNES y DHANOA, 1988).

MURRAY (1988), señala que la derivada o sustracción centra el espectro para acercarlo a la línea cero y si se escoge el tamaño y distancia correcta del espectro que será derivado, es posible optimizar la información que será usada.

La primera derivada cambia los peak de absorción acortando las longitudes de onda dependiendo de la amplitud del peak. La segunda derivada produce una desviación de los peak de absorción al lado negativo, también aumenta el ruido por lo que se debe suavizar los datos, pero a pesar de esto, el porcentaje de ruido disminuye con cada derivación debido a la suavización de los datos (MURRAY, 1988).

La corrección multiplicativa por dispersión es una adición y multiplicación de términos para cada muestra, relacionada a un espectro de referencia definido (MURRAY, 1988).

2.1.9 Métodos de regresión. Los métodos utilizados son de regresión múltiple, divididos en aquellos que ocupan parte del espectro y los que utilizan todo el espectro para el desarrollo de las ecuaciones.

2.1.9.1 Regresión paso a paso. Aquí las distintas longitudes de ondas van siendo incorporadas de a una al modelo, seleccionándose aquellas que producen el mejor ajuste de los datos. El número de términos recomendado es de uno por cada 10 muestras de calibración, más dos o tres adicionales (Infrasoft Internacional (1995), citado por BEYER, 1997).

2.1.9.2 Regresiones con el espectro completo. Entre estos encontramos el Análisis de componentes principales (PCA); cuyo propósito es expresar la mayor información contenida en las variables iniciales dentro de un bajo número de variables o factores (GIVENS y DEAVILLE, 1999).

La regresión de componentes principales (PCR); es realizada mediante un análisis de componentes principales (PCA) reduciendo los datos espectrales, en este caso los valores de absorbancia a diferentes longitudes de ondas, a pequeños sets de variables independientes llamadas componentes principales. Estos, que son relacionados con los datos de referencia usando regresión múltiple, contienen información de todo el espectro (OSBORNE *et al.*, 1993; SHENK y WESTERHAUS, 1994).

Cuadrados mínimos parciales (PLS); consiste en un pequeño número de factores construidos como una combinación lineal de los datos espectrales originales y la regresión usa los factores marcados para derivar una ecuación de predicción. PCR construye factores que capturan la variación de los datos espectrales, pero no toma en cuenta si están relacionados o no con los datos de referencia, PLS construye estos factores usando un criterio que oscile entre estas dos propiedades deseables (OSBORNE *et al.*, 1993).

Cuadrados mínimos parciales modificados (MPLS); este método es una variante de los Cuadrados mínimos parciales (PLS), donde los residuales obtenidos, luego de que cada término es calculado, son estandarizados antes de calcular el siguiente factor, por lo que a menudo resulta más estable y exacto que PLS (SHENK y WESTERHAUS, 1994).

2.1.10 Muestras aberrantes (*outliers*). Corresponden a un grupo de muestras excluidas del conjunto de calibración (*outliers*); son muestras que no se ajustan a la calibración, debido a errores en el espectro o en el método de regresión, y otros son *outliers* porque fueron mal clasificados o porque el tratamiento matemático fue mal elegido para el ajuste de las muestras de calibración (GIVENS y DEAVILLE, 1999).

Pueden existir dos tipos de *outliers*: los *outliers* T y los *outliers* H (MURRAY, 1988), las muestras con altos valores T son aquellas con elevada divergencia entre los valores predichos y los de referencia y representan datos dudosos de laboratorio, y muestras con altos valores H indican que el espectro de la muestra no es típico del conjunto de calibración. Además, cuando ambos valores son altos para una muestra individual, debe ser removida del conjunto, colectando nuevamente el espectro y análisis de referencia (BARNES y DHANOA, 1988).

2.2 Criterio de selección de ecuaciones.

Para la selección de ecuaciones se realiza una evaluación de éstas a través de validación cruzada, dividiendo el set de calibración en 4 o más grupos, con lo que se genera una ecuación con 3 de ellos, para predecir el cuarto. Luego el proceso se repite hasta que todos los grupos han sido incluidos en la calibración y han sido predichos. En cada paso se calcula un R^2 y un error estándar, los que al final se promedian, para obtener el R^2 de validación cruzada (denominado 1-VR en el software utilizado) y el error estándar de validación cruzada (SECV). De los resultados obtenidos de los diferentes tratamientos matemáticos, se seleccionan aquellos que tengan un elevado coeficiente de determinación (1-VR), cuyo rango para ser aceptado debe estar lo más

cercano a 1; y un bajo error estándar de validación cruzada (SECV), considerándose aceptable un SECV menor o igual a un tercio de la desviación estándar de los valores de referencia. Cuando el coeficiente de determinación es igual para distintos tratamientos, se considera la relación desviación estándar y error estándar de validación cruzada (DS/SECV); cuyo valor, de acuerdo a lo señalado por COZZOLINO *et al*, (2003), para ser aceptado como una buena ecuación debe ser igual o superior a 3.

3 MATERIAL Y METODO

3.1 Financiamiento y lugar de trabajo

La presente Tesis de Grado es parte de un proyecto mayor financiado por FONDECYT titulado: *Determination of the chemical composition, energy and true protein digestibility of dry dog foods and their prediction using near infrared reflectance spectroscopy (NIRS)*. El trabajo de la tesis fue desarrollado en el Laboratorio de Nutrición Animal del Instituto de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agrarias, ubicado en la Universidad Austral de Chile.

La toma de los espectros fue realizada durante los meses de junio y julio del año 2003.

3.2 Materiales

Se evaluaron 59 muestras de alimentos secos para perros (ver Anexos 1 y 2), comercializados en Chile, los cuales fueron comprados en supermercados y farmacias veterinarias del rubro. Cada alimento fue evaluado en la forma extruida y después de ser molido.

Los materiales que se utilizaron para evaluar estas muestras fueron:

- un monocromador de barrido NIRSystems 6500
- cubeta de aluminio anodizado con ventana de cuarzo rectangular para forraje (de 20cm de largo), de superficie mayor para muestras enteras (módulo de transporte)
- cubetas de aluminio anodizado con ventana de cuarzo circulares de 35mm de diámetro y 10mm de profundidad (módulo de rotación)
- pinceles
- toallas de papel

3.3 Análisis y Determinaciones

Los análisis realizados fueron:

- Materia seca
- Proteína bruta
- Aminoácidos
- Energía metabolizable
- Energía bruta
- Fibra cruda
- Lípidos
- Minerales

3.4 Muestreo y manejo de las muestras

Para los alimentos extruidos de cada marca comercial se obtuvo una muestra de 300g, la que provenían de tres lotes diferentes, los que aportaron la misma cantidad a dicha muestra, luego fueron colocadas individualmente en bolsas de plástico con cierre hermético.

En el caso de los alimentos molidos, se obtuvo una muestra de 300g, que al igual que en los alimentos enteros provenían de tres lotes diferentes los que aportaron la misma cantidad a dicha muestra. Esta fue pasada por un molino con criba de 1mm. Posterior a esto se separaron en 5 submuestras homogéneas para realizar los análisis de proteína, aminoácidos, lípidos, minerales, materia seca, energía bruta y fibra cruda.

Para la toma de espectros, en primer lugar se extrajo homogéneamente una parte de muestra, se llenó completamente la cubeta de aluminio y luego los espectros se colectaron por reflectancia a través de un monocromador de barrido FOSS NIRSystem 6500, entre 400 y 2500 nm, manejado a través de un computador utilizando el programa WINISI 1.04 de Infracsoft International.

Para los alimentos extruidos se utilizó una cubeta de aluminio rectangular de superficie mayor para muestras enteras, de 20 cm de largo, y en el caso de los alimentos molidos se utilizó cubetas de aluminio circulares de 35mm de diámetro y 10mm de profundidad.

3.5 Análisis químico de referencia

Los análisis químicos realizados a los alimentos son los señalados por AAFCO (2002), que corresponden a materia seca, proteína bruta, energía bruta, aminoácidos, lípidos y minerales. La determinación de todos estos análisis, excepto aminoácidos, se realizó en laboratorios de la Universidad Austral de Chile. En el caso de los aminoácidos su determinación fue realizada en la Universidad de Massey, Nueva Zelanda.

CUADRO 2. Análisis químico de referencia.

ANALISIS	METODO	REFERENCIA
Materia seca (MS) %	Horno de ventilación forzada a 60°C 48 horas, estufa a 105°C por 12 horas.	BATEMAN (1970) AOAC 16ª Edición. 1996 Método 930.15
Proteína bruta (PB) % de MS	Micro Kjeldhal (Nitrógeno *6,25)	BATEMAN (1970)
Aminoácidos (Aá) % de MS (Arg),(His), (Ile), (Leu), (Lys), (Phe-Tyr), (Thr) y (Val).	Estas son hidrolizadas en 1 ml de HCl 6 M con 1 g de fenol/L en tubos de vidrio sellados al vacío, por 24 horas a 110 ± 2° C. Posteriormente la concentración de Aá se midió por intercambio iónico con cromatografía líquida de alta presión (HPLC), estos resultados fueron integrados, obteniendo así un área determinada bajo la curva. Los Aá fueron identificados por el tiempo de retención, lo que fue comparado con una muestra estándar de referencia.	
Aminoácidos (Aá) % de MS (Met-Cis)	Oxidación con 1 ml ácido per fórmico por 16 horas a 0°; posteriormente se determino por HPLC.	RUTHERFURD Y MOUGHAN (2000)
Aminoácidos % de MS (Tri)	Hidrólisis ácida con NaOH 4,2N en vacío, con posterior ajuste y clarificación de pH y separación por cromatografía de intercambio de iones.	AOAC (1995)

CUADRO 2. Análisis químico de referencia (Continuación)

ANALISIS	METODO	REFERENCIA
Energía bruta (EB) kcal/gr	Calorímetro de bomba de oxígeno	BATEMAN (1970) PARR INSTRUMENT COMPANY Manual N°142
Lípidos % de MS	Método gravimétrico para extracto etéreo. Esta es una variación de la metodología tradicional de extracto etéreo, donde se digiere 1g de muestra en ácido clorhídrico más etanol (digestión ácida).	AOAC (1995)
Ácido Linoleico % de MS	Cromatografía de gases.	CANTELLOPS <i>et al.</i> (1999)
Minerales (Ca, P, K, Na, Mg, Fe, Cu, Mn y Zn) % de MS o mg/kg de MS	Digestión vía húmeda con ácidos nítrico y perclórico - espectrofotómetro de absorción atómica.	AOAC 16ª Edición 1996. Método 975.03
Minerales (I y Cl) % de MS o mg/kg de MS	Extracción con hidróxido de tetrametilamonio (TMAH) y determinación por ICP-MS (Inductively coupled plasma-mass spectrometry).	FECHER <i>et al.</i> (1998)
Minerales (Se) % de MS o mg/kg de MS	Espectrofotometría de absorción atómica.	BRIMMER <i>et al.</i> , (1987) BRODIE (1985).
Minerales (P) % de MS o mg/kg de MS	Vanado-molibdico (colorimétrico)	AOAC (1970)
Fibra cruda (FC) % de MS	Digestión ácida y neutra	AOAC 16ª Edición 1996. Método 973.18
Cenizas totales (CT)% de MS	Calcinación en mufla a 550-600°C por 5 hrs. Calcinación en mufla a 600°C por 2 hrs.	BATEMAN (1970).
Energía metabolizable (EM) kcal/kg de MS	Estimada a través de los "Factores de Atwater Modificados" y los contenidos de proteína cruda, grasa cruda y extracto libre de nitrógeno. $EM(Kcal/kg) = 10[(3,5*PC) + (8,5*GC) + (3,5*ELN)]$	AAFCO (2002).

3.6 Desarrollo de calibraciones

Para la determinación de ecuaciones de calibración, una vez ingresados los datos de referencia (composición química) y colectados los espectros de todas las muestras, se realizaron distintas opciones de calibraciones, como tratamientos matemáticos, métodos de regresión, eliminación de muestras aberrantes u *Outliers*; los que se detallan a continuación.

3.6.1 Tratamientos matemáticos. Para el desarrollo de las ecuaciones de calibración, los espectros de las muestras fueron sometidos a diferentes tratamientos matemáticos que se señalan a continuación: 0:0:4:1; 0:0:8:1; 1:4:4:1; 1:4:8:1; 1:5:8:1; 1:8:8:1; 2:4:4:1; 2:4:8:1; 2:5:5:1; 2:5:8:1; 2:8:8:1, donde el primer número indica el orden de sustracción o diferenciación; el segundo, la amplitud o intervalo para la sustracción; el tercero, la longitud del segmento ser promediado (suavizado) y el cuarto número corresponde a una segunda suavización, pero se recomienda 1.

Cada uno de estos tratamientos matemáticos fue analizado con y sin corrección de dispersión de luz: SNV & Detrend.

3.6.2 Métodos de regresión. En cuanto al método de regresión que se utilizó para este caso, es el de los cuadrados mínimos parciales modificados (MPLS), ocupando un máximo de 8 términos para la ecuación.

3.6.3 Muestras aberrantes u *Outliers*. Para determinar las muestras aberrantes de tipo espectral (H) se definió un valor de 10, en tanto que para los aberrantes por su discrepancia entre valores predichos y de referencia (T), se definió un valor de 2,5. Además se hicieron 2 pases de eliminación de outliers.

3.7 Criterio de selección de ecuaciones.

Las ecuaciones se evaluaron a través de una validación cruzada, dividiendo el set de calibración en 4 grupos, generando una ecuación con 3 de ellos, para predecir el cuarto. Luego el proceso se repite cíclicamente cambiando el grupo a predecir, hasta que todos los grupos han sido incluidos en la calibración y han sido predichos. En cada paso se calcula un R^2 y un error estándar, los que al final se promedian, para obtener el R^2 de validación cruzada (denominado 1-VR en el software utilizado) y el error estándar de validación cruzada (SECV). Como se señaló anteriormente, los tratamientos matemáticos seleccionados fueron aquellos que presentaron un elevado coeficiente de determinación, y un bajo error estándar de validación cruzada. En el caso en que el coeficiente de determinación es igual para distintos tratamientos, se consideran como adecuadas para propósitos de predicción, aquellas ecuaciones en que la desviación estándar de los datos de referencia triplique al menos al valor del SECV.

4 PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1 Características del conjunto de muestras utilizadas

En esta sección se presentan y discuten los resultados obtenidos de la técnica utilizada (espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano), para la predicción de la composición química de alimentos, enteros y molidos, para perros adultos en etapa de mantención y perros en etapa de crecimiento.

