

Espectroscopía en el infrarrojo cercano por transmitancia y reflectancia para la predicción de la composición química de cereales en grano y molidos

Alba Vigo^{1,2,*}, María Ángeles Latorre¹ y Guillermo Ripoll²

¹ Universidad de Zaragoza. Facultad de Veterinaria-IA2. C/ Miguel Servet, 177. 50013 Zaragoza, España

² Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón-IA2. Avda. Montañana, 930. 50059 Zaragoza, España

Resumen

Para una correcta formulación de piensos compuestos, es esencial un adecuado análisis del valor nutritivo de las materias primas empleadas. Dicho análisis debe ser lo más exacto posible, pero a la vez rápido, económico y sostenible. El objetivo de este trabajo fue estudiar la aptitud de la espectroscopía del infrarrojo cercano, comparando dos modos de medida, transmitancia y reflectancia, para estimar la composición química de trigo, maíz y cebada, bajo dos formas de presentación (molida o en grano). Para ello, se utilizaron un total de 45 muestras (15 de cada materia prima) procedentes de distintas fábricas de pienso compuesto de la zona noreste de España. En primer lugar, se determinó por vía húmeda la composición química de dichos cereales. Una vez obtenidos los espectros NIR de las muestras, se aplicaron diversos pretratamientos matemáticos: derivadas, suavizado espectral, variable normal estándar y corrección del efecto multiplicativo de la dispersión. Con los espectros y los datos de referencia, y con el fin de elegir el mejor modelo de predicción, se realizó un análisis de regresión de mínimos cuadrados parciales utilizando el programa informático The Unscrambler X. En general, el uso de reflectancia con grano entero se muestra preferible a la de grano molido por el ahorro de trabajo y la rapidez debida a no tener que moler la muestra, y está más indicada para la estimación del contenido de fibras. La reflectancia usando el grano molido destacó por la predicción de la proteína bruta, teniendo calibraciones de calidad no muy inferiores a las otras combinaciones en materia seca, cenizas y materia orgánica. Tanto la reflectancia como la transmitancia usando grano entero dan buenos modelos para la materia seca, pero la reflectancia con grano entero lo hizo en la estimación de fibras y almidón, mientras que la transmitancia destacó en la estimación del extracto etéreo y la materia orgánica. Estos resultados se pueden considerar preliminares por usar un reducido número de muestras, aunque son indicativos de las posibilidades y limitaciones del uso de reflectancia y transmitancia en función del parámetro químico a estimar y el estado de molienda de la muestra.

Palabras clave: Trigo, cebada, maíz, espectrofotometría, NIR, NIT, vía húmeda.

Transmission and reflectance near-infrared spectroscopy for predicting the chemical composition of ground and grain cereals

Abstract

Analyzing the nutritional value of the raw materials is essential for a correct feedstuff formulation. This analysis has to be as accurate as possible, but at the same time, it has to be fast, inexpensive and sus-

* Autor para correspondencia: 718439@unizar.es

tainable. The aim of this trial was to study the aptitude of near infrared spectroscopy, by comparing transmittance with reflectance mode, to estimate the chemical composition of wheat, maize and barley in two forms of presentation (ground and whole grain samples). For this, a total of 45 samples (15 of each raw material) from different feed factories in the northeast of Spain were used. Firstly, wet processing analysis was carried out in the laboratory to determine the chemical composition of the cereals. Once the NIR spectra were collected, they were modified with several mathematical pretreatments: derivatives, smooths, standard normal variate and multiplicative scatter correction. A partial least square regression with The Unscrambler X was made with spectra and reference data, choosing the best prediction model. In general terms, the use of reflectance together the whole grain is preferable to grinded grain avoiding work and being faster and it was more indicated to prediction of fibers. Reflectance with grinded grain provided good calibrations for crude protein, and adequate calibrations for dry matter, ashes and organic matter. Both grinded and whole grain with reflectance provided accurate predictions for dry matter but reflectance with whole grain provided best calibrations for fibers and starch while transmittance was better to predict fat and organic matter. These were preliminary results but provide an insight to the possibilities and limitations of NIRS.

Keywords: Wheat, barley, maize, spectrophotometry, NIR, NIT, wet processing.

