

Evaluación de modelos de predicción de composición química y energía bruta de kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) usando espectroscopía en infrarrojo cercano (NIRS)

Evaluation of prediction models of chemical composition and gross energy of kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) using near infrared spectroscopy (NIRS)

Flor Mejía^{1,4}, Ives Yoplac², Wilmer Bernal², Wilson Castro³

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar modelos de predicción de la composición química del pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) usando espectroscopía en el infrarrojo cercano (NIRS). Se recolectaron muestras de *P. clandestinum* del distrito de Florida-Pomacochas, Amazonas, Perú, en tres edades de la planta (45, 60 y 75 días después del corte) y dos épocas del año (lluviosa y seca). Se determinó el contenido de humedad (H), proteína cruda (PC), extracto etéreo (EE), fibra cruda (FC), cenizas y energía bruta (EB). Se obtuvieron los espectros de absorbancia en el rango de longitud de onda de 1100-2500 nm. Mediante funciones y scripts de Matlab 2015^a se implementaron modelos de predicción, completos y optimizados, mediante redes neuronales (ANN) y regresión por mínimos cuadrados parciales (PLSR). Los modelos optimizados usaron 18 longitudes de onda relevantes, determinadas para ambos tipos de modelos de acuerdo a la matriz de beta coeficientes del modelo PLSR. Los modelos PLSR vs ANN, en la etapa de validación, mostraron mejores ajustes ($R^2 > 0.70$) en H, PC, EE, cenizas y EB con un R^2 de 0.74, 0.89, 0.79, 0.74 y 0.87, respectivamente. Por tanto, el modelo NIRS-PLSR tiene potencial en la predicción de la composición del pasto kikuyo (*P. clandestinum*).

Palabras clave: análisis químico; NIRS; PLSR; ANN; validación; *Pennisetum clandestinum*

¹ Escuela de Post Grado, Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, Chachapoyas, Perú

² Facultad de Ingeniería Zootecnista, Agronegocios y Biotecnología, Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, Chachapoyas, Perú

³ Facultad de Ingeniería, Universidad Privada del Norte, Cajamarca, Perú

⁴ E-mail: flor.mejia@untrm.edu.pe

Recibido: 21 de agosto de 2018

Aceptado para publicación: 15 de abril de 2019

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate predictive models of the chemical composition of kikuyo grass (*Pennisetum clandestinum*) using near infrared spectroscopy (NIRS). Samples of *P. clandestinum* were collected from the district of Florida-Pomacochas, Amazonas, Peru, in three stages of the plant (45, 60 and 75 days after cutting) and two seasons (rainy and dry). The moisture content (H), crude protein (PC), ether extract (EE), crude fibre (FC), ash and gross energy (EB) were determined. The absorbance spectra were obtained in the wavelength range of 1100-2500 nm. Through Matlab 2015^a functions and scripts, complete and optimized prediction models were implemented using neural networks (ANN) and regression by partial least squares (PLSR). The optimized models used 18 relevant wavelengths, determined for both types of models according to the matrix of beta coefficients of the PLSR model. The models PLSR vs ANN, in the validation stage, showed better fit ($R^2 > 0.70$) in H, PC, EE, ash and EB with an R^2 of 0.74, 0.89, 0.79, 0.74 and 0.87, respectively. Therefore, the NIRS-PLSR model has potential in the prediction of the composition of the kikuyo grass (*P. clandestinum*).

Key words: chemical analysis; NIRS; PLSR; ANN; validation; *Pennisetum clandestinum*

INTRODUCCIÓN

El análisis químico de los forrajes permite conocer su composición nutricional, facilitando la formulación de raciones que cubran los requerimientos energéticos y nutricionales de los animales (Molano *et al.*, 2016). Sin embargo; el alto costo de los reactivos químicos y su escasa disponibilidad en la región Amazonas (Asekova *et al.*, 2016) resalta la importancia de contar con tecnologías económicas para ampliar el uso de estos análisis (Oliva *et al.*, 2015).