En el Cuadro 3, se puede observar la existencia de amplios rangos para cada uno de los constituyentes; lo cual se debe a la diferencia que hay entre la composición química de los alimentos para perros adultos en etapa de mantención y perros en etapa de crecimiento, debido a que sus requerimientos nutricionales son diferentes en las distintas etapas de su desarrollo.

CUADRO 3. Características químicas de alimentos secos para adultos y cachorros usadas para realizar la calibración.

Nutriente	N° de muestras	Rango	Media
Materia seca (%)	59	89,68 - 94,65	92,25
Energía Bruta (kcal/g)	59	4,36 - 5,53	4,97
Energía Metabolizable (kcal/kg)	59	3469,1 - 4441,1	3861,9
Fibra Cruda (%)	59	0,64 - 5,04	2,22
Proteína (%)	59	16,43 - 39,04	26,23
Arginina (mg/100 mg)	59	1,05 - 2,24	1,57
Histidina (mg/100 mg)	59	0,39 - 0,88	0,62
Isoleucina (mg/100 mg)	59	0,54 - 1,47	0,91
Leucina (mg/100 mg)	59	1,16 - 3,35	2,09
Lisina (mg/100 mg)	59	0,64 - 1,70	1,16
Metionina-Cisteína (mg/100 mg)	59	0,59 - 1,52	0,93
Fenilalanina-Tirosina (mg/100 mg)	59	1,11 - 2,82	1,86
Treonina (mg/100 mg)	59	0,53 - 1,31	0,86
Triptófano (mg/g)	59	0,20 - 2,62	1,36
Valina (mg/100 mg)	59	0,80 - 1,96	1,21
Lípidos (%)	59	6,95 - 23,96	14,05
Acido Linoleico (%)	59	0,92 - 6,64	3,20
Calcio (%)	59	0,58 - 4,03	1,67
Fósforo (%)	59	0,65 - 1,56	1,05
Relación Calcio:Fosforo	59	0,67 - 5,37	1,60
Potasio (%)	59	0,44 - 0,86	0,61
Sodio (%)	59	0,18 - 0,64	0,39
Cloro (%)	59	0,18 - 1,29	0,69
Magnesio (%)	59	0,08 - 0,36	0,18
Hierro (mg/kg)	59	173,4 - 700,6	353,77
Cobre (mg/kg)	59	10,7 - 54,0	29,46
Manganeso (mg/kg)	59	19,1 - 164,5	66,64
Zinc (mg/kg)	59	67,6 - 354,5	180,24
Yodo (mg/kg)	59	0,30 - 33,49	3,20
Selenio (mg/kg)	59	0,03 - 1,31	0,47

4.2 Descripción de los espectros

En los espectros obtenidos para las muestras de alimentos molidos y alimentos enteros (Figura 1a y 1b respectivamente), se puede observar que ambos conjuntos de espectros son muy similares, ya que en ambas situaciones se aprecian picos correspondientes a bandas de absorción de enlaces C – H a los 1204, 1726 y 2310 nm. También se encuentran picos a los 1464 nm, correspondiente al primer armónico para enlaces N – H, y a los 1934 y 1938 nm, correspondientes a la Figura 1a y 1b respectivamente, los que están relacionados al segundo armónico para enlaces C = O.

En el caso específico de la Figura 1b, se presentan picos a los 1472 nm, relacionados con el primer armónico para enlaces S – H.

En ambas situaciones se observan “hombros” a los 1762 nm relacionados con el primer armónico para enlaces S – H y a los 2344 nm (1b), 2346 y 2482 nm (1a) correspondientes a enlaces C – H (OSBORNE et al., 1993).

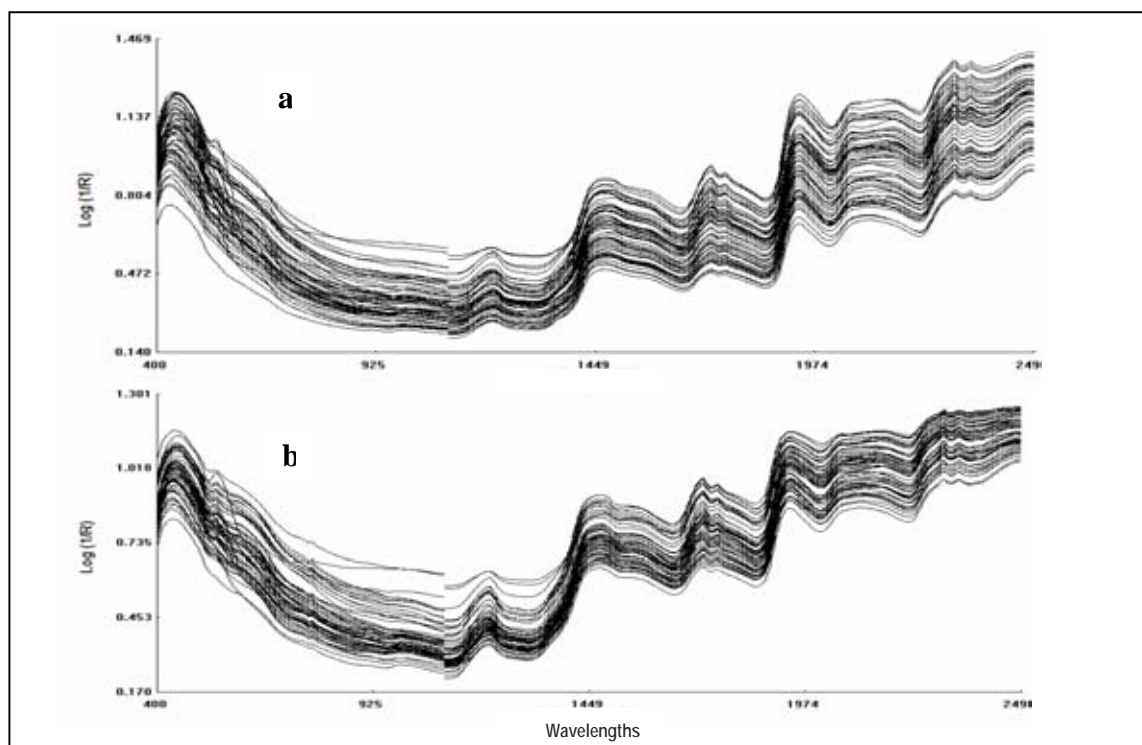


FIGURA 1. Espectros de alimentos molidos (a) y alimentos enteros (b).

En la Figura 1 también se ve la amplia variación (altura) de las señales de absorción, que probablemente refleja la disposición o amplitud en los datos químicos.

Esto se puede apreciar de mejor forma al aplicar una primera derivación (Figura 2) donde se puede evaluar con mayor claridad esta variación de las señales de absorción, ya que según lo señalado por MURRAY (1988), al utilizar tratamientos de diferenciación el espectro se centra cerca de la línea cero optimizando la información analítica, por lo tanto, esto ayuda a reducir el “ruido” y a extraer información útil de los espectros.

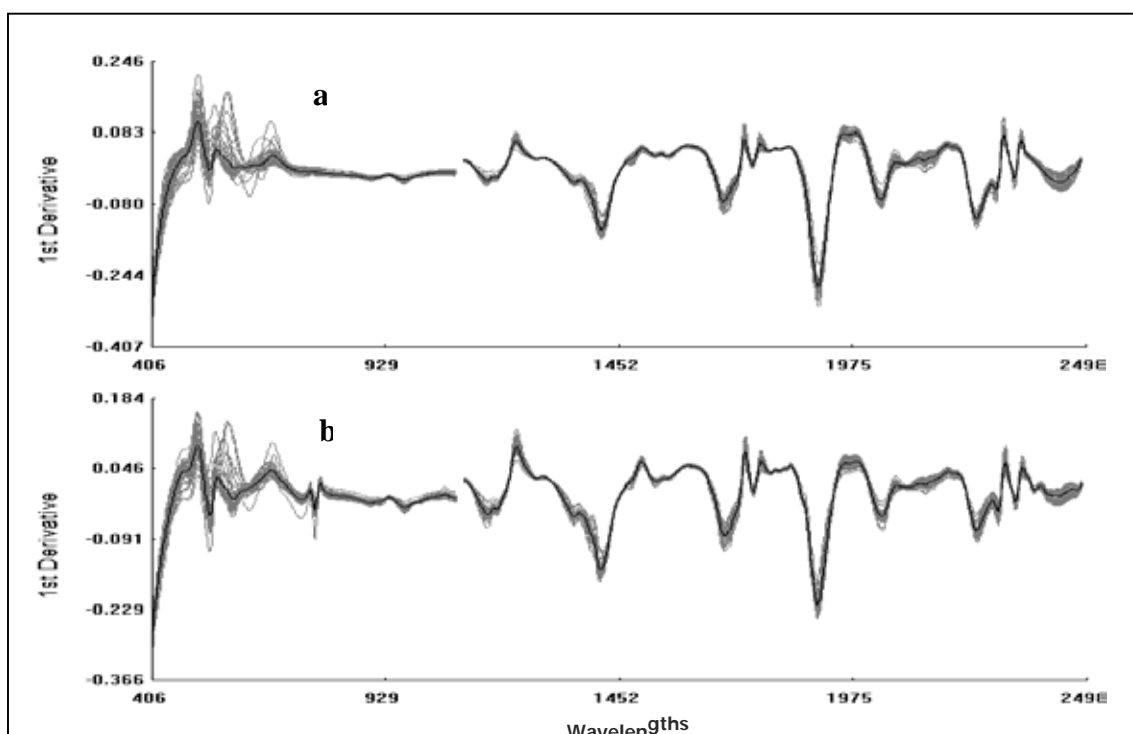


FIGURA 2. Espectros de alimentos molidos (a) y enteros (b) con tratamiento 1 -4 -4 -1 *SNV & Detrend*.

4.3 Desarrollo y calibración de ecuaciones

En este punto se presentan las ecuaciones de calibración generadas a partir de los 59 alimentos enteros y 59 alimentos molidos, donde se realizó un total de 11 tratamientos matemáticos, los cuales fueron analizados con y sin corrección de

dispersión de luz (SNV & Detrend); por lo tanto, resulta un total de 22 calibraciones para cada uno de los 30 constituyentes.

Como se señaló en el punto 3.8, el criterio utilizado para la selección de ecuaciones fue el siguiente:

De los resultados obtenidos de los diferentes tratamientos matemáticos, se seleccionaron aquellas ecuaciones que tienen un elevado coeficiente de determinación (1-VR), y un bajo error estándar de validación cruzada (SECV). En el caso en que el coeficiente de determinación es igual para distintos tratamientos, se consideró la relación desviación estándar y error estándar de validación cruzada (DS/SECV).

A continuación se presentan y discuten los resultados de las calibraciones para cada componente, señalando los mejores tratamientos matemáticos utilizados y la relación entre valores de referencia y los predichos por NIRS.

4.3.1 Materia seca. En el Cuadro 4 se presentan las mejores calibraciones para materia seca.

CUADRO 4 Mejores ecuaciones obtenidas para materia seca.

Alimentos Enteros										
CDL	TM	N	1-VR	SECV	PROM	DS	(DS/SECV)	SEC	R ²	
SNV&D	2 5 5 1	59	0,836	0,344	92,251	0,836	2,43	0,238	0,919	
NONE	2 5 5 1	58	0,833	0,34	92,278	0,816	2,4	0,207	0,935	
SNV&D	2 4 4 1	59	0,833	0,346	92,251	0,836	2,42	0,222	0,923	
Alimentos Molidos										
NONE	2 4 4 1	57	0,955	0,178	92,278	0,823	4,62	0,101	0,985	
NONE	2 5 5 1	58	0,952	0,183	92,278	0,816	4,46	0,114	0,98	
NONE	2 5 8 1	58	0,949	0,188	92,278	0,816	4,34	0,13	0,975	

CDL : corrección de dispersión de luz

TM : tratamiento matemático

1-VR : coef. de determinación de validación cruzada

SECV: error estándar de validación cruzada

R² : coef. de determinación de calibración

PROM : promedio de las muestras

DS : desviación estándar

SEC : error estándar de calibración

N : número de muestras

Al observar el Cuadro 4, se puede ver claramente que los alimentos molidos arrojan buenos resultados para los diferentes criterios de selección, lo que no ocurre en el caso de los alimentos enteros, cuyos criterios (1-VR, SECV y DS/SECV) no permiten seleccionar una ecuación de predicción.

En relación a lo anteriormente señalado, al analizar la mejor ecuación de los alimentos molidos, cuyo tratamiento matemático es $2^{-4} - 4^{-4} - 1$ sin corrección de dispersión de luz (NONE), se observa que el coeficiente de determinación de validación cruzada (1-VR) indica que esta ecuación explicaría el 95,5% de la variación de los datos, lo que permitiría realizar una buena predicción para este constituyente. Esto queda confirmado al observar el índice DS/SECV, cuyo valor es de 4,62, el cual está por sobre el mínimo requerido para que una ecuación sea seleccionada como confiable; en comparación con la mejor ecuación de los alimentos enteros, este índice toma un valor de 2,43, el que se encuentra bajo el mínimo requerido para poder considerar una ecuación confiable.

En la Figura 3 se puede ver que la distribución de los datos observados y predichos por NIRS, en relación a la línea de igual repuesta, en la grafica “b” (alimentos molidos) se ajustan muy bien a esta línea, lo que no ocurre en la situación “a” (alimentos enteros) donde los datos presentan una mayor dispersión en su distribución, con respecto a la línea de respuesta.

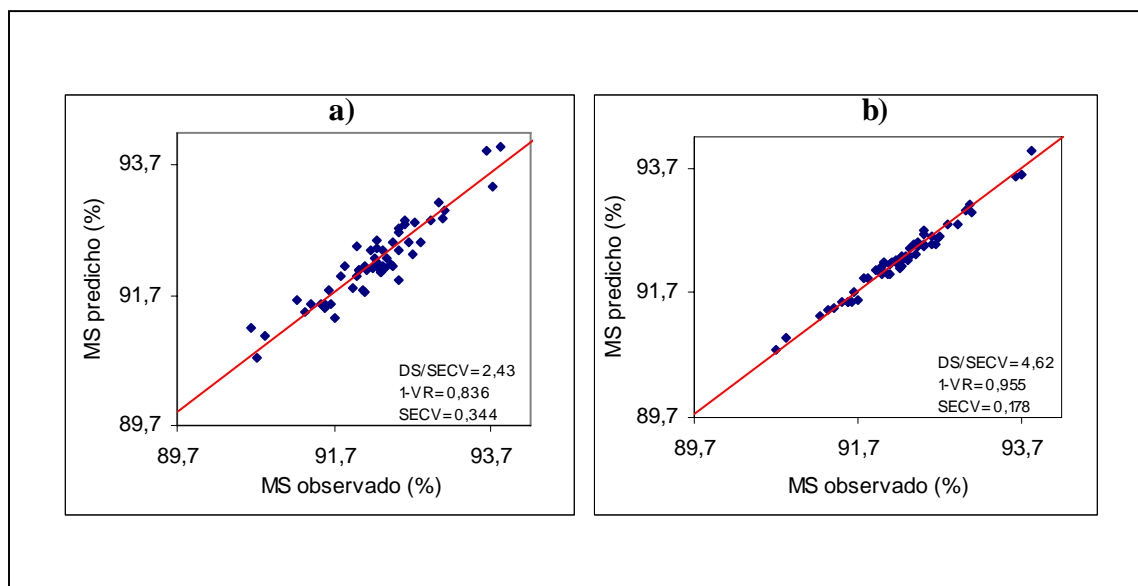


FIGURA 3 Relación existente entre valores de referencia (%) y predicho por NIRS (%) para materia seca (MS). a) Alimentos enteros, b) Alimentos molidos.