Introducción

Para la formulación de dietas, en alimentación animal, es imprescindible el análisis de la composición química de las materias primas, así como de los piensos compuestos, antes de que sean consumidos. Son varios los motivos; por un lado, se deben cubrir las necesidades nutricionales del animal al que va dirigido de la forma más ajustada posible. Por otro, el alimento supone el mayor coste de producción de una explotación ganadera y no son nada desdeñables tampoco estos gastos en el caso de las mascotas. Por ello, en las fábricas de pienso compuesto se realiza un control rutinario de las partidas de ingredientes procedentes de las explotaciones agrícolas. Los métodos convencionales utilizados para determinar el valor nutritivo de los ingredientes se basan en procedimientos complejos, que precisan mucho tiempo, mano de obra y generan gran cantidad de residuos químicos, que requieren una adecuada gestión con el fin de no contaminar el medio ambiente. Esta serie de premisas hacen que se trate de un proceso laborioso y costoso. Surge, por tanto, la necesidad de encontrar alternativas a los métodos de vía húmeda que mejoren estas deficiencias.

Desde el descubrimiento de la región espectral en el infrarrojo cercano, por William Herschel (Herschel, 1800) y la aportación de Ben-Gera y Norris (Ben Gera y Norris, 1968) sobre la evaluación de la calidad de los alimentos, la tecnología NIRS (espectroscopía en el infrarrojo cercano), basada en la absorción de radiación electromagnética en longitudes de onda comprendidas en el rango 780-2500 nm (Osborne, 2000), se ha convertido en una herramienta práctica y ampliamente utilizada en la industria agroalimentaria. Así lo demuestran estudios como los de Samadi *et al.* (2018 y 2020) y Dantes (2020), para la determinación de parámetros nutritivos del pienso compuesto. Por su parte, Phil Williams desarrolló un análisis a gran escala del trigo molido y la soja para la humedad, proteína y aceite a principios de los años 60 (Williams, 1975). En lo que respecta a la cebada, varios autores han profundizado en el uso de la tecnología NIRS, tanto en reflectancia como en transmitancia, en lo referido al uso de la materia prima en la industria cervecera (Meurens y Yan, 2006). La tecnología NIR también ha sido considerablemente utilizada para la determinación del contenido de humedad, proteína, almidón y fibra en maíz en-

tero y en productos obtenidos del maíz (Paulsen et al., 2003).

Se trata de un método no destructivo y no invasivo, además de rápido, que ofrece numerosas ventajas frente a otros métodos de análisis tradicionales, como la versatilidad y adaptabilidad para analizar muestras de distinta naturaleza, la ausencia de un pretratamiento de la muestra para el registro del espectro y el bajo coste de mantenimiento y medición (Peguero, 2010). Sin embargo, también hay que tener en cuenta algunas limitaciones, no suele ser un método preciso en la determinación de componentes presentes en menos de un 0,1 % (Pasquini, 2003; Cen y He, 2007), aunque Meng et al. (2015), Ripoll et al. (2018) o Zeng et al. (2019) obtuvieron resultados satisfactorios en la detección de analitos en concentraciones de ppm en el primer caso, y en la determinación del contenido de polifenoles en avena y maíz en el segundo y tercer caso, respectivamente. Por otro lado, el coste inicial del equipo es considerable y además requiere desarrollar modelos de calibración fiables, lo que hace que sea necesaria la incorporación de un amplio set de datos con una variabilidad considerable. También es necesario un análisis químico de referencia preciso para la calibración. Existen tres tipos de registros de espectros de infrarrojo cercano: Transmitancia (NIT), Reflectancia (NIR) y Transflectancia (NIRT) (Peguero, 2010). En los equipos NIR, el haz de luz se difunde por la muestra irradiada, la radiación penetra en ella (normalmente unos mm), interactuando con las partículas y siendo absorbida selectivamente. La energía que no se absorbe es reflejada y puede ser cuantificada por detectores. Este sistema es capaz de analizar muestras en formato gaseoso, líquido, semilíquido y sólido; sin embargo, es el más común para muestras sólidas y semisólidas, que forman una barrera difícil de atravesar en transmitancia (Flores, 2009). En los NIT se pueden registrar gases, líquidos, semilíquidos y sólidos. En este modo, el haz de luz

atraviesa la muestra hasta el detector. Por último, en los equipos NIRT, generalmente utilizados para muestras líquidas y semilíquidas, el haz de luz atraviesa la muestra, se refleja en un reflector en contacto con la misma y, finalmente, llega al detector (Peguero, 2010).