Una tecnología emergente, con aplicación en el análisis de la composición química y nutricional es la espectroscopía en el infrarrojo cercano (*Near-Infrared Spectroscopy*, NIRS). Esta se ha usado con relativo éxito en la determinación de la composición nutricional de forrajes (Valenciaga *et al.*, 2006; Sandoval *et al.*, 2008; Asekova *et al.*, 2016; Bezada *et al.*, 2017). Las principales ventajas del NIRS son su bajo costo, reducido tiempo de análisis y carácter no destructivo (Cen y He, 2007; Zhang y Su, 2014); no obstante, la técnica requiere generar mode-

los de calibración para relacionar los perfiles espectrales NIR y valores de composición obtenidos por métodos tradicionales, como el método proximal (Dykes *et al.*, 2014, Guindo *et al.*, 2016; Rushing *et al.*, 2016; Gatiús *et al.*, 2017).

Por tanto, debido a que no se cuenta con modelos de predicción de la composición en pastos de la región Amazonas se planteó como objetivo principal de este trabajo evaluar modelos de predicción de la composición química del pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) usando NIRS.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de Estudio y Muestras

Las muestras se recolectaron en el distrito de Florida-Pomacochas, provincia de Bongará, Amazonas y los análisis se realizaron en el Laboratorio de Nutrición Animal y Bromatología de Alimentos de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas (Chachapoyas, Perú).

Se trabajó con 42 muestras (30 para calibración y 12 para validación externa) de *P. clandestinum* recogidas de dos épocas del año: lluviosa (marzo-junio) y seca (agosto-octubre), en tres edades de la planta (45, 60 y 75 días después del corte). Las muestras fueron secadas en una estufa a 60 °C por 48 horas y, posteriormente, molidas y envasadas en bolsa de polietileno de alta densidad.

Análisis Químico de Referencia

El análisis químico se realizó según el protocolo de la AOAC (1990) para las variables nutricionales proteína cruda (AOAC 976.05), extracto etéreo (AOAC 920.39), fibra cruda (AOAC 978.10), cenizas totales (AOAC 942.05) y humedad (AOAC 925.45-A, AOAC, 1995). En el caso de energía bruta se utilizó la metodología de calorimetría.

Obtención de Perfiles Espectrales

Los perfiles espectrales se obtuvieron mediante la metodología descrita por Asekova *et al.* (2016) y Molano *et al.* (2016), con las siguientes modificaciones: el escaneo de los espectros de absorbancia NIRS (SpectraStar 2500XL, EEUU), con lámpara halógena de tungsteno como fuente de luz y detector InGaAs (indio – galio – arsénico) se hicieron en el rango de longitud de onda 1100-2500 nm, y los espectros de muestra cada se tomaron por quintuplicado.

Modelado

Para modelar las relaciones entre perfiles espectrales y parámetros nutricionales se usaron funciones implementadas en los scripts de Matlab 2015^a. Asimismo, la regresión por mínimos cuadrados parciales (*Partial Least Squares Regression*, PLSR) y las redes neuronales (*Artificial Neural Networks*, ANN) hicieron uso de los toolboxes de Matlab.

PLSR

PLSR es uno de los métodos más utilizados y se ha aplicado para predecir propiedades de los forrajes (Ibáñez y Alomar, 2008;

Andueza *et al.*, 2011; Shetty *et al.*, 2012; Reddersen *et al.*, 2013; Bezada *et al.*, 2017). En esencia, utiliza los valores de absorbancia dentro de un rango de longitud de onda determinado, extrae las características del espectro y luego establece la correlación entre las mediciones instrumentales y los valores de la propiedad de interés (Wold *et al.*, 2001; Zhang *et al.*, 2017).

Para desarrollar y validar el modelo PLSR se realizaron modelos completos con todas las longitudes de onda de cada parámetro y optimizados con las longitudes de onda relevantes de cada uno de los parámetros mediante el procedimiento descrito por Vásquez *et al.* (2017).

ANN

Las ANN son técnicas de aprendizaje supervisadas que se utilizan para predicción y clasificación. Los modelos ANN consisten en una capa de entrada, una o más capas ocultas y una capa de salida (Afandi *et al.*, 2016). La capa de entrada recibe los valores de entrada y, por medio de una función de transferencia, distribuye los valores de atributo de entrada en las siguientes capas. En las capas ocultas, los datos se calculan utilizando funciones de transferencia sigmooidal no lineal. En la capa de salida, la cantidad de elementos de procesamiento depende de las categorías de clasificación (Vásquez *et al.*, 2017; Zeng *et al.*, 2017), y el número de neuronas en la capa de entrada y en la capa de salida corresponden a las longitudes de onda y los parámetros que se modelan (Vásquez *et al.*, 2017).