4.3.2 Fibra cruda. En el Cuadro 5, se presentan las mejores ecuaciones desarrolladas para fibra cruda. Se puede apreciar, tanto en los alimentos enteros como molidos, ecuaciones con alto poder de predicción, lo que se ve representado en el índice DS/SECV, que de acuerdo a lo señalado por MURRAY (1993), esta relación debe tener un valor igual o mayor a 3 para que una ecuación pueda ser considerada confiable.

CUADRO 5 Mejores ecuaciones obtenidas para fibra cruda.

Alimentos Enteros									
CDL	TM	N	1-VR	SECV	PROM	DS	(DS/SECV)	SEC	R ²
NONE	2 4 8 1	55	0,901	0,301	2,157	0,95	3,16	0,181	0,964
NONE	2 5 5 1	55	0,9	0,303	2,157	0,95	3,14	0,179	0,965
NONE	2 8 8 1	55	0,9	0,304	2,157	0,95	3,13	0,189	0,96
Alimentos Molidos									
NONE	2 5 8 1	55	0,93	0,27	2,188	1,002	3,71	0,16	0,975
NONE	2 4 8 1	55	0,929	0,27	2,188	1,002	3,71	0,158	0,975
SNV&D	2 5 5 1	56	0,928	0,27	2,179	0,996	3,69	0,144	0,979

Sin embargo, los alimentos molidos presentan valores para DS/SECV levemente mayores que los obtenidos para los alimentos enteros.

En la Figura 4 se muestra gráficamente la relación existente entre los valores observados y los predichos por NIRS, utilizando para ello el tratamiento matemático 2 - 4 - 8 - 1(a) y 2 - 5 - 8 - 1 (b) sin corrección de dispersión de luz (none) para ambos casos, donde se puede ver que los datos tienden a tener un buen ajuste entre los ejes y distribuyéndose a lo largo de la línea de tendencia, no existiendo un amplio grado de dispersión en torno a ella.

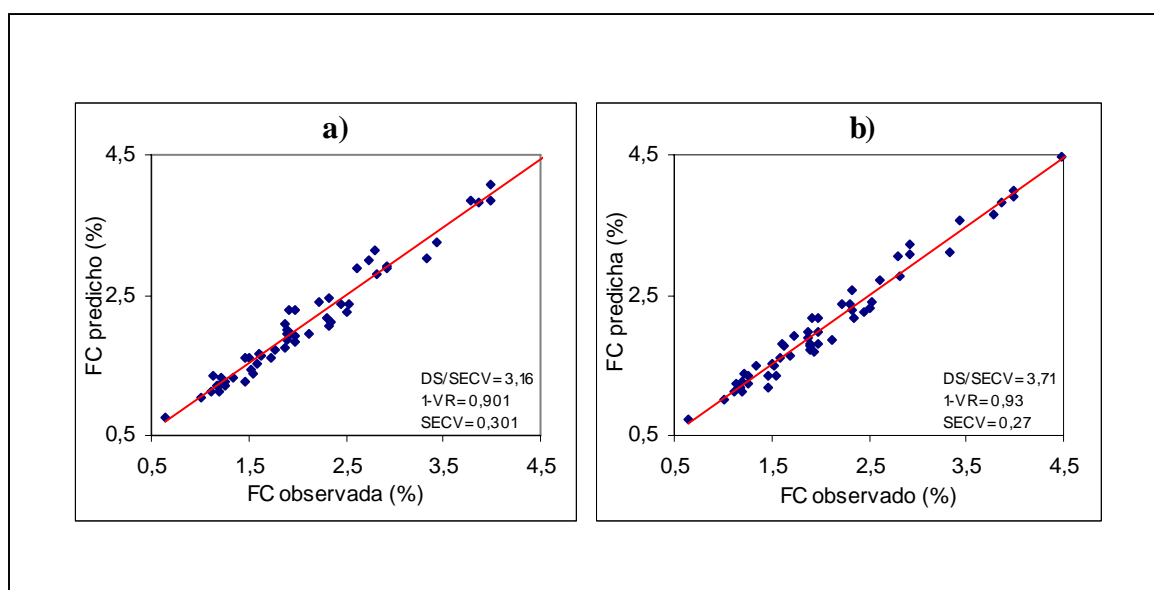


FIGURA 4. Relación existente entre valores de referencia (%) y predicho por NIRS (%) para fibra cruda (FC). a) Alimentos enteros, b) Alimentos molidos.

4.3.3 Energía bruta. Los resultados que se presentan en el Cuadro 6 corresponden a las ecuaciones que entregan las mejores respuestas para esta variable. Se puede apreciar que las calibraciones realizadas para energía bruta, en el caso de los alimentos enteros, presentan una gran similitud en los valores obtenidos para las ecuaciones seleccionadas, donde se tiene un bajo SECV y un coeficiente de determinación de validación cruzada (1-VR), que a pesar de no ser valores bajos, no son óptimos para predecir esta fracción. Observándose también que el índice DS/SECV entrega un valor de 2,94 para el mejor tratamiento matemático (2 - 8 - 8 - 1 sin corrección de dispersión de luz) y 2,88 para las otras ecuaciones, que a pesar de ser muy cercano a tres, aún son inferiores a éste valor,

por lo tanto, no se puede calificar estas ecuaciones como confiable; pero sí puede ser utilizada para ubicar las muestras dentro de ciertos rangos.

En cambio, los alimentos molidos, además de presentar bajos valores para SECV y valores altos para 1-VR, arrojan buenos resultados para la relación DS/SECV, la que es considerada por COZZOLINO *et al.* (2003), como un buen indicador de precisión y exactitud de una ecuación, cuyo valor debe ser igual o mayor a 3, y que en este caso los valores van desde 3,62 a 4,20 en el caso de la mejor ecuación seleccionada; por lo tanto se puede concluir que estas ecuaciones son consideradas confiables ya que sobrepasan el valor mínimo, señalado anteriormente, para este índice.

CUADRO 6 Mejores ecuaciones obtenidas para energía bruta.

Alimentos Enteros									
CDL	TM	N	1-VR	SECV	MEAN	DS	(DS/SECV)	SEC	R²
NONE	2 8 8 1	55	0,885	0,08	5,0	0,235	2,94	0,054	0,947
SNV&D	2 4 8 1	56	0,882	0,081	4,999	0,233	2,88	0,065	0,922
SNV&D	2 5 5 1	56	0,881	0,081	4,999	0,233	2,88	0,065	0,922
Alimentos Molidos									
SNV&D	2 5 8 1	55	0,945	0,056	4,998	0,235	4,20	0,023	0,991
NONE	2 4 4 1	56	0,927	0,066	4,990	0,241	3,65	0,041	0,971
SNV&D	2 8 8 1	55	0,928	0,065	4,998	0,235	3,62	0,049	0,956

En la Figura 5 se aprecia que el gráfico “b” (alimentos molidos) presenta un buen ajuste lo largo de la línea de tendencia; en cambio los alimentos enteros (a) presentan una dispersión mayor en esta línea en comparación al gráfico “b”.

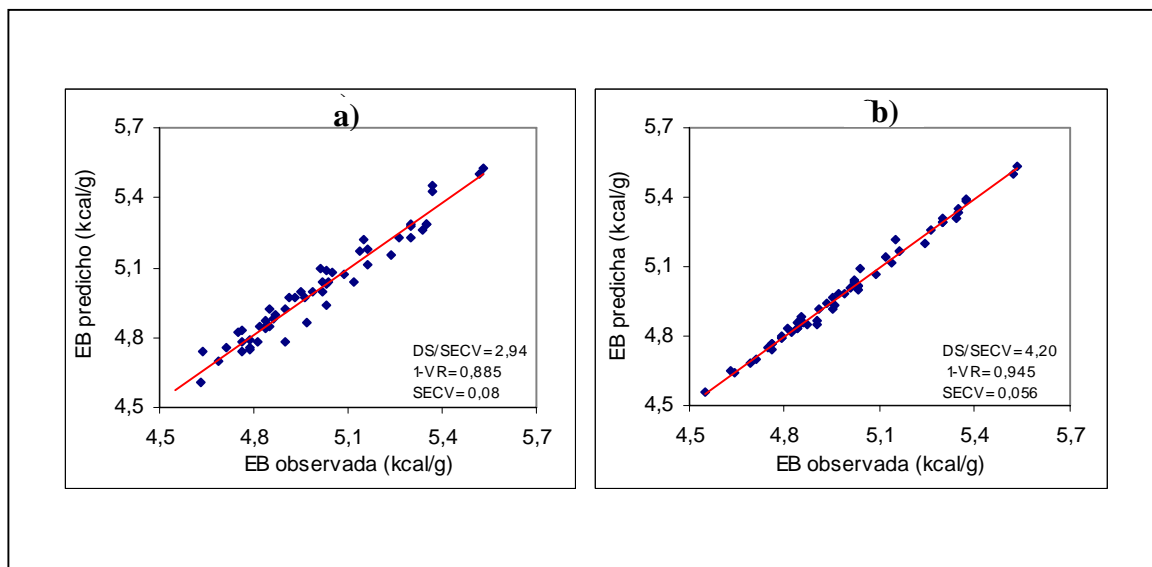


FIGURA 5. Relación existente entre valores de referencia (kcal/g) y predicho por NIRS (kcal/g) para energía bruta (EB). a) Alimentos enteros, b) Alimentos molidos.

4.3.4 Energía metabolizable. En el Cuadro 7, se presentan los resultados para las ecuaciones que presentan los resultados más precisos para energía metabolizable. En alimentos enteros, presentan índices con valores bajos y similares entre ellas; similar situación ocurre con los alimentos molidos, pero en este caso, a pesar que los valores arrojados por las mejores ecuaciones son mayores que en el caso anterior, no son aptos para aceptarlas como ecuaciones de predicción, debido a que el índice DS/SECV para la mejor ecuación, tiene un valor inferior al mínimo óptimo requerido.

CUADRO 7. Mejores ecuaciones obtenidas para energía metabolizable.

Alimentos Enteros									
CDL	TM	N	1-VR	SECV	PROM	DS	(DS/SECV)	SEC	R ²
SNV&D	2 8 8 1	59	0,756	112,125	3866,475	222,905	1,99	79,338	0,873
NONE	2 4 8 1	59	0,756	112,155	3866,475	222,905	1,99	77,641	0,879
NONE	2 5 8 1	59	0,756	112,254	3866,475	222,905	1,99	78,408	0,876
Alimentos Molidos									
SNV&D	1 4 4 1	58	0,858	86,071	3864,299	224,219	2,61	66,836	0,911
NONE	2 4 4 1	58	0,857	86,272	3864,299	224,219	2,60	46,246	0,957
SNV&D	1 4 8 1	58	0,855	86,811	3864,299	224,219	2,58	67,303	0,91

Una posible explicación para el hecho de que no exista una buena predicción para Energía metabolizable se debe a que el método utilizado para la obtención de los valores de referencia no sea el más certero, ya que este resultado se obtuvo a partir de una ecuación que utiliza los datos de Proteína Cruda, Grasa Cruda y Extracto libre de Nitrógeno. Esto implica una probable acumulación de los errores de cada una de estas determinaciones, más el posible error asociado al uso de los “Factores de Atwater Modificados” como predictor del valor de EM, como dato de referencia.

En la Figura 6 se observa que para ambos gráficos existe una distribución irregular de los datos observados y los predichos por NIRS en relación a la línea de respuesta, pudiendo observar que los puntos se alejan de esta línea.

A pesar de que los resultados no son confiables para la predicción de EM, se pueden utilizar para predecir el rango en el que la muestra se pueda encontrar.

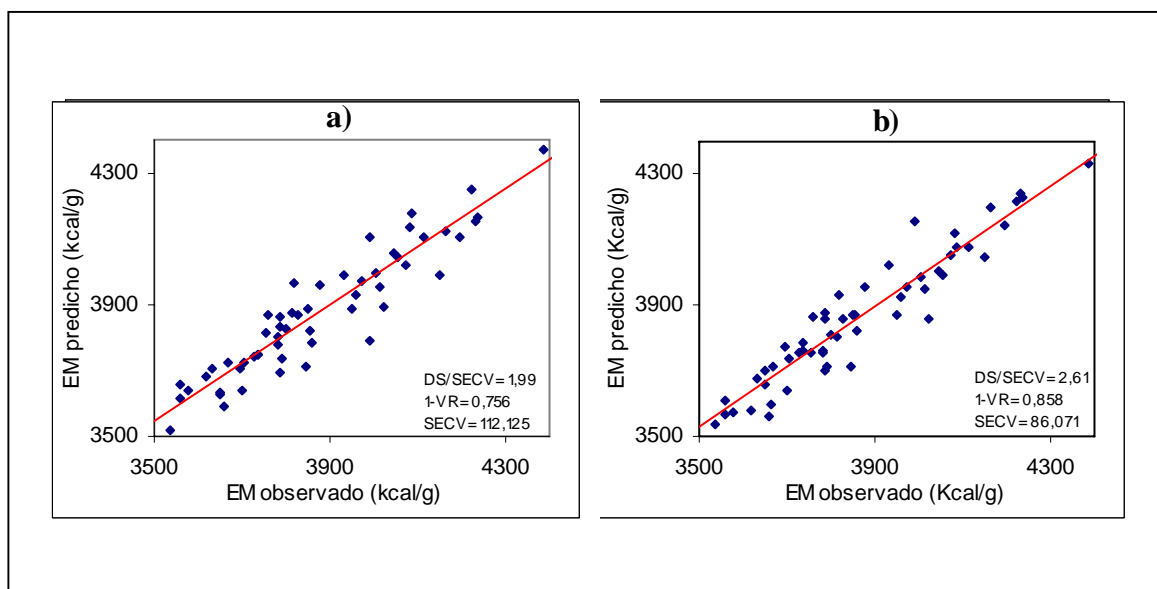


FIGURA 6. Relación existente entre valores de referencia (kcal/g) y predicho por NIRS (kcal/g) para energía metabolizable. a) Alimentos enteros, b) Alimentos molidos.