El objetivo general de este trabajo fue estudiar la aptitud de la espectroscopía del infrarrojo cercano, comparando transmitancia y reflectancia, para estimar la composición química de cereales comunes en alimentación animal (trigo, maíz y cebada) con dos formas de presentación (grano molido y en grano entero).

Material y métodos

Materias primas y análisis químicos

Con el fin de obtener una amplia variabilidad en los resultados, se utilizaron un total de 45 muestras de trigo, cebada y maíz (15 de cada cereal), procedentes de 14 fábricas de pienso compuesto ubicadas en Aragón, Cataluña y Navarra y de distintos orígenes. La toma de muestras la realizó el responsable del Departamento de control de calidad de cada fábrica, siguiendo los protocolos que recomienda CEFAC (2007). De cada muestra (1 kg), aproximadamente 0,5 kg se destinaron al estudio en grano y 0,5 kg en forma molida. La molienda se realizó en un molino con un tamiz de 1 mm de diámetro, salvo para la determinación del contenido de almidón, que fue de 0,5 mm. Todas las muestras se conservaron a temperatura ambiente hasta su análisis.

En primer lugar, se llevó a cabo el análisis de composición química por la vía clásica siguiendo, en general, los procedimientos de la AOAC (2000). La materia seca (MS) se determinó por el método de secado en estufa a 105 °C (método 934.01), las cenizas por calcinación en mufla a 550 °C (método 934.01), la materia orgánica (MO) por diferencia de

pesadas entre la MS y las cenizas, la proteína bruta (PB) mediante el método Kjeldahl (método 2001.11) y el extracto etéreo (EE) por Ankom Am-5-04 (AOCS, 2005). El análisis de fibra bruta (FB), fibra neutro detergente (FND), fibra ácido detergente (FAD) y lignina ácido detergente (LAD) se llevó a cabo, de acuerdo con Van Soest *et al.* (1991), a través de un analizador Ankom 220/220, utilizando el método de bolsa de filtrado (Ankom Corp. 57). Por último, el contenido de almidón se determinó mediante un kit comercial K-TSTA 07/11 de Megazyme®, adoptado por la AOAC (2000) (método 996.11). Los resultados obtenidos se expresan en base a materia fresca y todas las muestras se analizaron por duplicado, repitiendo el proceso para aquellas cuyas réplicas tuvieron una diferencia mayor al 10 %.

Adquisición de espectros y análisis quimiométricos

La recogida de espectros se realizó utilizando dos equipos de infrarrojo cercano de laboratorio; por un lado, el NIRSystems 6500 (FOSS Iberia SA, España), que trabaja en reflectancia en la región espectral entre 408 nm y 2.492 nm, con una resolución de 2 nm, y es ejecutado por el software WinISI NIRS II v.1.04 (FOSS Iberia SA, España). En este equipo las mediciones se realizaron con 32 escaneos, analizando las muestras por duplicado y obteniendo un espectro medio por muestra. Se utilizó una cápsula rectangular de mayor capacidad para las muestras en grano (4,7 cm de anchura y de profundidad y 20 cm de longitud), y unas cápsulas circulares de menor tamaño (35 mm de diámetro y 10 mm de profundidad) para las muestras molidas.

Por otro lado, el espectrofotómetro FoodScan 2 (FOSS Iberia SA, España) trabaja en transmitancia en la región espectral situada entre 850 nm y 1.100 nm, su resolución es de 0,5 nm y es ejecutado por el software ISIScan Nova (FOSS Iberia SA, España). Las medicio-

nes en este caso se realizaron con 28 escaneos por muestra, obteniéndose un espectro medio de cada una de ellas. Con este equipo no se realizaron mediciones en el formato de muestra molida por distintas razones. En primer lugar, para evitar la pérdida de muestra en forma de polvo durante el análisis, ya que la cápsula utilizada no se cierra herméticamente y, en segundo lugar, debido a la necesidad de disminuir el grosor de la muestra atravesada por la radiación infrarroja para poder maximizar la señal transmitida, tal y como indican Williams y Sobering (1993) en su estudio. De esta forma, se analizaron las muestras en grano depositándolas en una cápsula cilíndrica de 1,4 cm de profundidad.