Se construyeron los modelos ANN completos y optimizados en forma análoga al modelo PLSR. El modelo optimizado usó las mismas longitudes de onda seleccionadas para el modelo PLSR.

Validación

Para la validación del modelo se siguió el procedimiento propuesto por Vásquez *et al.* (2017). Un conjunto de datos, denomina-

do de validación, de 12 muestras se usaron para determinar el error entre los valores reales de cada parámetro nutricional y los predichos usando los modelos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis Químico de Referencia

Los resultados del análisis químico proximal del pasto kikuyo se presentan en el Cuadro 1. Los valores fueron inferiores a los reportados por Soto *et al.* (2005), Aguilar *et al.* (2009) y Jaimes *et al.* (2015) para proteína cruda (19.04, 20.6 y 17.8%, respectivamente) y extracto etéreo (4.05, 2.26 y 2.10%; respectivamente). Así mismo, el porcentaje de cenizas en este estudio fue superior al 9.53 y 10.0% encontrados por Soto *et al.* (2005) y Jaimes *et al.* (2015), respectivamente. El perfil espectral se encuentra en el rango de longitud de onda de 1100-2500 nm (Figura 1).

Longitudes de Ondas Relevantes

Las longitudes de onda relevantes para construir el modelo optimizado se distribuyeron a lo largo del rango evaluado (Figura 2). Se obtuvieron 18 longitudes de onda relevantes, estando para humedad en el rango de 1100-1400, 1600-2087 y 2170-2489 nm, para proteína de 1678-2496 nm, para extracto etéreo de 1187-1266, 1679, 1708 y 1917-2489 nm, para fibra cruda de 1257-1396, 1666-1730, 1880-2143 y 2238-2497 nm, para cenizas de 1211-1240, 1840-2136 y 2272-2497 nm y para energía bruta de 1289-1503, 1904-2129 y 2262-2497 nm. Los resultados concuerdan con Osborne (2006) y Sandoval *et al.* (2008), quienes indican que cada longitud de onda tiene una diferente banda de absorción el cual indica un nutriente diferente en cada longitud de onda.

Modelado y Validado con PLSR y ANN

El efecto del número de variables latentes explicado en el porcentaje de Y y el error cuadrático medio (RMSE) fue evalua-

Cuadro 1. Análisis químico proximal del pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) en base seca, Amazonas, Perú

| Parámetro (%) | Media \pm DE |
|-----------------------|------------------|
| Humedad | 6.92 \pm 1.10 |
| Proteína cruda | 16.64 \pm 2.40 |
| Extracto etéreo | 1.98 \pm 0.38 |
| Fibra cruda | 26.88 \pm 3.05 |
| Cenizas | 10.80 \pm 1.08 |
| Energía bruta (MJ/kg) | 4.49 \pm 0.23 |

do para determinar el número óptimo de variables latentes en el modelo PLSR, los cuales nos determina la cantidad de longitudes de onda relevantes a utilizar.

Se generaron dos modelos de predicción, los cuales fueron validados y los resultados se muestran en el Cuadro 2 y Figura 3. El modelo PLSR produjo resultados aceptables con altos valores de R^2 y el modelo ANN presentó valores bajos no aceptables, a excepción de PC y EB. En PC reporto un R^2 superior a 0.90 y para los demás parámetros nutricionales evaluados se obtuvo un R^2 inferior a 0.90, pero mayor que 0.70, lo cual indica un R^2 aceptable en PLSR.