4.3.5 Proteína bruta. En el Cuadro 8 se presentan los mejores resultados obtenidos para proteína bruta. Se aprecia que las calibraciones desarrolladas para determinar este parámetro, entregan resultados con un alto grado de precisión para los criterios de selección de ecuaciones. Esto se ve representado en los valores arrojados por los mejores tratamientos matemáticos en ambas modalidades de alimentos, y que en el caso de la modalidad molida los resultados fueron superiores a los obtenidos en los alimentos enteros, cuyos valores son de 0,989 para 1-VR y 0,474 para el SECV de la mejor ecuación seleccionada (TM 0 -0 -4 -1) y 0,97 para 1-VR y 0,8 para SECV (TM 1 -8 -8 -1), respectivamente.

De acuerdo a los resultados entregados por el índice DS/SECV, se puede apreciar que estas ecuaciones son confiables para la predicción de este constituyente, ya que los valores van desde 5,76 a 5,87 para alimentos enteros, y 6,34 a 9,45 en alimentos molidos.

CUADRO 8. Mejores ecuaciones obtenidas para proteína bruta.

Alimentos Enteros									
CDL	TM	N	1-VR	SECV	PROM	DS	(DS/SECV)	SEC	R ²
SNV&D	1 8 8 1	55	0,97	0,8	26,182	4,698	5,87	0,533	0,987
SNV&D	1 4 8 1	56	0,97	0,807	26,129	4,672	5,79	0,67	0,979
SNV&D	1 5 8 1	56	0,97	0,808	26,129	4,672	5,78	0,671	0,979
Alimentos Molidos									
SNV&D	0 0 4 1	54	0,989	0,474	26,516	4,477	9,45	0,402	0,992
SNV&D	0 0 8 1	54	0,989	0,475	26,516	4,477	9,43	0,402	0,992
NONE	2 8 8 1	56	0,98	0,653	26,17	4,716	7,22	0,369	0,994

En la Figura 7 se puede observar claramente en ambos gráficos, que la distribución de los datos observados y predichos por NIRS, se ajustan muy bien a la línea de tendencia.

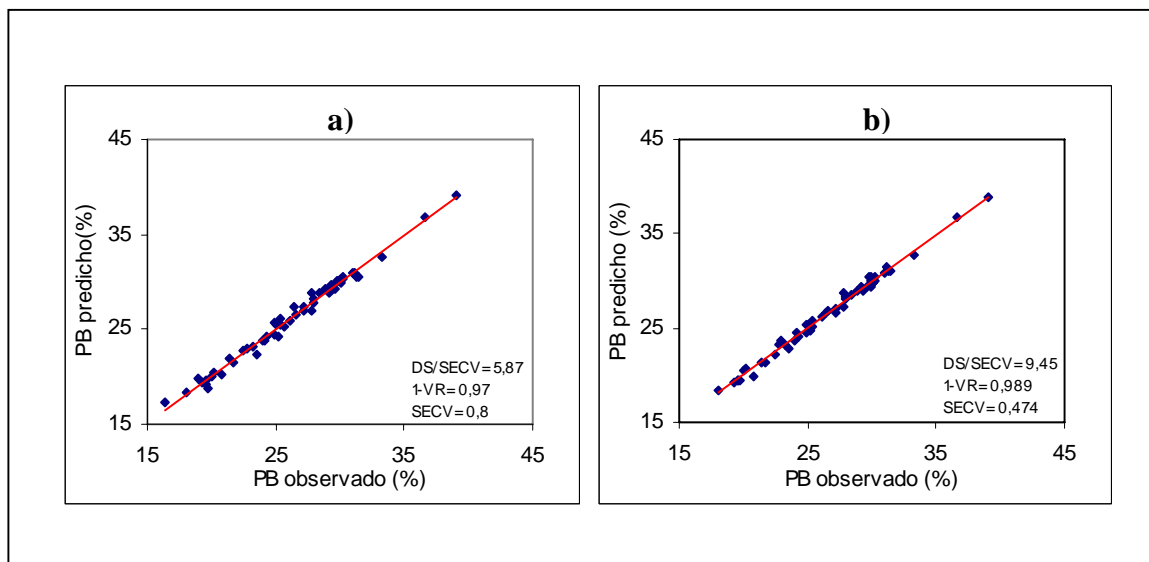


FIGURA 7. Relación existente entre valores de referencia (%) y predicho por NIRS (%) para proteína bruta. a) Alimentos enteros, b) Alimentos molidos.

4.3.6 Arginina. En el Cuadro 9 se entregan los resultados de las mejores calibraciones desarrolladas para arginina. Se puede apreciar que las mejores calibraciones desarrolladas entregan valores para la relación DS/SECV que se encuentran bajo el mínimo óptimo requerido para ser confiables, exceptuando la mejor ecuación de los alimentos molidos en la que se utilizó el tratamiento matemático $2 -4 -4 -1$ sin corrección de dispersión de luz (NONE), donde se observa un valor de 0,893 para 1-VR, lo que indica que ésta ecuación podría explicar el 89,3% de la variabilidad de los datos, además el índice DS/SECV para este caso alcanza un valor de 3,10, que de acuerdo a lo recomendado, sería considerada confiable para la predicción de esta fracción.

CUADRO 9. Mejores ecuaciones obtenidas para arginina.

Alimentos Enteros									
CDL	TM	N	1-VR	SECV	PROM	DS	(DS/SECV)	SEC	R ²
SNV&D	2 5 5 1	59	0,835	0,106	1,565	0,261	2,46	0,063	0,942
SNV&D	2 5 8 1	59	0,83	0,107	1,565	0,261	2,44	0,065	0,938
SNV&D	2 8 8 1	59	0,83	0,107	1,565	0,261	2,44	0,066	0,935
Alimentos Molidos									
NONE	2 4 4 1	55	0,893	0,087	1,567	0,27	3,10	0,037	0,981
SNV&D	2 4 4 1	57	0,877	0,093	1,566	0,265	2,85	0,064	0,941
NONE	2 5 5 1	58	0,873	0,093	1,565	0,263	2,83	0,052	0,961

En la Figura 8, se observa que los datos entregados por el mejor tratamiento matemático de los alimentos molidos (b), se ajusta de mejor manera a lo largo de la línea de tendencia.

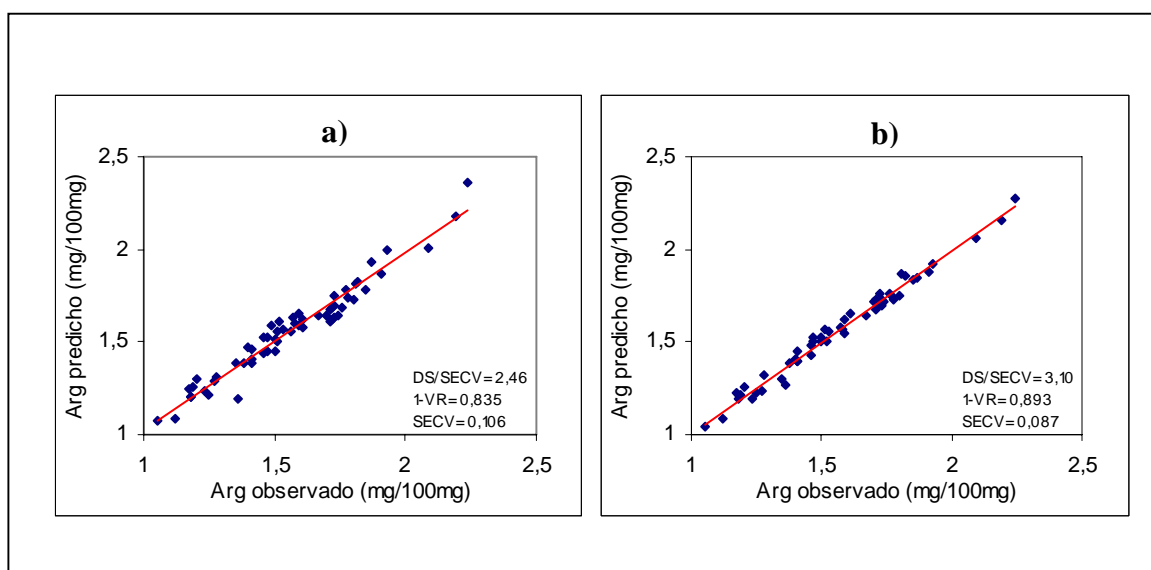


FIGURA 8. Relación existente entre valores de referencia (mg/100mg) y predicho por NIRS (mg/100mg) para arginina. a) Alimentos enteros, b) Alimentos molidos.

4.3.7 Histidina. En el Cuadro 10 se presentan las mejores ecuaciones desarrolladas para este constituyente. Al observar el índice DS/SECV, se puede apreciar que en ambos parámetros de comparación, los resultados obtenidos se encuentran por debajo del

mínimo óptimo de acuerdo al criterio de selección recomendado por MURRAY (1993). Esto hace que las ecuaciones no sean confiables para la predicción de histidina; a pesar de entregar valores considerados buenos para los otros criterios de selección, como ocurre con el coeficiente de determinación de validación cruzada (1-VR), el que arroja un valor de 0,869 y 0,885, para alimentos enteros y molidos, respectivamente, (valores obtenidos de la mejor ecuación seleccionada para cada caso).

Por otra parte, es importante señalar que para ambos tipos de alimento, la mayor parte de los mejores tratamientos matemáticos seleccionados, para cada una de éstos, no utilizó diferenciación, lo que se contrapone a lo señalado por BARNES y DHANOA (1988), que indican que la derivada disminuye las variaciones por preparación y presentación de la muestra. Al igual que en los casos anteriores, los mejores resultados son entregados por los alimentos molidos, lo que está directamente relacionado con la homogeneidad de partículas.

CUADRO 10. Mejores ecuaciones obtenidas para histidina.

Alimentos Enteros									
CDL	TM	N	1-VR	SECV	PROM	DS	(DS/SECV)	SEC	R ²
SNV&D	0 0 8 1	56	0,869	0,038	0,614	0,107	2,82	0,034	0,9
SNV&D	0 0 4 1	56	0,868	0,39	0,614	0,107	2,74	0,034	0,899
NONE	0 0 8 1	54	0,831	0,044	0,611	0,107	2,43	0,035	0,893
Alimentos Molidos									
SNV&D	0 0 4 1	54	0,885	0,037	0,616	0,109	2,95	0,032	0,917
NONE	2 4 8 1	55	0,882	0,038	0,616	0,11	2,89	0,014	0,984
SNV&D	0 0 8 1	54	0,874	0,038	0,616	0,109	2,87	0,032	0,916

En la Figura 9 se puede ver claramente que a pesar que los datos químicos observados y predichos por NIRS se distribuyen a través de la línea de respuesta, los puntos se alejan de esta línea, provocando una pérdida en la tendencia.

CUADRO 9. Mejores ecuaciones obtenidas para arginina.

Alimentos Enteros									
CDL	TM	N	1-VR	SECV	PROM	DS	(DS/SECV)	SEC	R ²
SNV&D	2 5 5 1	59	0,835	0,106	1,565	0,261	2,46	0,063	0,942
SNV&D	2 5 8 1	59	0,83	0,107	1,565	0,261	2,44	0,065	0,938
SNV&D	2 8 8 1	59	0,83	0,107	1,565	0,261	2,44	0,066	0,935
Alimentos Molidos									
NONE	2 4 4 1	55	0,893	0,087	1,567	0,27	3,10	0,037	0,981
SNV&D	2 4 4 1	57	0,877	0,093	1,566	0,265	2,85	0,064	0,941
NONE	2 5 5 1	58	0,873	0,093	1,565	0,263	2,83	0,052	0,961

En la Figura 8, se observa que los datos entregados por el mejor tratamiento matemático de los alimentos molidos (b), se ajusta de mejor manera a lo largo de la línea de tendencia.

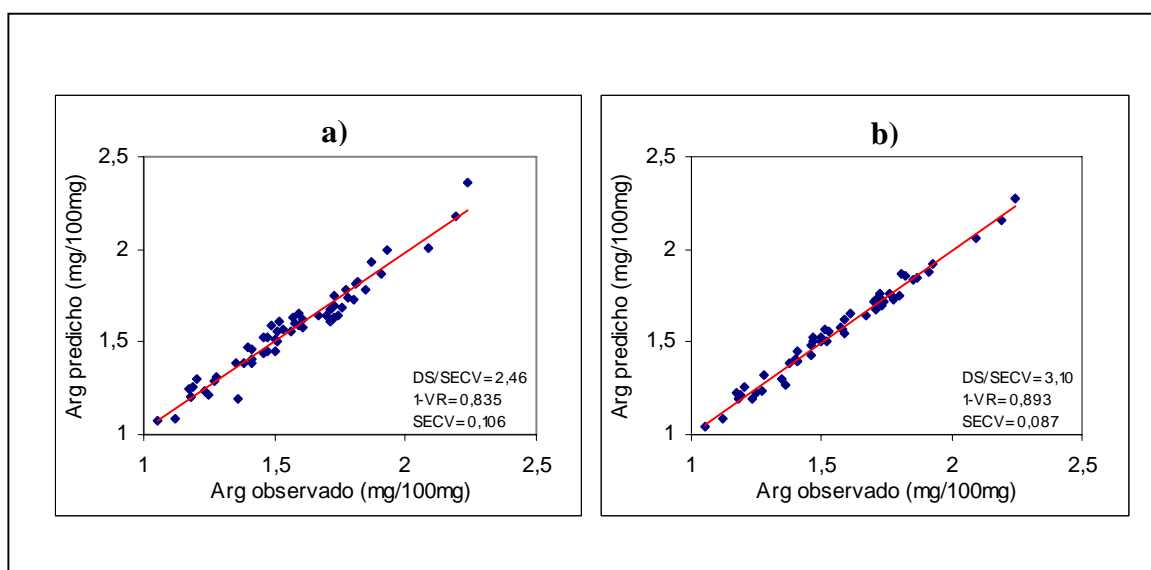


FIGURA 8. Relación existente entre valores de referencia (mg/100mg) y predicho por NIRS (mg/100mg) para arginina. a) Alimentos enteros, b) Alimentos molidos.