Para realizar el tratamiento quimiométrico de los datos, se utilizó el programa de análisis The Unscrambler X 10.1 (Camo Software AS, Noruega). Los modelos de predicción se obtuvieron mediante un análisis de regresión de mínimos cuadrados parciales (PLSR), que reduce los datos espectrales a unas pocas combinaciones de absorciones que explican gran parte de la información espectral y también se relacionan con el valor de referencia de las muestras (Montes *et al.*, 2006). Este programa utiliza el estadístico T^2 de Hotelling para considerar muestras con valores del estadístico mayores de 10 como aberrantes y eliminarlas del modelo. Con el objetivo de optimizar la señal espectral, se probaron los siguientes tratamientos: primera y segunda derivada de Savitzky-Golay, suavizado, *detrend*, variable normal estándar (SNV), corrección del efecto multiplicativo de dispersión (MSC), normalización, corrección de la línea base y, por último, transformaciones espectroscópicas.

Para comprobar la calidad de las calibraciones obtenidas se utilizó el método de validación cruzada total, que consiste en dividir el conjunto de datos de calibración en varios grupos, de manera que se realiza la calibración con todos los grupos excepto uno que

queda excluido para la validación. Se procede de este modo hasta que cada muestra se predice una vez (Sinnaeve et al., 1994).

La mayor o menor precisión de los modelos de calibración y validación cruzada fue interpretada con el coeficiente de determinación para calibración (R_c^2) y validación cruzada (R_{cv}^2), SEC (error estándar de calibración), SECV (error estándar de validación cruzada) y RPD (valor predictivo residual). Se calcularon los valores de RPD como el cociente entre la desviación estándar (DE) del método de referencia y el SECV. Se buscaron modelos que minimizaran el error y maximizaran el coeficiente de determinación y la RPD con un número menor de factores.

Resultados y discusión

Composición química y espectros

En la Tabla 1 se muestran expresados en porcentaje de materia fresca, los valores mínimos, los máximos y la media, así como la desviación estándar de los distintos parámetros de composición química, analizados por vía húmeda, de la mezcla de los tres cereales. Los datos obtenidos son los esperables para una mezcla de este tipo (FEDNA, 1999). El parámetro menos variable fue la materia seca con un coeficiente de variación de 1,83 % seguido de la materia orgánica con un coeficiente de variación del 14,22 %. La mayor variabilidad la tuvo la fibra bruta con un 63,64 %

Tabla 1. Valores máximos y mínimos, media, desviación estándar (DE) y coeficiente de variación (CV) de la composición química de la mezcla de cereales expresados porcentaje sobre materia fresca.

Table 1. Maximum and minimum values, mean, standard deviation (DE) and coefficient of variation (CV) of chemical composition parameters of cereal mixture expressed on percentage of wet basis.

Parámetros químicos	Máximo	Mínimo	Media	DE	CV
Materia seca	91,20	84,00	88,70	1,62	1,83
Cenizas	2,64	0,86	1,48	0,51	19,34
Materia orgánica	89,60	83,00	87,10	1,29	14,22
Proteína bruta	13,07	6,31	9,07	1,79	19,74
Fibra bruta	5,27	1,30	1,98	1,26	63,64
Fibra neutro detergente	18,23	6,81	10,31	3,82	20,95
Fibra ácido detergente	6,59	1,57	2,69	1,52	56,51
Lignina ácido detergente	2,47	0,18	0,82	0,47	57,32
Extracto etéreo	4,06	1,00	1,84	0,88	47,83
Almidón	69,80	48,60	60,30	6,56	9,37

En la Figura 1 se muestran los espectros medios de reflectancia y transmitancia típicos de la mezcla de cereales en las dos formas de presentación estudiadas (grano entero y grano molido). Los espectros de reflectancia fueron similares y casi paralelos, pero con

mayores valores de absorbancia cuando se usó el grano entero. Esto es esperable por las diferencias en el efecto de la dispersión de la luz en los dos formatos de la matriz. El espectro de transmitancia fue similar al de reflectancia, aunque el espectrofotómetro solo