Estos resultados fueron similares a los obtenidos por Bezada *et al.* (2017), quienes estudiaron el rye-grass italiano mediante el modelo de mínimos cuadrados parciales (PLSR) usando NIRS en el rango de longitud de onda de 400-2500 nm, obteniendo un R^2 de modelado en PC, EE, cenizas y FC de 0.94, 0.71, 0.74 y 0.71 respectivamente. De igual manera, Asekova *et al.* (2016) determinaron la calidad de forraje de soya mediante NIRS, usando el método mínimos cuadrados parciales modificados (MPLS) en el rango de longitud de onda de 400-2500 nm obteniendo un R^2 de 0.91 para PC y 0.93 EE. Asimismo, Zamudio (2016) evaluó la composición química del rye-grass mediante el uso de NIRS con el modelo PLSR, donde deter-

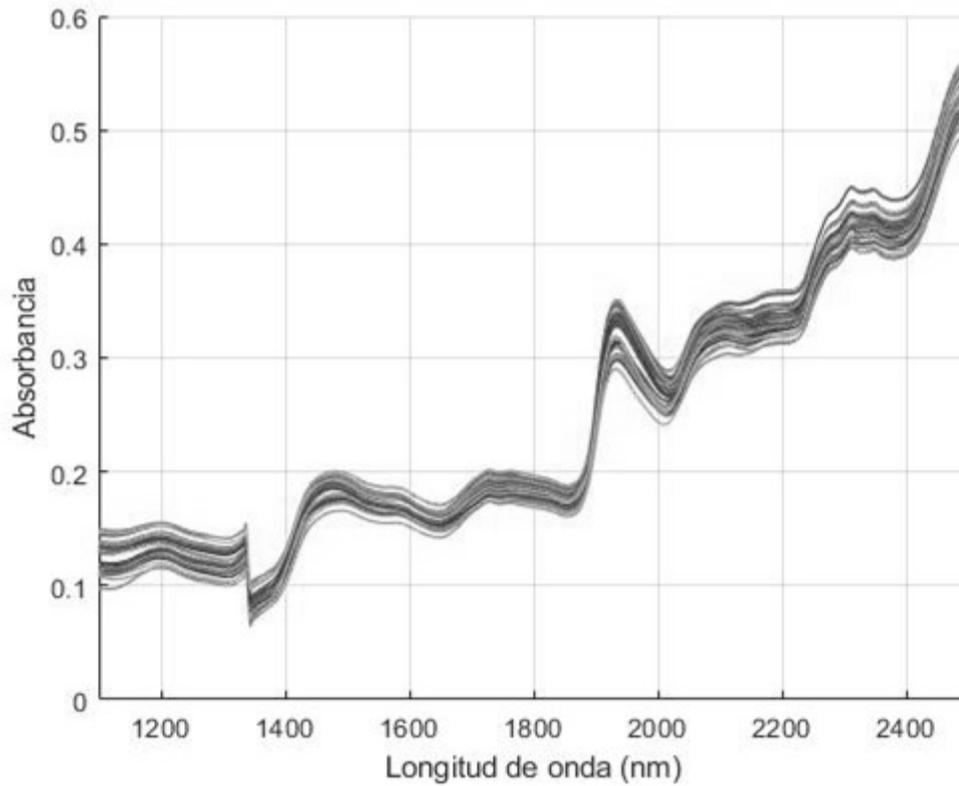


Figura 1. Perfil espectral de *Pennisetum clandestinum*

Cuadro 2. Estadísticos para modelos de predicción de la composición de *Pennisetum clandestinum* con data de validación

| Parámetro | PLSRc | | | PLSRo | | | ANNc | | | ANNo | | |
|-----------------|----------------|-------|------|----------------|------|------|----------------|------|------|----------------|------|------|
| | R ² | RMSE | RPD | R ² | RMSE | RPD | R ² | RMSE | RPD | R ² | RMSE | RPD |
| Humedad | 0.94 | 0.089 | 3.73 | 0.74 | 0.03 | 1.96 | 0.29 | 0.08 | 0.52 | 0.67 | 0.01 | 0.91 |
| Proteína | 0.90 | 0.00 | 6.27 | 0.89 | 0.00 | 3.03 | 0.96 | 0.04 | 0.61 | 0.87 | 0.31 | 0.99 |
| Extracto etéreo | 0.95 | 0.02 | 4.09 | 0.79 | 0.00 | 2.12 | 0.91 | 0.01 | 0.47 | 0.41 | 0.04 | 0.48 |
| Fibra cruda | 0.92 | 0.04 | 3.48 | 0.67 | 0.45 | 1.67 | 0.83 | 0.19 | 0.66 | 0.38 | 0.65 | 0.56 |
| Cenizas | 0.93 | 0.02 | 3.73 | 0.74 | 0.02 | 1.89 | 0.73 | 0.07 | 0.50 | 0.73 | 0.08 | 1.02 |
| Energía bruta | 0.92 | 0.03 | 4.55 | 0.87 | 0.01 | 2.74 | 0.32 | 0.01 | 0.68 | 0.84 | 0.01 | 0.84 |