4.3.7 Histidina. En el Cuadro 10 se presentan las mejores ecuaciones desarrolladas para este constituyente. Al observar el índice DS/SECV, se puede apreciar que en ambos parámetros de comparación, los resultados obtenidos se encuentran por debajo del

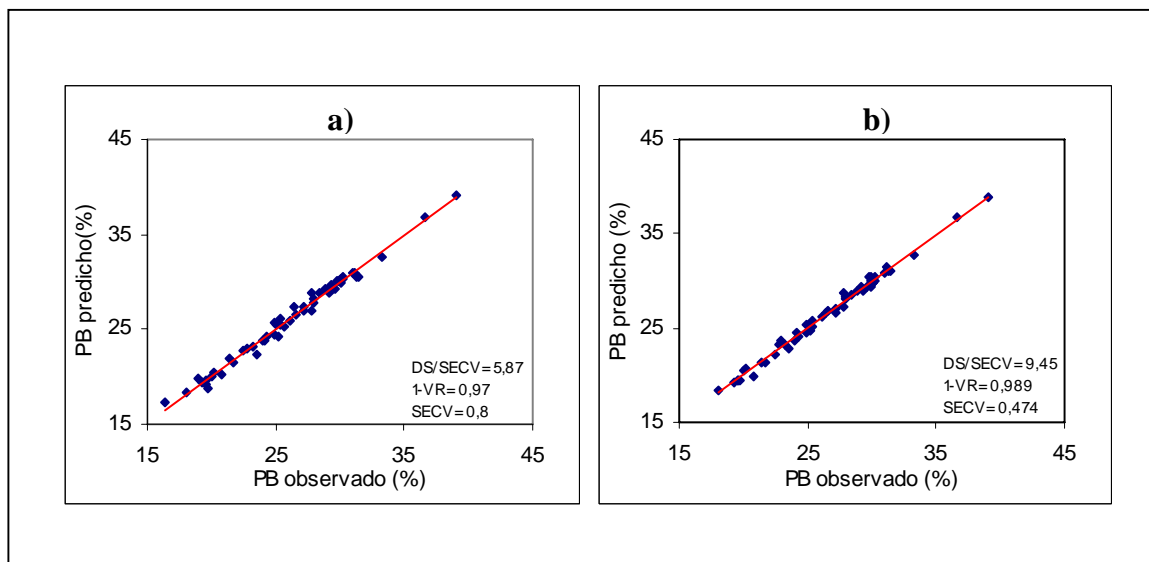


FIGURA 7. Relación existente entre valores de referencia (%) y predicho por NIRS (%) para proteína bruta. a) Alimentos enteros, b) Alimentos molidos.

4.3.6 Arginina. En el Cuadro 9 se entregan los resultados de las mejores calibraciones desarrolladas para arginina. Se puede apreciar que las mejores calibraciones desarrolladas entregan valores para la relación DS/SECV que se encuentran bajo el mínimo óptimo requerido para ser confiables, exceptuando la mejor ecuación de los alimentos molidos en la que se utilizó el tratamiento matemático 2 -4 -4 -1 sin corrección de dispersión de luz (NONE), donde se observa un valor de 0,893 para 1-VR, lo que indica que ésta ecuación podría explicar el 89,3% de la variabilidad de los datos, además el índice DS/SECV para este caso alcanza un valor de 3,10, que de acuerdo a lo recomendado, sería considerada confiable para la predicción de esta fracción.

En la Figura 4 se muestra gráficamente la relación existente entre los valores observados y los predichos por NIRS, utilizando para ello el tratamiento matemático 2 - 4 - 8 - 1(a) y 2 - 5 - 8 - 1 (b) sin corrección de dispersión de luz (none) para ambos casos, donde se puede ver que los datos tienden a tener un buen ajuste entre los ejes y distribuyéndose a lo largo de la línea de tendencia, no existiendo un amplio grado de dispersión en torno a ella.

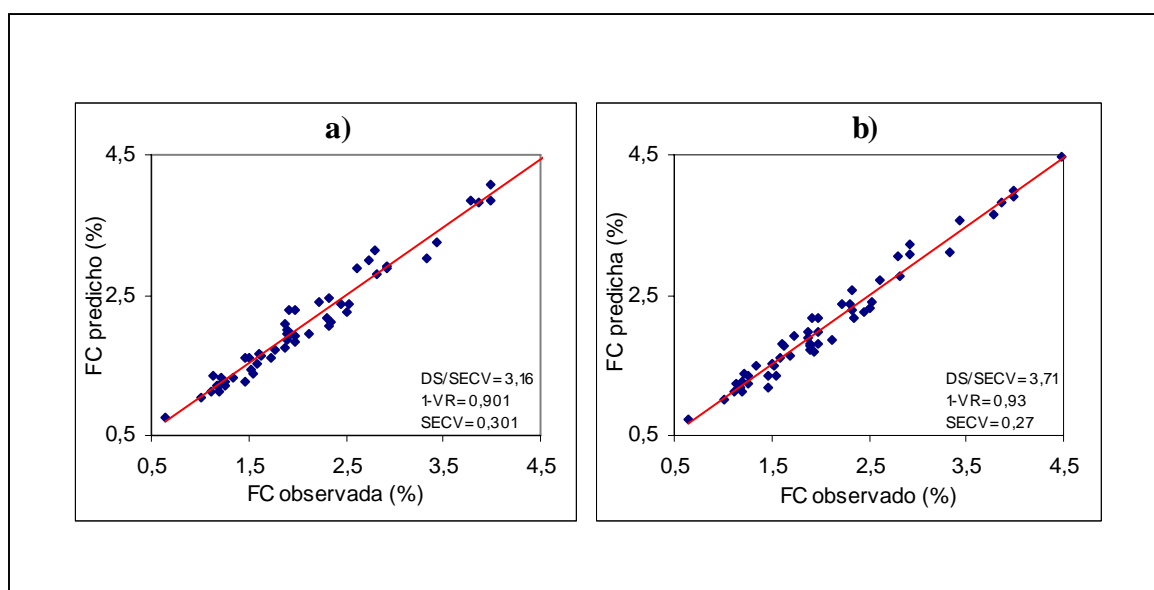


FIGURA 4. Relación existente entre valores de referencia (%) y predicho por NIRS (%) para fibra cruda (FC). a) Alimentos enteros, b) Alimentos molidos.

4.3.3 Energía bruta. Los resultados que se presentan en el Cuadro 6 corresponden a las ecuaciones que entregan las mejores respuestas para esta variable. Se puede apreciar que las calibraciones realizadas para energía bruta, en el caso de los alimentos enteros, presentan una gran similitud en los valores obtenidos para las ecuaciones seleccionadas, donde se tiene un bajo SECV y un coeficiente de determinación de validación cruzada (1-VR), que a pesar de no ser valores bajos, no son óptimos para predecir esta fracción. Observándose también que el índice DS/SECV entrega un valor de 2,94 para el mejor tratamiento matemático (2 - 8 - 8 - 1 sin corrección de dispersión de luz) y 2,88 para las otras ecuaciones, que a pesar de ser muy cercano a tres, aún son inferiores a éste valor,

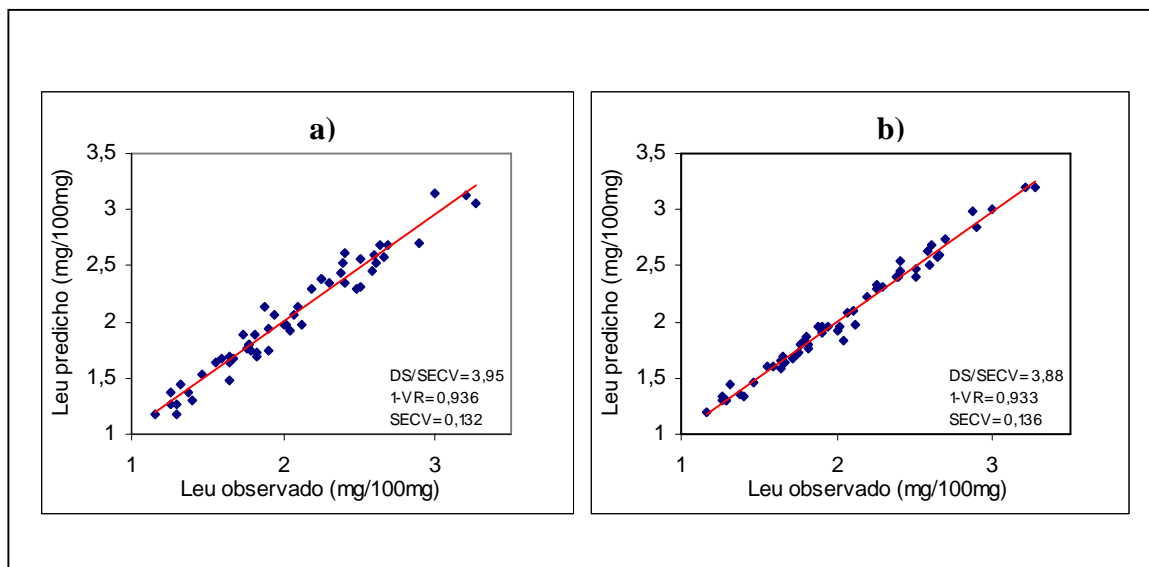


FIGURA 11. Relación existente entre valores de referencia (mg/100mg) y predicho por NIRS (mg/100mg) para leucina. a) Alimentos enteros, b) Alimentos molidos.

4.3.10 Lisina. En el Cuadro 13 se presentan las mejores ecuaciones de calibración desarrolladas para alimentos enteros y molidos. En este caso se puede apreciar, que los resultados entregados por las mejores ecuaciones seleccionadas para este constituyente, arrojan valores para la relación DS/SECV que se encuentran por debajo del mínimo óptimo para ser consideradas como ecuaciones confiables, exceptuando la mejor ecuación de los alimentos molidos la que utilizó el tratamiento matemático 2 -5 -5-1 con corrección de dispersión de luz (SNV&D), donde se observa un valor de 0,893 para 1-VR, lo que indica que ésta ecuación podría explicar el 89,3% de la variabilidad de los datos. Además el índice DS/SECV para este caso alcanza un valor de 3,08, que de acuerdo a lo recomendado, sería considerada confiable para la predicción de esta fracción.

CUADRO 13. Mejores ecuaciones obtenidas para lisina.

Alimentos Enteros									
CDL	TM	N	1-VR	SECV	PROM	DS	(DS/SECV)	SEC	R ²
SNV&D	2 4 8 1	56	0,883	0,086	1,145	0,254	2,95	0,042	0,973
SNV&D	2 5 5 1	56	0,883	0,086	1,145	0,254	2,95	0,04	0,975
NONE	2 5 5 1	54	0,871	0,088	1,135	0,25	2,84	0,042	0,971
Alimentos Molidos									
SNV&D	2 5 5 1	54	0,893	0,083	1,147	0,256	3,08	0,041	0,974
SNV&D	2 4 4 1	55	0,874	0,09	1,152	0,256	2,84	0,037	0,979
NONE	2 8 8 1	56	0,857	0,096	1,145	0,254	2,65	0,049	0,962

En la Figura 12 se observa en ambos gráficos, que existe una buena distribución de datos a lo largo de la línea de tendencia.

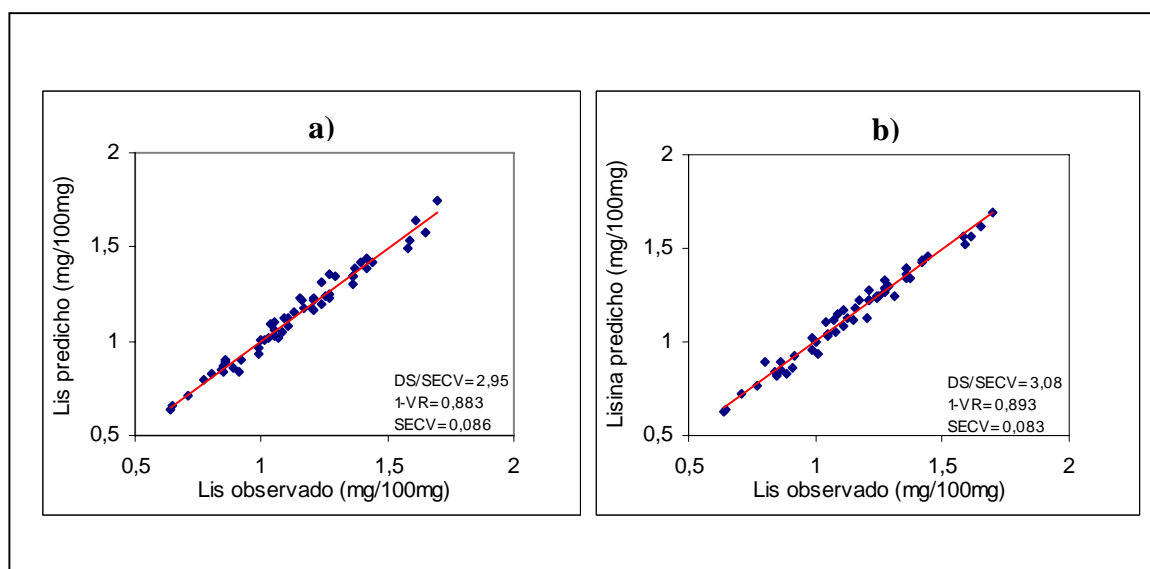


FIGURA 12. Relación existente entre valores de referencia (mg/100mg) y predicho por NIRS (mg/100mg) para lisina. a) Alimentos enteros, b) Alimentos molidos.

4.3.11 Metionina–Cisteína¹. En el Cuadro 14 se presentan las mejores ecuaciones de calibración desarrollada para estos aminoácidos. Se puede apreciar que las mejores ecuaciones seleccionadas para metionina- cisteína, arrojan valores que, si bien muestran una asociación entre los datos, se encuentran por debajo del mínimo óptimo recomendado, para el caso de la relación DS/SECV, para ser consideradas como confiables, tanto en los alimentos enteros como molidos; a pesar de que en estos últimos el valor de este índice es superior al de los alimentos enteros, tampoco alcanza un mínimo de 3, de acuerdo a lo indicado por MURRAY (1993).

CUADRO 14 Mejores ecuaciones obtenidas para metionina- cisteína.