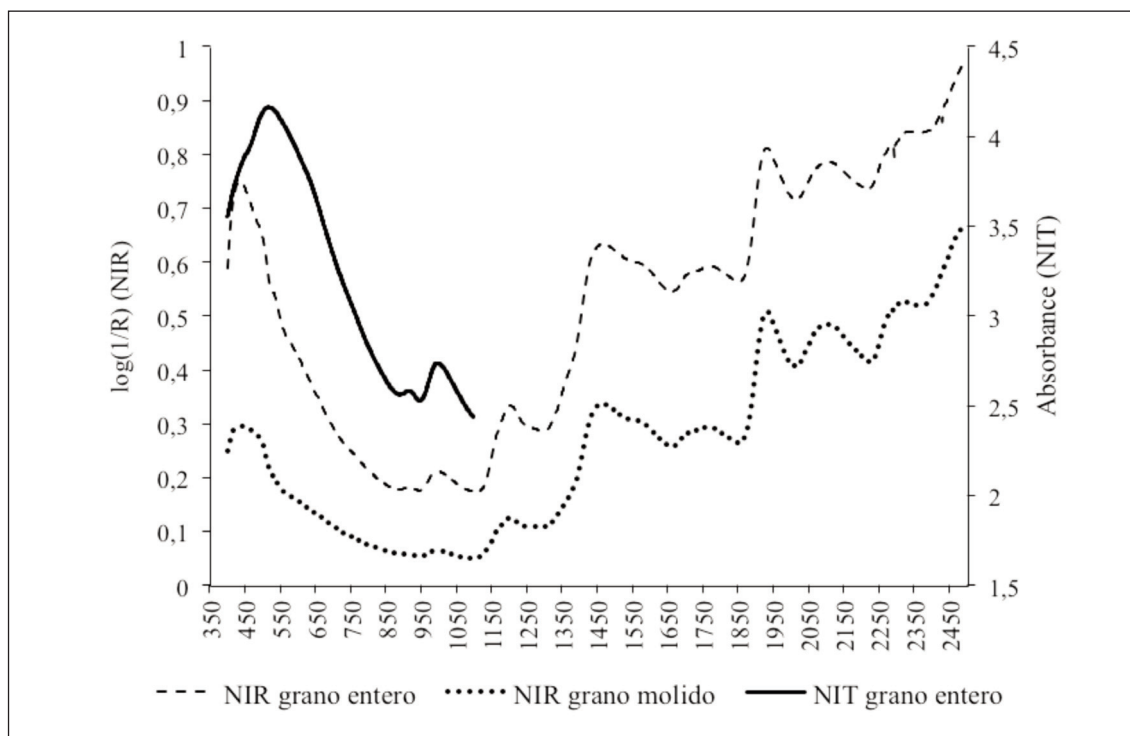


Figura 1. Espectros de NIR (reflectancia) de mezcla de cereales molidos, NIR (reflectancia) de mezcla de cereales enteros y NIT (transmitancia de mezcla de cereales enteros).

Los espectros NIR de las muestras de grano entero y de la mezcla de cereales molidos se recogieron con un espectrofotómetro NIRSystem 6500 en el rango espectral de 408 nm a 2.492 nm.

Los espectros NIR de las muestras de grano entero se recogieron con un espectrofotómetro FoodScan II en el rango espectral de 800 nm a 1.100 nm.

Figure 1. Spectra of NIR (reflectance) for ground mixed cereals, NIR (reflectance) for whole mixed cereals and NIT (transmittance) in whole mixed cereals.

recoge espectros hasta los 1.100 nm. El espectro de transmitancia tuvo su valor máximo alrededor de los 550 nm mientras que los espectros de reflectancia tuvieron el pico máximo en los 450 nm.

Modelos de calibración y validación cruzada

En términos generales, todas las calibraciones desarrolladas con reflectancia y transmitancia, y con grano entero y molido, fueron ade-

cuadas superando en todos los casos 0,8 y 0,78 para el coeficiente de determinación de la calibración y la validación cruzada, respectivamente (Tablas 2, 3 y 4). De acuerdo con Saeys et al. (2005), valores de R_c^2 y R_{cv}^2 entre 0,66 y 0,81 indican predicciones aproximadas, entre 0,82 y 0,90 son una buena predicción y superiores a 0,91 son considerados excelentes.

La Figura 2 muestra la RPD de todos los modelos desarrollados. Concretamente, los modelos desarrollados para la predicción de MS

Tabla 2. Tratamientos y estadísticos de calibración y predicción en reflectancia (NIR) para muestras en grano molido.

Table 2. Treatments and statistical calibration and prediction data in reflectance (NIR) for grinded samples.