PLSR: *Partial Least Squares Regression*; ANN: *Artificial Neural Networks*; RMSE: Error cuadrático medio; RPD: Error de predicción

c: calibración; o: optimizado

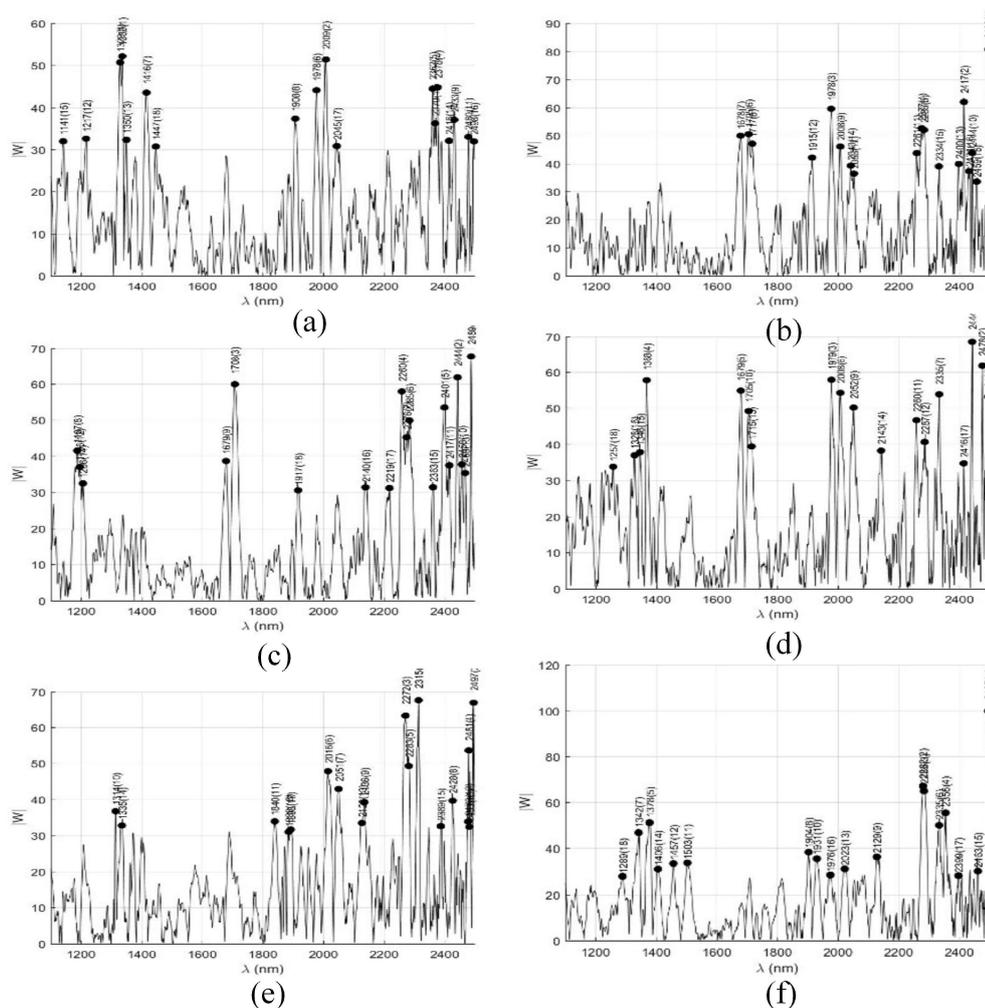


Figura 2. Longitudes de onda relevantes de *Pennisetum clandestinum* para (a) Humedad (b) Proteína cruda (c) Extracto etéreo (d) Fibra cruda (e) Cenizas (f) Energía bruta

minaron el R^2 para PC, FC, EE y cenizas de 0.96, 0.90, 0.83 y 0.95, respectivamente. Las diferencias entre estudios se podrían deber a los equipos utilizados para la predicción y al número de muestras utilizadas.