Alimentos Enteros									
CDL	TM	N	1-VR	SECV	PROM	DS	(DS/SECV)	SEC	R²
NONE	2 4 4 1	57	0,747	0,094	0,916	0,186	1,98	0,082	0,804
NONE	2 5 5 1	56	0,747	0,095	0,917	0,188	1,98	0,078	0,826
NONE	2 4 8 1	56	0,742	0,095	0,917	0,188	1,98	0,079	0,822
Alimentos Molidos									
NONE	2 4 8 1	56	0,85	0,073	0,916	0,187	2,56	0,038	0,958
NONE	2 5 5 1	56	0,822	0,079	0,916	0,187	2,37	0,037	0,961
SNV&D	1 4 4 1	57	0,818	0,087	0,927	0,202	2,32	0,076	0,859

En la Figura 13 se observa una distribución desuniforme de los datos en la línea de tendencia para la relación entre los datos observados y los predichos por NIRS, viéndose claramente que los puntos se alejan de esta línea lo que hace que la tendencia se pierda en ambos casos.

¹ Se consideró la metionina y cisteína junta debido a que el organismo del perro utiliza la metionina para la síntesis de cisteína (CASE et al., 2001).

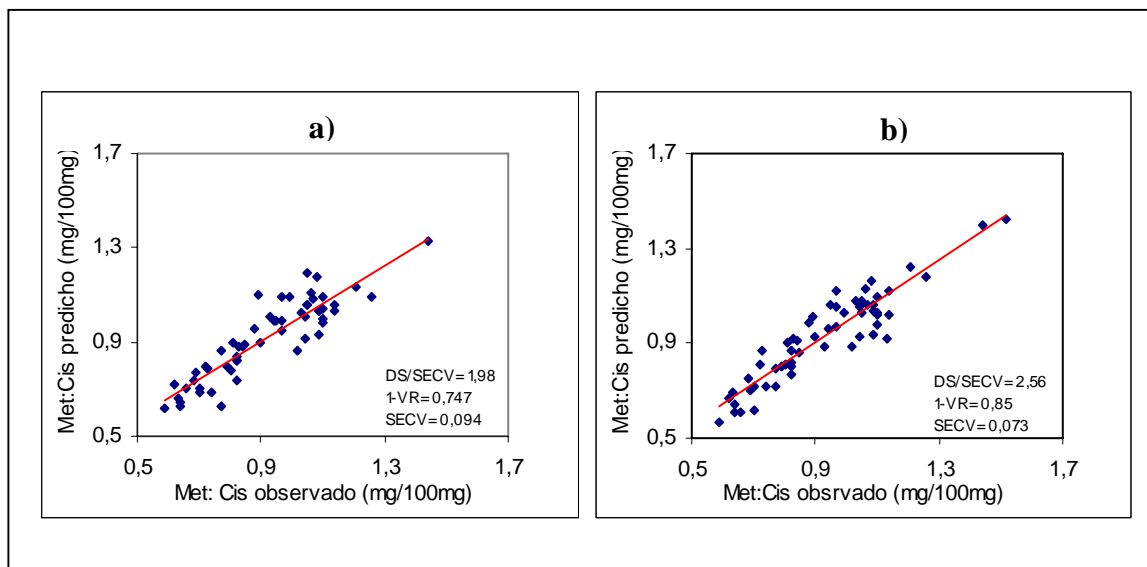


FIGURA 13. Relación existente entre valores de referencia (mg/100mg) y predicho por NIRS (mg/100mg) para, metionina-cisteína. a) Alimentos enteros, b) Alimentos molidos.

4.3.12 Fenilalanina-Tirosina². Se aprecia en el Cuadro 15 los mejores resultados para fenilalanina-tirosina. Las calibraciones hechas para éstos entregan resultados con un alto grado de precisión para los distintos criterios de selección de ecuaciones. Lo cual se ve reflejado en los altos valores del coeficiente de determinación de validación cruzada 0,949 para alimentos enteros y molidos, y los bajos valores del error estándar de validación cruzada.

² Se consideró la fenilalanina y tirosina junto ya que la L-fenilalanina se puede transformar, por medio de una reacción catalizada por la enzima fenilalanina hidroxilasa, en tirosina.

CUADRO 15. Mejores ecuaciones obtenidas para fenilalanina-tirosina.

Alimentos Enteros									
CDL	TM	N	1-VR	SECV	PROM	DS	(DS/SECV)	SEC	R ²
NONE	1 4 8 1	53	0,949	0,088	1,808	0,389	4,42	0,074	0,964
NONE	1 5 8 1	53	0,949	0,088	1,808	0,389	4,42	0,074	0,964
NONE	1 4 4 1	53	0,948	0,088	1,808	0,389	4,42	0,073	0,965
Alimentos Molidos									
NONE	2 5 5 1	56	0,949	0,091	1,826	0,404	4,44	0,072	0,968
NONE	2 4 4 1	56	0,946	0,093	1,826	0,404	4,34	0,071	0,969
SNV&D	2 4 8 1	56	0,945	0,097	1,826	0,403	4,15	0,076	0,965

También se puede mencionar que el índice DS/SECV, en este caso alcanza un valor de 4,42 y 4,44 para alimentos enteros y molidos respectivamente, sobrepasando así el límite para ser considerada confiable.

En la Figura 14 se observa una distribución uniforme de datos para Fenilalanina y Tirosina en la línea de tendencia para la relación entre los datos observados y los predichos por NIRS.

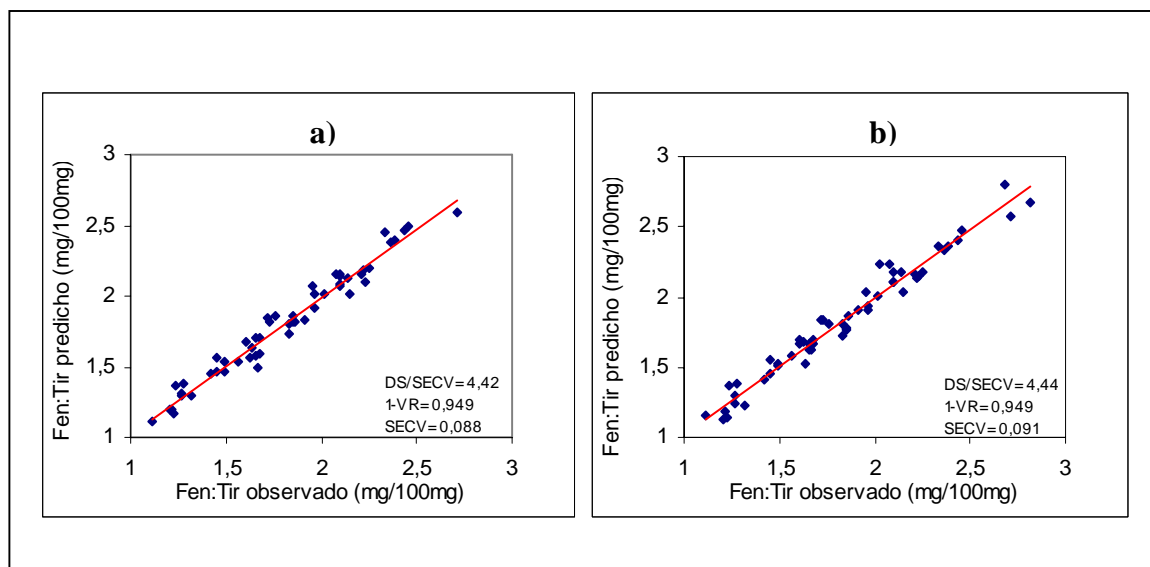


FIGURA 14. Relación existente entre valores de referencia (mg/100mg) y predicho por NIRS (mg/100mg) para fenilalanina-tirosina. a) Alimentos enteros, b) Alimentos molidos.

4.3.13 Treonina. En el Cuadro 16 se puede observar que los mejores resultados se obtuvieron en alimentos molidos, donde las ecuaciones seleccionadas alcanzan un valor para el índice DS/SECV superior a 3, mínimo requerido para entregar confiabilidad al seleccionar una ecuación.

CUADRO 16. Mejores ecuaciones obtenidas para treonina.

Alimentos Enteros									
CDL	TM	N	1-VR	SECV	PROM	DS	(DS/SECV)	SEC	R²
SNV&D	2 4 4 1	58	0,897	0,053	0,863	0,166	3,13	0,044	0,929
NONE	2 8 8 1	57	0,882	0,054	0,852	0,157	2,91	0,046	0,913
SNV&D	1 4 8 1	59	0,881	0,057	0,861	0,166	2,91	0,047	0,92
Alimentos Molidos									
SNV&D	2 4 4 1	59	0,914	0,048	0,861	0,166	3,46	0,031	0,965
SNV&D	2 5 5 1	59	0,91	0,05	0,861	0,166	3,32	0,036	0,952
SNV&D	2 4 8 1	59	0,909	0,05	0,861	0,166	3,32	0,037	0,949

En el caso de los alimentos enteros solo la ecuación cuyo tratamiento matemático corresponde a 2 -4 -4 -1 con corrección de dispersión de luz (SNV&D) alcanza un valor superior a 3.

El que los alimentos molidos obtengan mejores resultados está directamente relacionado con la homogeneidad de la muestra, ya que los alimentos enteros presentan una mayor desuniformidad en el tamaño de partícula, también, en muchos casos se agrega una capa de grasa al exterior de estos alimentos (enteros) para mejorar la palatabilidad, lo que bajaría la precisión del NIRS, ya que podría distorsionar las ondas.

De acuerdo a lo señalado anteriormente, podemos observar en la Figura 15 “b” una buena distribución de las muestras a lo largo de la línea de tendencia, en comparación con la figura “a” donde los datos se encuentran más dispersos.

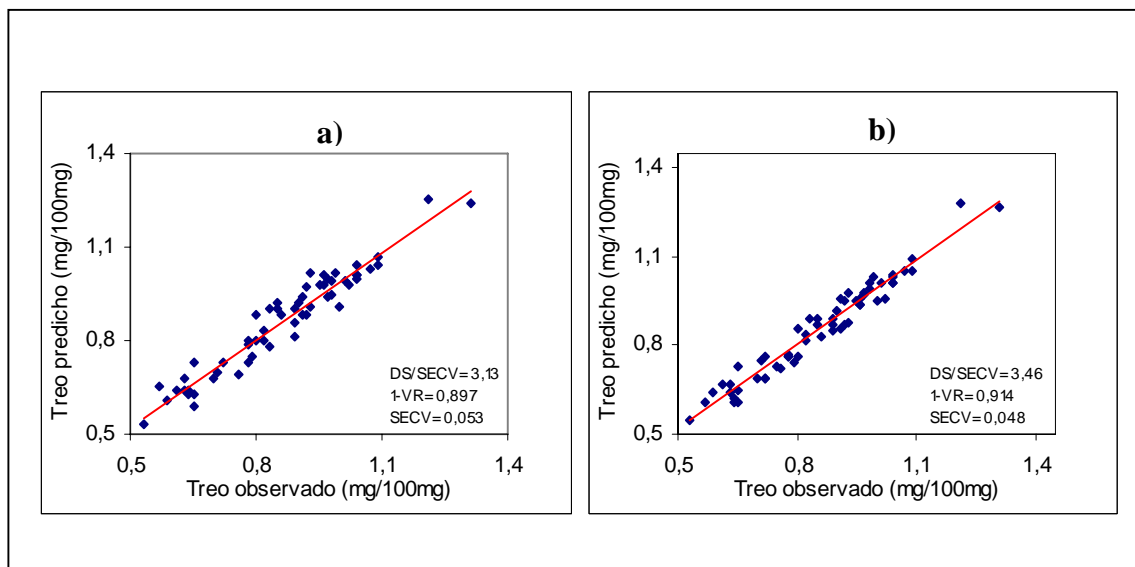


FIGURA 15. Relación existente entre valores de referencia (mg/100mg) y predicho por NIRS (mg/100mg) para treonina. a) Alimentos enteros, b) Alimentos molidos.

4.3.14 Triptófano. En el Cuadro 17 se presentan los mejores resultados de las calibraciones desarrolladas para esta variable. De acuerdo a los resultados obtenidos para las mejores ecuaciones seleccionadas, se puede observar que el índice DS/SECV presenta valores muy bajos para seleccionar según este criterio. Lo mismo ocurre con el coeficiente de determinación de validación cruzada (1-VR) cuyos valores se encuentran entre 0,658 y 0,663, en alimentos enteros y 0,653 y 0,737 en alimentos molidos, lo que no nos permite asegurar una buena predicción para el triptófano

CUADRO 17. Mejores ecuaciones obtenidas para triptófano.

Alimentos Enteros									
CDL	TM	N	1-VR	SECV	PROM	DS	(DS/SECV)	SEC	R ²
SNV&D	2 5 5	59	0,663	0,226	2,426	0,391	1,73	0,154	0,845
SNV&D	2 4 8	59	0,662	0,227	2,426	0,391	1,72	0,156	0,84
SNV&D	2 5 8	59	0,658	0,228	2,426	0,391	1,71	0,159	0,834
Alimentos Molidos									
NONE	2 5 5	57	0,737	0,203	2,422	0,397	1,96	0,11	0,924
SNV&D	0 0 4	58	0,671	0,226	2,424	0,394	1,74	0,172	0,809
SNV&D	0 0 8	58	0,653	0,232	2,424	0,394	1,70	0,174	0,804

En la Figura 16 se aprecia un mejor ajuste de los datos a lo largo de la línea de tendencia en el gráfico “b”, en comparación con el gráfico “a” donde los datos presentan una mayor dispersión en torno a esta línea.

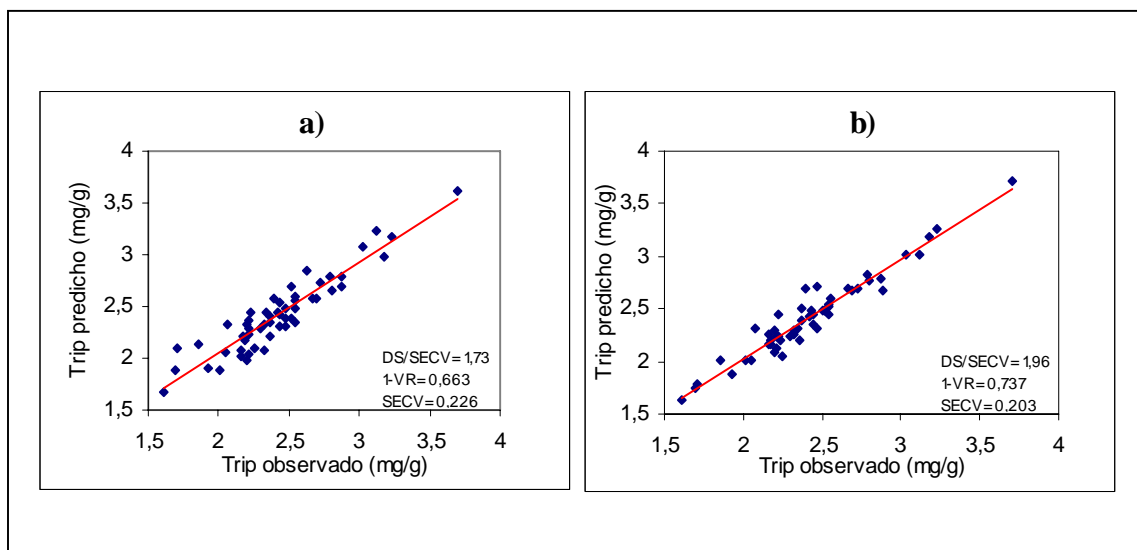


FIGURA 16. Relación existente entre valores de referencia (mg/g) y predicho por NIRS (mg/g) para triptófano. a) Alimentos enteros, b) Alimentos molidos.