Parámetros químicos	F	N	Calibración		Validación cruzada		Tratamiento
			Rc ²	SEC	Rcv ²	SECV	
Materia seca	4	0	0,98	0,215	0,98	0,252	Ninguno
Cenizas	5	0	0,93	0,136	0,91	0,174	SNV
Materia orgánica	4	0	0,98	0,185	0,97	0,241	D: 1-2-3; S: 0-0-3
Proteína bruta	9	0	0,98	0,247	0,95	0,412	S: 0-1-3
Fibra bruta	5	0	0,94	0,303	0,92	0,378	S: 0-1-3; MSC
Fibra neutro detergente	7	0	0,93	0,994	0,89	1,292	Ninguno
Fibra ácido detergente	5	0	0,95	0,349	0,89	0,511	D: 1-2-3; S: 0-0-3
Lignina ácido detergente	6	6	0,89	0,100	0,78	0,151	MSC; Normalización
Extracto etéreo	4	0	0,91	0,256	0,89	0,287	Ninguno
Almidón	6	0	0,92	1,804	0,88	2,368	Normalización

F: número de factores utilizados en el modelo; N: número de muestras omitidas; Rc²: coeficiente de determinación de calibración; SEC: error estándar de calibración; Rcv²: coeficiente de determinación de validación cruzada; SECV: error estándar de validación cruzada; Tratamientos: SNV: variable normal estándar; MSC: corrección del efecto multiplicativo de dispersión; D (a-b-c): Derivada, a: orden de la derivada, b: orden del polinomio, C: puntos de suavizado; S (a-b-c): Suavizado, a: orden de derivada, b: orden del polinomio, c: puntos de suavizado.

tuvieron RPD mayores de 5 y los modelos para la predicción de MO tuvieron RPD entre 4,5 y 6. En términos generales, los modelos desarrollados para la predicción de fibra bruta, FAD, LAD y EE tuvieron valores cercanos a 3, al igual que los modelos de predicción de las cenizas con reflectancia. El resto de los modelos tuvieron RPD superiores a 2. Valores de RPD mayores que 2,5 indican predicciones NIRS aceptables, mientras que los mayores de 3 ofrecen resultados óptimos (Saeys et al., 2005). Algunos autores determinaron que modelos con RPD superiores a 2,5 son adecuados para la estimación de la composición química de forrajes (Sinnaeve et al., 1994) y otros autores consideran que las calibraciones con RPD de 2 son adecuadas

para carne y la mayoría de productos agrícolas (Williams y Sobering, 1993; Mouazen et al., 2005; Prieto et al., 2009).

Los modelos de predicción de mayor calidad se desarrollaron para la materia seca y la materia orgánica (Tablas 2, 3 y 4, y Figura 2), ya que en los tres casos estudiados se obtuvieron R_{CV}² superiores a 0,97. El modelo más sencillo fue el de NIT con grano entero, ya que el número de factores incluido fue 4 y 5 para la materia seca y la orgánica respectivamente, sin necesidad de tratamientos espectrales y sin excluir ninguna muestra de la población. Los modelos de predicción de las cenizas desarrollados con NIR, tanto en grano molido como entero, fueron muy similares con 5 factores, ninguna muestra excluida y R_{CV}² supe-