- El modelo NIRS-PLSR es capaz de realizar la predicción de humedad, proteína cruda, extracto etéreo, cenizas y energía bruta con valores de ajuste (R^2) superiores al 0.74 y mínima correlación de R^2 de 0.55 para fibra.

CONCLUSIONES

- Los modelos NIRS-ANN mostraron valores de ajuste inferiores a los modelos NIRS-PLSR en la predicción de la composición del pasto kikuyo.

Agradecimientos

Al Programa de Becas de CON-CYTEC-CIENCIACTIVA y a la Universidad Nacional Rodríguez de Mendoza de Amazonas por el financiamiento de la investigación.

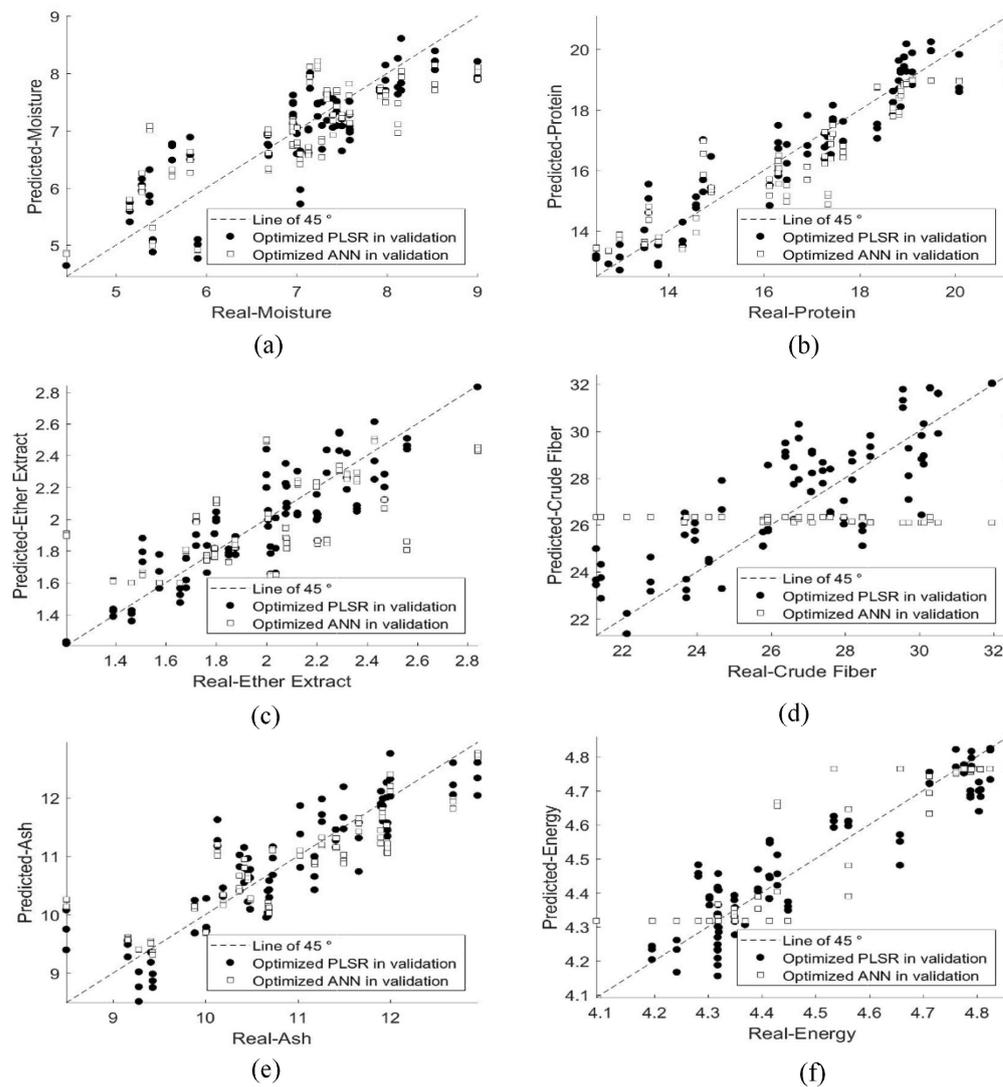


Figura 3. Resultados con valores de validación de *Pennisetum clandestinum* para (a) Humedad (b) Proteína cruda (c) Extracto etéreo (d) Fibra cruda (e) Cenizas (f) Energía bruta