4.3.15 Valina. En el Cuadro 18 se puede observar las mejores calibraciones desarrolladas para valina, las que nos entregan resultados con un alto grado de precisión. De acuerdo a lo anteriormente señalado, se puede apreciar que los tratamientos matemáticos que arrojaron los mejores resultados fueron 2 -8 -8 -1 y 2 -4 -4 -1 con corrección de dispersión de luz (SNV&Detrend), para alimentos enteros y molidos respectivamente, entregando un índice DS/SECV de 3,51 y 3,92 para cada caso señalado, lo que indica que esta ecuación asegura una buena predicción, además de tener alto coeficiente de determinación de validación cruzada y un bajo valor para el error estándar de validación cruzada.

CUADRO 18. Mejores ecuaciones obtenidas para valina.

Alimentos Enteros									
CDL	TM	N	1-VR	SECV	PROM	DS	(DS/SECV)	SEC	R ²
SNV&D	2 8 8 1	56	0,919	0,057	1,197	0,2	3,51	0,047	0,946
SNV&D	2 4 4 1	56	0,918	0,058	1,197	0,2	3,45	0,046	0,948
SNV&D	1 4 4 1	56	0,915	0,059	1,203	0,203	3,44	0,059	0,915
Alimentos Molidos									
SNV&D	2 4 4 1	56	0,935	0,053	1,02	0,208	3,92	0,031	0,977
SNV&D	1 8 8 1	53	0,926	0,053	1,185	0,198	3,74	0,035	0,969
NONE	2 4 4 1	56	0,928	0,056	1,202	0,208	3,71	0,033	0,975

En la Figura 17 se presenta la relación gráfica entre los valores observados y los predichos por NIRS con la utilización del tratamiento matemático correspondiente a la mejor calibración desarrollada para cada caso. En cuanto a la distribución de los datos, se puede ver que el gráfico “b” presenta un mejor ajuste a la línea de tendencia que el gráfico “a”, lo que se relaciona directamente con el mejor resultado obtenido para alimentos enteros.

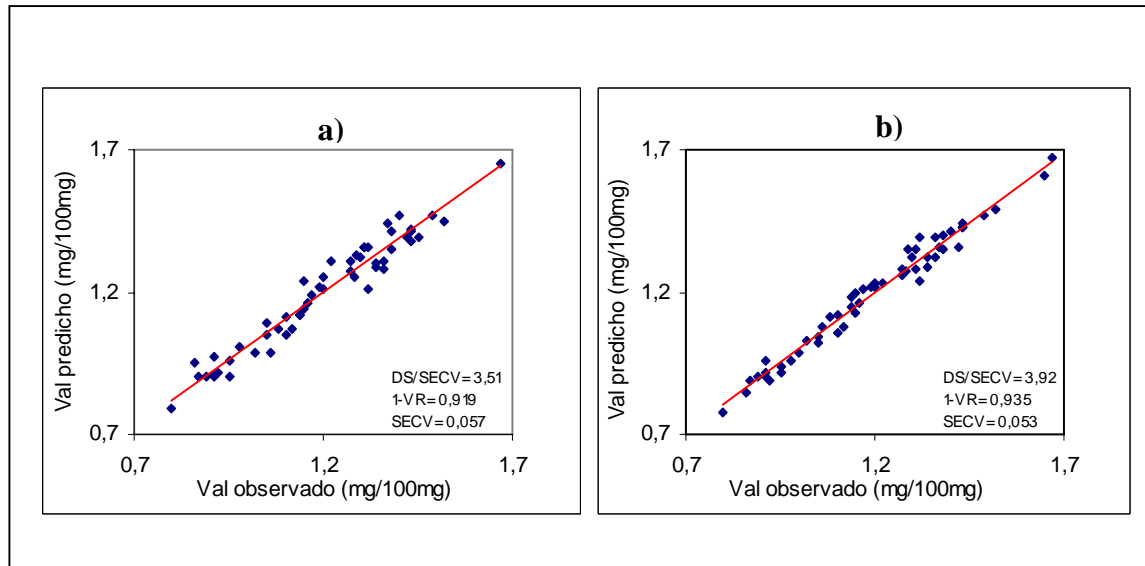


FIGURA 17. Relación existente entre valores de referencia (mg/100mg) y predicho por NIRS (mg/100mg) para valina. a) Alimentos enteros, b) Alimentos molidos.

4.3.16 Lípidos. En el Cuadro 19 se presentan las mejores ecuaciones seleccionadas para este constituyente. Se observa que los mejores resultados entregan valores considerados buenos para el índice 1-VR, pero no así para el índice SECV, el que presenta resultados muy elevados con lo cual la ecuación perdería confiabilidad. Lo cual queda confirmado al observar el resultado entregado por el índice DS/SECV ya que en ningún caso este índice alcanza el valor mínimo para ser consideradas como ecuaciones confiables.

CUADRO 19. Mejores ecuaciones obtenidas para lípidos.

Alimentos Enteros									
CDL	TM	N	1-VR	SECV	PROM	DS	(DS/SECV)	SEC	R ²
NONE	2 8 8 1	56	0,83	1,588	13,959	3,841	2,42	1,203	0,902
NONE	2 4 8 1	58	0,815	1,685	14,008	3,888	2,31	1,311	0,886
NONE	2 5 8 1	58	0,814	1,688	14,008	3,888	2,3	1,321	0,884
Alimentos Molidos									
SNV&D	2 4 4 1	56	0,879	1,351	13,938	3,856	2,85	1,098	0,919
SNV&D	2 5 5 1	56	0,878	1,353	13,938	3,856	2,85	1,117	0,916
SNV&D	2 4 8 1	56	0,877	1,36	13,938	3,856	2,84	1,124	0,915

Al observar la Figura 18 se puede señalar que existe una propensión de los datos observados químicamente y predichos por NIRS, en relación a la línea de tendencia, a alejarse de ésta sin mostrar una tendencia clara.

Al igual que en casos anteriores, a pesar de estas ecuaciones no pueden ser utilizados en forma confiable, sí pueden predecir rangos de valores o tendencias, como una aproximación primaria al valor real.

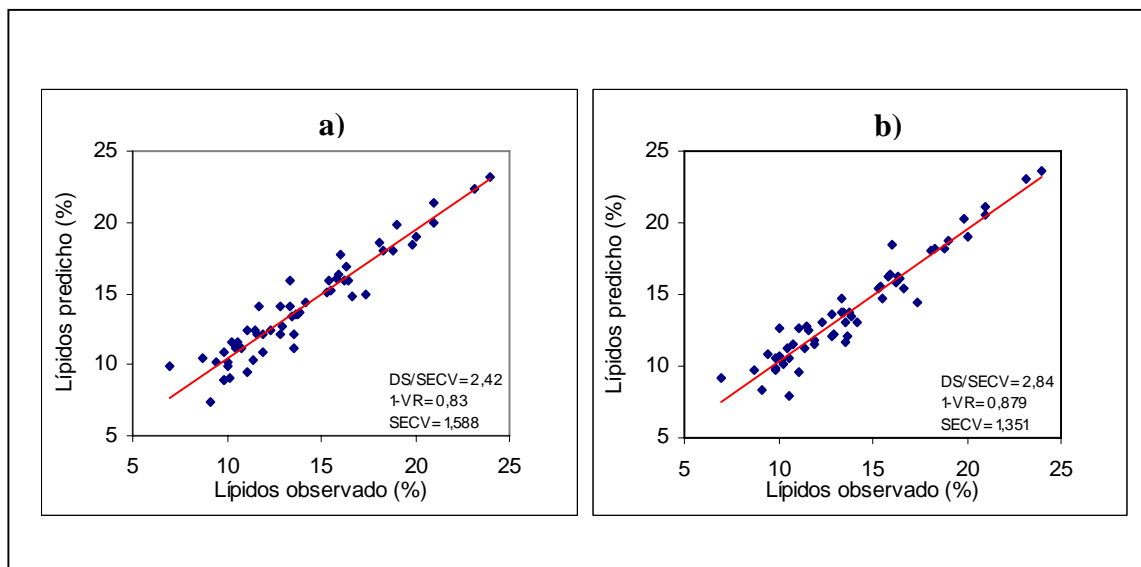


FIGURA 18. Relación existente entre valores de referencia (%) y predicho por NIRS (%) para lípidos. a) Alimentos enteros, b) Alimentos molidos.

4.3.17 Ácido Linoleico. Para este constituyente se presenta en el Cuadro 20 el resultado de las mejores ecuaciones de calibración desarrolladas.

CUADRO 20. Mejores ecuaciones obtenidas para Ácido linoleico.

Alimentos Enteros									
CDL	TM	N	1-VR	SECV	PROM	DS	(DS/SECV)	SEC	R ²
NONE	2 8 8 1	57	0,753	0,509	3,153	1,016	2,00	0,296	0,915
NONE	2 4 4 1	58	0,701	0,557	3,162	1,01	1,81	0,342	0,885
SNV&D	1 8 8 1	56	0,684	0,565	3,163	0,991	1,75	0,385	0,849
Alimentos Molidos									
SNV&D	1 4 4 1	56	0,675	0,588	3,18	1,02	1,73	0,401	0,846
SNV&D	1 4 8 1	56	0,672	0,59	3,18	1,02	1,73	0,405	0,842
SNV&D	1 5 8 1	56	0,67	0,592	3,18	1,02	1,72	0,406	0,841

De acuerdo a los resultados obtenidos para este caso, los alimentos enteros muestran mejor ajuste que los alimentos molidos. A pesar de esto no aseguran que el poder de predicción sea óptimo, lo que queda confirmado al observar el valor del índice DS/SECV de la mejor ecuación para alimentos enteros y molidos, la que para el primer caso utilizó el tratamiento matemático 2 -8 -8 -1 sin corrección de dispersión de luz

(none) y en el segundo caso utilizó el tratamiento matemático 1 -4 -4 -1 con corrección de dispersión de luz (SNV&Detrend), tomando un valor de 2 y 1,73 respectivamente, lo que sería bajo de acuerdo a criterio señalado por MURRAY (1993).

En la Figura 19 se puede observar que la distribución de los datos observados y predichos por NIRS, en relación a la línea de tendencia es a acercarse a ésta, mostrando una zona situada entre 1,5 a 4,5% (para ambos casos), donde se concentra la mayor parte de la muestras analizadas.

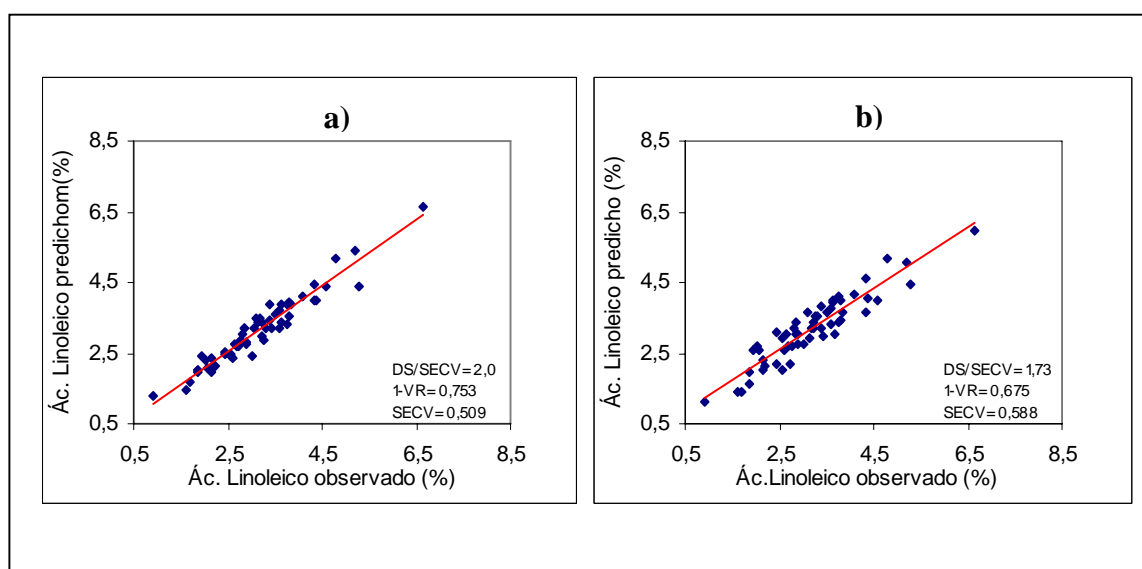


FIGURA 19. Relación existente entre valores de referencia (%) y predicho por NIRS (%) para Ácido linoleico. a) Alimentos enteros, b) Alimentos molidos.

4.3.18 Minerales. Para el análisis de los minerales, estos se han separado en macrominerales y microminerales.

Entre los macrominerales analizados encontramos Calcio, Fósforo, la relación Ca-P, Potasio, Sodio, Cloro, Magnesio; y en el caso de los microminerales analizados tenemos Hierro, Cobre, Manganeso, Zinc, Yodo y Selenio.

En el Cuadro 20 se presentan las mejores ecuaciones desarrolladas para macro y microminerales. En este caso, los minerales por el hecho de estar formados por estructuras químicas de naturaleza inorgánica, no poseen enlaces que permitan absorción en la región del infrarrojo, por lo tanto, el poder de predicción NIRS decrece.

Por lo señalado anteriormente, se confirma que no es posible predecir por este método ni macro ni micro minerales.

De acuerdo a lo señalado por COZZOLINO (2002), los minerales y otros elementos inorgánicos pueden estar asociados a la estructura orgánica bajo la forma de óxidos, quelatos u otros complejos, que indirectamente pueden ser estimados por el NIRS.

CUADRO 21. Mejores ecuaciones obtenidas para macrominerales y microminerales.