LITERATURA CITADA

1. **Afandi SD, Herdiyeni Y, Prasetyo LB, Hasbi W, Arai K, Okumura, H. 2016.** Nitrogen content estimation of rice crop based on near infrared (NIR) reflectance using artificial neural network (ANN). *Procedia Environ Sci* 33: 63-69. doi: 10.1016/j.proenv.2016.03.057
2. **Aguilar OX, Moreno BM, Pabón ML, Carulla JE. 2009.** Effect of kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) or ryegrass

(*Lolium hybridum*) intake on conjugated linoleic acid concentration and fatty acids composition of milk fat. *Livestock Res Rural Develop* 21(4). [Internet]. Disponible en: <http://www.lrrd.org/lrrd21/4/agui21049.htm>

3. **Andueza D, Picard F, Jestin M, Andrieu J, Baumont R. 2011.** NIRS prediction of the feed value of temperate forages: efficacy of four calibration strategies. *Animal* 5: 1002-1013. doi: 10.1017/S1751731110002697

4. [AOAC] *Association of Official Analytical Chemists*. 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. Vol 1. Washington, USA.
5. [AOAC] *Association of Official Analytical Chemists*. 1995. Official Methods of Analysis. 16th ed. Vol 2. Washington, USA.
6. **Asekova S, Han SI, Choi HJ, Park SJ, Shin DH, Kwon CH, Lee JD. 2016.** Determination of forage quality by near-infrared reflectance spectroscopy in soybean. *Turk J Agric For* 40: 45-52. doi: 10.3906/tar-1407-33
7. **Bezada S, Arbaiza T, Carcelén F, San Martín F, López C, Rojas J, Vélez V. 2017.** Prediction of chemical composition and neutral detergent fibre of Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam) by near infrared spectroscopy (NIRS). *Rev Inv Vet Perú* 28: 538-548. doi: 10.15381/rivep.v28i3.13357
8. **Cen H, He Y. 2007.** Theory and application of near infrared reflectance spectroscopy in determination of food quality. *Trends Food Sci Tech* 18: 72-83. doi: 10.1016/j.tifs.2006.09.003
9. **Dykes L, Hoffmann L, Portillo-Rodriguez O, Rooney WL, Rooney L. W. 2014.** Prediction of total phenols, condensed tannins, and 3-deoxyanthocyanidins in sorghum grain using near-infrared (NIR) spectroscopy. *J Cereal Sci* 60: 138-142. doi: 10.1016/j.jcs.2014.02.002
10. **Gatius F, Miralbés C, David C, Puy J. 2017.** Comparison of CCA and PLS to explore and model NIR data. *Chemometr Intell Lab* 164: 76-82. doi: 10.1016/j.chemolab.2017.03.011
11. **Guindo D, Davrieux F, Teme N, Vaksmann M, Bastianelli D, Verdeil J, Rami J. 2016.** Pericarp thickness of sorghum whole grain is accurately predicted by NIRS and can affect the prediction of other grain quality parameters. *J Dairy Sci* 69: 218-227. doi: 10.1016/j.jcs.2016.03.008
12. **Ibáñez L, Alomar D. 2008.** Prediction of the chemical composition and fermentation parameters of pasture silage by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS). *Chil J Agr Res* 68: 352-359. doi: 10.4067/S0718-58392008000400005
13. **Jaimes LJ, Cerón JM, Correa HJ. 2015.** Efecto de la época del año y la etapa de lactancia sobre el consumo alimenticio de vacas Holstein pastoreando kikuyo (*Cenchrus clandestinus*) en Colombia. *Livestock Res Rural Develop* 27(12). [Internet]. Disponible en: <http://www.lrrd.org/lrrd27/12/jaim27244.html>
14. **Molano ML, Cortés ML, Ávila P, Martens SD, Muñoz S. 2016.** Ecuaciones de calibración en espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) para predicción de parámetros nutritivos en forrajes tropicales. *Forrajes Tropicales* 4: 139-145. doi: 10.17138/TGFT(4)139-145
15. **Oliva M, Rojas D, Morales A, Oliva C, Oliva M. 2015.** Contenido nutricional, digestibilidad y rendimiento de biomasa de pastos nativos que predominan en las cuencas ganaderas de Molinopampa, Pomacochas y Leymebamba, Amazonas, Perú. *Scientia Agropec* 6: 211-215. doi: 10.17268/sci.agropecu.2015.03.07
16. **Osborne BG. 2006.** Near-infrared spectroscopy in food analysis. In: *Encyclopedia of analytical chemistry*. John Wiley & Sons. p 1-14. doi: 10.1002/9780470027318.a1018
17. **Reddersen B, Fricke T, Wachendorf M. 2013.** Effects of sample preparation and measurement standardization on the NIRS calibration quality of nitrogen, ash and NDFom content in extensive experimental grassland biomass. *Anim Feed Sci Tech* 183: 77-85. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2013.04.016
18. **Rushing JB, Saha UK, Lemus R, Sonon L, Baldwin BS. 2016.** Analysis of some important forage quality attributes of southeastern wildrye (*Elymus glabriflorus*) using near-