Macrominerales Alimentos Enteros										
MINERAL	CDL	TM	N	1-VR	SECV	PROM	DS	(DS/SECV)	SEC	R²
Ca	SNV&D	1 8 8	56	0,433	0,451	1,649	0,57	1,26	0,317	0,69
P	SNV&D	2 5 8	59	0,355	0,15	1,051	0,187	1,25	0,07	0,861
K	SNV&D	2 8 8	56	0,64	0,065	0,608	0,108	1,66	0,039	0,868
Na	NONE	2 5 8	57	0,315	0,073	0,387	0,087	1,19	0,055	0,604
Cl	NONE	2 8 8	54	0,53	0,126	0,663	0,18	1,43	0,093	0,735
Mg	SNV&D	2 4 4	54	0,718	0,033	0,171	0,061	1,65	0,022	0,873
Ca:P	NONE	0 0 8	54	0,094	0,322	1,461	0,293	0,91	0,267	0,17
Macrominerales Alimentos Molidos										
Ca	NONE	2 5 5	54	0,522	0,369	1,605	0,495	1,34	0,213	0,815
P	SNV&D	2 4 4	59	0,467	0,137	1,051	0,187	1,36	0,109	0,66
K	NONE	2 4 4	59	0,484	0,077	0,609	0,106	1,38	0,034	0,895
Na	NONE	2 5 8	54	0,395	0,063	0,38	0,082	1,30	0,042	0,737
Cl	SNV&D	2 4 4	53	0,626	0,109	0,669	0,175	1,61	0,067	0,854
Mg	NONE	2 8 8	54	0,687	0,034	0,172	0,061	1,79	0,03	0,764
Ca:P	NONE	2 8 8	55	0,218	0,299	1,463	0,33	1,10	0,189	0,674
Microminerales Alimentos Enteros										
MINERAL	CDL	TM	N	1-VR	SECV	PROM	DS	(DS/SECV)	SEC	R²
Fe	NONE	1 5 8	58	0,165	93,45	347,79	101,531	1,09	84,139	0,313
Cu	SNV&D	2 4 4	59	0,309	8,483	29,459	10,232	1,21	7,105	0,518
Mn	NONE	0 0 4	58	0,263	25,67	64,95	30,003	1,17	25,039	0,304
Zn	SNV&D	2 5 5	56	0,525	40,57	174,625	58,609	1,44	16,96	0,916
I	SNV&D	2 4 4	56	0,468	1,204	2,665	1,66	1,38	0,734	0,805
Se	SNV&D	0 0 4	55	0,511	0,152	0,435	0,215	1,41	0,141	0,57
Microminerales Alimentos Molidos										
Fe	SNV&D	2 8 8	56	0,237	97,478	357,366	112,257	1,15	82,535	0,459
Cu	NONE	2 4 4	57	0,665	5,989	29,591	10,381	1,73	3,393	0,893
Mn	NONE	1 4 4	58	0,342	24,24	64,95	30,003	1,24	23,477	0,388
Zn	SNV&D	2 4 4	55	0,647	35,303	175,831	58,469	1,66	17,483	0,911
I	SNV&D	2 4 8	58	0,438	1,252	2,68	1,677	1,34	0,966	0,668
Se	SNV&D	0 0 4	56	0,514	0,161	0,447	0,231	1,43	0,154	0,553

5 CONCLUSIONES

- Al comparar la aplicación de la metodología NIRS a alimentos enteros y molidos se observa que la molienda permite mejorar la predicción de la composición nutricional de los alimentos, ya que de 30 parámetros analizados químicamente, en 27 la predicción en el alimento molido es mejor que en el alimento extruido o entero.

- Los resultados de fibra cruda, proteína bruta, isoleucina, leucina, fenilalanina-tirosina, treonina y valina, para los diferentes criterios de selección utilizados (1-VR, SECV y DS/SECV), fueron predichos en forma confiable tanto en alimentos enteros como molidos; mientras que para la materia seca y energía bruta solamente los alimentos molidos pueden ser adecuadamente predichos.

- En el caso de histidina, metionina-cisteína, triptófano, lípidos y ácido linoleico, esta metodología no permite su predicción, ya que los resultados arrojados por los índices de selección, no alcanzan valores confiables.

- En el caso de la Energía Metabolizable, no se podría predecir con exactitud su contenido, con los valores de referencia empleados, que no son obtenidos directamente de un ensayo *in vivo*, sino que de una ecuación proveniente de los datos entregados químicamente de Proteína Cruda, Grasa Cruda y Extracto libre de Nitrógeno.

- De las ecuaciones seleccionadas como mejores, casi la totalidad presentan algún grado de diferenciación (1ª o 2ª derivada), siendo la 2ª derivada la que presenta mayor utilización entre los diferentes tratamientos matemáticos utilizados tanto para alimentos enteros como molidos.

- Con respecto a la transformación SNV&Detrend, se puede ver que la mayor parte de las ecuaciones de calibración, tanto en los alimentos enteros como molidos, utilizaron este tipo de transformación.

- Los resultados obtenidos soportan la hipótesis general, ya que la tecnología NIRS es capaz de predecir en forma confiable varias fracciones nutricionales relevantes en alimentos para perros.

6 RESUMEN

Se realizó un estudio con el objetivo de predecir la composición nutricional de alimentos secos para perros utilizando la tecnología NIRS. Cincuenta y nueve alimentos para perros adultos y cachorros fueron colectados por reflectancia a través de un monocromador de barrido NIRS System 6500 con un módulo de transporte (en alimentos peletizados) y de rotación (en alimentos molidos, los que fueron obtenidos a partir de los alimentos peletizados), entre 400 y 2500 nm, manejado a través de un computador utilizando el programa WINISI 1.04 de Infrasoftware Internacional, donde se evaluó la exactitud de predicción para Materia seca, Proteína bruta, Aminoácidos, Energía metabolizable, Energía bruta, Fibra cruda, Lípidos y Minerales.

Se desarrollaron ecuaciones para los alimentos peletizados y molidos, donde se relacionaron los datos espectrales con los de referencia utilizando el método de los cuadrados mínimos parciales modificado (MPLS) aplicando distintos tratamientos matemáticos. La elección de ecuaciones fue basada en el coeficiente de determinación ($1-VR$), error estándar de validación cruzada (SECV) y la relación DS/SECV.

Los datos obtenidos indican que los alimentos molidos predicen de mejor forma la composición nutricional que los alimentos peletizados y solamente en Fibra Cruda, Proteína Bruta, Isoleucina, Leucina, Fenilalanina-Tirosina, Treonina y Valina, se puede predecir en forma confiable su contenido.

En el caso de Energía metabolizable, Histidina, Metionina-Cisteína, Triptófano, Lípidos y Ácido Linoleico, esta metodología no es apropiada para su predicción, y en el caso de los minerales por el hecho de estar formados por estructuras químicas de naturaleza inorgánica, no poseen absorción en la región del infrarrojo, por lo tanto, el poder de predicción NIRS decrece.

Con respecto a las transformaciones matemáticas, la 2ª derivada fue la que presento la mayor utilización, entregando los mejores resultados, tanto en alimentos enteros como molidos, así también la transformación SNV&Detrend, se utilizó en la mayor parte de las ecuaciones de calibración seleccionadas.

SUMMARY

A study with the objective of predicting the nutritional composition of dry food for dogs using NIRS technology was carried out. Fifty-nine brands of food for adult and growing dogs were analysed by reflectance using a NIRS System 6500 monochromator with a transport module (in extruded) and rotation module (in ground food, which was obtained from extruded food) between 400 and 2500 nm, managed by a computer using the program WINISI 1.04 by Infrasoft International, where the exact prediction for dry matter, crude protein, amino acids, metabolizable energy, gross energy, crude fiber, lipids, and minerals was evaluated.

Equations for extruded and ground food were developed, where the spectral and reference data were related, using the method of modified partial least square (MPLS) applying different mathematical treatments. The selection of the best equation was based on the determination coefficient ($1-VR$), standard error of crossed validation (SECV) and the relation $DS/SECV$.

The obtained data indicated that the nutritional composition could be better predicted in ground food than extruded food and only the crude fiber, crude protein, isoleucine, leucine, phenylalanine-tyrosine, threonine and valine contents can be reliably predicted using NIRS.

In the case of metabolizable energy, histidine, methionine-cysteine, tryptophan, lipids and linoleic acid, this methodology is not appropriate for their prediction, and in the case of minerals, since they are formed by chemical structures of inorganic nature; there is no absorption in the infrared area, therefore, their contents can not be reliably predicted.

In the case of the mathematical transformations, the 2nd derivative gave the best results, in both extruded and ground food; and also, the transformation SNV&Detrend was used in the greatest part of the selected calibration equations.

7 BIBLIOGRAFÍA

- ALOMAR, D. 1997. Método NIRS: técnica de análisis de la composición y calidad de productos. *Agroeconómico (Chile)* 39: 44 - 47.
- ALOMAR, D. y FUCHSLOCHER, R. 1998. Fundamentos de la espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) como método de análisis de forrajes. *Agro Sur, (Chile)* 26 (1): 88 - 104.
- AOAC. 1970. *Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemists. 11th edición. Washington, DC.
- AOAC. 1995. *Oficial Methods of Análisis*. Association of Official Analytical Chemists. 17th edición. Washington, DC.
- AOAC. 1996. *Oficial Methods of Análisis*. AOAC International, 16th Ed., Gaithersburg, MD, USA.
- ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS (AAFCO). 2002. *Official Publication*. AAFCO Inc., Atlanta. 464 p.
- BARNES, R. y DHANOA, M. 1988. Advances in near infrared calibration development and transfer. *Food Science and Technology Today*. 2(2): 143 - 146.
- BATEMAN, J. V. 1970. *Nutrición Animal. Manual de métodos analíticos*. Herrera Hermanos, Sucesores. México, D. F., México. 468 p.

- 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.
- CANTELLOPS, D., REID, A., EINTENMILLER, Ry LONG, A. 1999. Determination of lipids in infant formula powder by direct extraction methylation of lipids and fatty acid methyl esters (FAME) analysis by gas chromatography. *Journal of AOAC International*. 82 (5): 1128 - 1139.
- CASE, L., CAREY, D., HIRAKAWA, D. y DARISTOTLE, L. 2001. *Nutrición Canina y Felina*. Madrid, España. Harcourt. 592p.
- COZZOLINO, D. 2002. Uso de la espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) en el análisis de alimentos para animales. *Agrociencia (Uruguay)*. 6 (2): 25 - 32.
- COZZOLINO, D; FASSIO, A; FERNANDEZ, E. 2003. Uso de la espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano para el análisis de calidad de ensilaje de maíz. *Agricultura Técnica (Chile)*. 63(4): 387 - 393.
- EDIVET. 2001. ¿Cuándo se originaron los alimentos para perros? http://www.edivet.com/pagina_principal.htm>. (15 de Agosto de 2003).
- GARRIDO, A; GOMEZ, A; GUERRERO, J.E; FERNÁNDEZ, V. 1996. NIRS: Una tecnología de apoyo para un servicio integral en alimentación animal. Departamento de Producción Animal. ETSIAM. Universidad de Córdoba. XII Curso de especialización FEDNA. Madrid, España. 27 p.

- GARRIDO, O. F. y MANN, E. A. 1981. Composición Química, Digestibilidad y Valor Energético de una Pradera Permanente de Pastoreo a Través del Año. Tesis Ingeniero Agrónomo, Universidad Austral de Chile, Valdivia. Chile.
- GIVENS, D. I.; DEAVILLE. 1999. The current and future role of near infrared reflectance spectroscopy in animal nutrition: a review. *Australian Journal of Agriculture Research*. 50: 1131 - 1145.
- INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN AGROPECUARIA (INIA La Estanzuela, Uruguay). 2001. Laboratorio NIRS. <<http://www.inialaestanzuela.org.htm>> (03 de febrero de 2005).
- NIRSOLUCIONES S.L. 2002. La tecnología NIRS <http://www.nirsoluciones.com>. (03 de Febrero de 2005).
- NORRIS, K. H. 1989. Definition of NIRS analysis. *In*: Martens, G. C., J. S. Shenk, and F. E. Barton II (eds.). *Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS): Analysis of Forage Quality*. U. S. Department of Agricultura, Agricultura Handbook. N° 643. (revised with supplements). Pp. 12 – 17.
- MORCILLO, J. 1974. *Espectroscopia Infrarroja*. Washington, Estados Unidos. Secretaria General de la Organización de Estados Americanos. 74 p.
- MURRAY, I. 1988. Aspects of the interpretation of near infrared spectra. *Food Science and Technology Today*. 2 (2): 135 - 140.
- MURRAY, I. 1993. Forage analisis by Near Infra-red reflectance spectroscopy. *In*: Davies, Baker, Grant and Laidlaw (Eds.). *Sward measurement handbook*, second ed. British Grassland Soc., pp: 12 - 17.

MURTAGH, K. 2000. Factibilidad de predicción de composición nutricional de forrajes de distintas especies, mediante una ecuación NIRS (espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano) desarrollada para ensilaje. Tesis Lic. Agr. Valdivia. Universidad Austral Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 94 p.

ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN (FAO). 2004. Base de datos estadísticos. <http://www.fao.org/inicio.htm>. (10 de Enero de 2005).

OSBORNE, B; FEARN, T; HINDLE, P. 1993. Practical NIR spectroscopy with applications in food and beverage analysis. 2ª ed. Londres, Inglaterra. Longman Scientific & Technical. 227 p.

SHENK, J; WESTERHAUS, M. 1994. The application of Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) to forage analysis. *In*: Forage Quality Evaluation and Utilization. Madison, Estados Unidos. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America. pp: 406 - 449.

ANEXOS

ANEXO 1: Listado de alimentos para perros adultos en etapa de mantención.

Acomer	Champion	Hill's Science Diet
Acuenta	Dino	Masterdog
Alpo	Dog Food	Max Buffet
Amino Dog	Dog Chow	Pedigree
Bil-Jac	Dogui	Precept
Bobican	Doko	Pro Nature
Cachupin	Eukanuba	Pro Plan
Canito	Firstchoice	Rocky
Cannes	Full Dog	Royal Canin
Cinco Continentes	Guardian	Sabrokan
Champ	Guau Forte	Star Pro

ANEXO 2: Listado de alimentos para perros en etapa de crecimiento.

Acomer	Champion	Max Filhote
Alpo	Dog Food	Pedigree
Amino Dog	Dog Chow	Precept
Bil-Jac	Dogui	Pro Nature
Bobican	Doko	Pro Plan
Cachupin	Eukanuba	Royal Canin
Canito	Firstchoice	Sabrokan
Cannes	Hill's Science Diet	Star Pro
Cinco Continentes	Masterdog	