- infrared reflectance spectroscopy. *Am J Analytical Chem* 7: 642-662. doi: 10.4236/ajac.2016.79060
19. **Sandoval LA, Bueso FJ, Vélez M. 2008.** Predicción nutricional para pastos tropicales por espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano. *Agronomía Mesoamericana* 19: 221-225. doi: 10.15517/AM.V19I2.5003
 20. **Shetty N, Gislum R, Mette A, Jensen D, Boelt B. 2012.** Development of NIR calibration models to assess year-to-year variation in total non-structural carbohydrates in grasses using PLSR. *Chemometr Intell Lab* 111: 34-38. doi: 10.1016/j.chemolab.2011.11.004
 21. **Soto C, Valencia A, Galvis RD, Correa HJ. 2005.** Efecto de la edad de corte y del nivel de fertilización nitrogenada sobre el valor energético y proteico del pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*). *Rev Colomb Cienc Pec* 18: 17-26.
 22. **Valenciaga D, Oliveira E, Saliba S. 2006.** Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) and its potentials for forage evaluation. *Cuban J Agr Sci* 40: 245-252.
 23. **Vásquez N, Magan C, Oblitas J, Chuquizuta T, Castro W. 2017.** Comparison between artificial neural network and partial least squares regression models for hardness modelling during the ripening process of Swiss-type cheese using spectral profiles. *J Food Eng* 219: 8-15. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2017.09.008
 24. **Wold S, Sjostrom M, Eriksson L. 2001.** PLS-regression: a basic tool of chemometrics. *Chemometr Intell Lab* 58: 109-130. doi: 10.1016/S0169-7439(01)-00155-1
 25. **Zamudio BS. 2016.** Predicción de la composición química de rye grass mediante el uso de espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS). Tesis de Médico Veterinario. Lima, Perú: Univ. Nacional Mayor de San Marcos. 53 p.
 26. **Zeng W, Xu C, Zhao G, Wu J, Huang J. 2017.** Estimation of sunflower seed yield using partial least squares regression and artificial neural network models. *Pedosphere* 28: 764-774. doi: 10.1016/S1002-0160(17)60336-9
 27. **Zhang C, Su J. 2014.** Application of near infrared spectroscopy to the analysis and fast quality assessment of traditional Chinese medicinal products. *Acta Pharmaceutica Sinica B* 4: 182-192. doi: 10.1016/j.apsb.2014.04.001
 28. **Zhang H, Li Z, Chen T, Qin B. 2017.** Quantitative determination of auramine o by terahertz spectroscopy with 2DCOS-PLSR model. *Spectrochim Acta A* 184: 335-341. doi: 10.1016/j.saa.2017.05.017