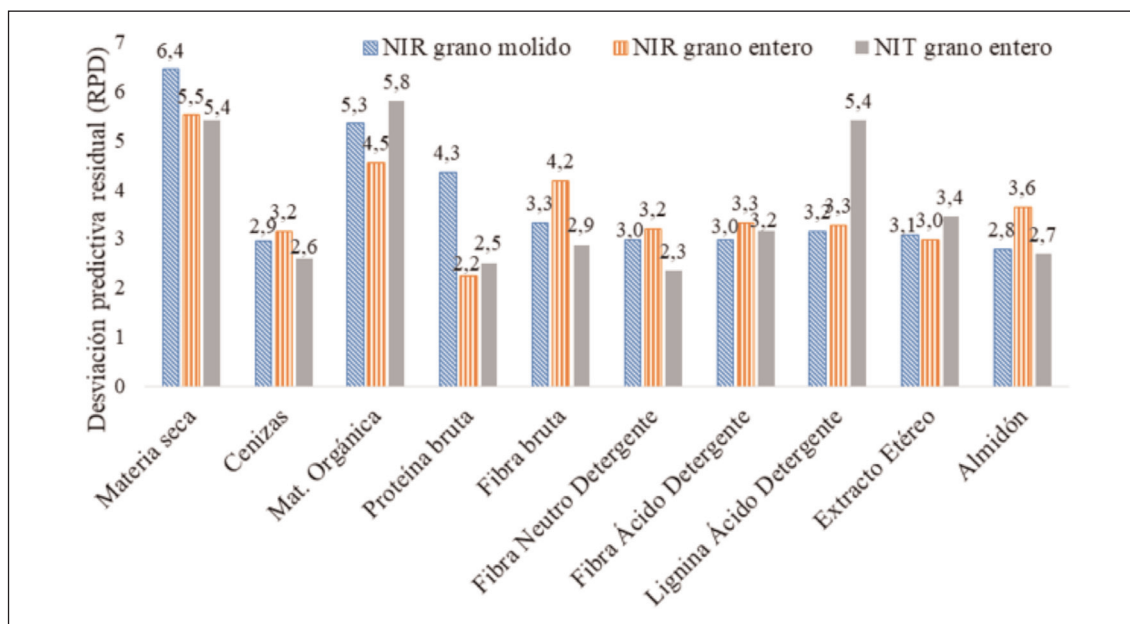


Figura 2. Desviación predictiva residual (RPD) de los modelos de predicción usando NIR (reflectancia) en mezcla de cereales molidos, NIR (reflectancia) en mezcla de cereales enteros y NIT (transmitancia) en mezcla de cereales enteros.

Los espectros NIR de las muestras de grano entero y de la mezcla de cereales molidos se recogieron con un espectrofotómetro NIRSystem 6500 en el rango espectral de 408 nm a 2.492 nm.

Los espectros NIR de las muestras de grano entero se recogieron con un espectrofotómetro FoodScan II en el rango espectral de 800 nm a 1.100 nm.

Figure 2. Values of residual prediction (RPD) of prediction models of NIR (reflectance) for ground mixed cereals, NIR (reflectance) for whole mixed cereals and NIT (transmittance) in whole mixed cereals.

riores a 90. El modelo desarrollado con NIT tuvo un R_{cv}^2 menor y un SECV algo superior. Es remarcable el menor RPD y R_{cv}^2 de los modelos de predicción de las cenizas, siendo que el valor de referencia se calcula por diferencia entre MS y MO, que obtuvieron mejores resultados. Se podría optar a no usar los modelos de predicción para cenizas y calcular este parámetro de manera indirecta con los modelos de predicción de MS y MO. La proteína bruta fue predicha mejor por el NIR con grano molido (Tabla 2) con un R_{cv}^2 de 0,95 y el menor SECV, mientras que el NIR con grano entero (Tabla 3) y el NIT (Tabla 4) tuvieron R_{cv}^2 menores y un SECV casi el doble.

Respecto a las fibras, el NIR con grano entero (Tabla 3) tuvo los mayores R_{cv}^2 excepto para la lignina, que se predijo mejor por el NIT teniendo el mayor R_{cv}^2 , sin ningún pretratamiento espectral, y además solo descartó una muestra mientras que el NIR detectaba 6 muestras por tener un T^2 mayor de 10 (Tabla 4). El mejor modelo para estimar el extracto etéreo fue el de NIT, con R_{cv}^2 de 0,92 aunque el número de factores necesarios fue 8, mientras que el NIR solo necesitó de 4. En cuanto al almidón, el mejor modelo se desarrolló con NIR con el grano entero, usando 6 factores con un R_{cv}^2 de 0,93 y un SECV mucho menor que los otros dos modelos propuestos.

Tabla 3. Tratamientos y estadísticos de calibración y predicción en reflectancia (NIR) para muestras en grano entero.

Table 3. Treatments and statistical calibration and prediction data in reflectance (NIR) for whole grain samples.

Parámetros químicos	F	N	Calibración		Validación cruzada		Tratamiento
			Rc ²	SEC	Rcv ²	SECV	
Materia seca	6	0	0,98	0,219	0,97	0,294	S: 0-1-3
Cenizas	5	0	0,93	0,134	0,90	0,162	Ninguno
Materia orgánica	7	0	0,97	0,217	0,95	0,284	Ninguno
Proteína bruta	7	0	0,91	0,551	0,81	0,803	MSC; Normalización
Fibra bruta	6	0	0,96	0,244	0,94	0,302	Normalización
Fibra neutro detergente	5	0	0,94	0,953	0,91	1,197	S: 0-1-3; Normalización
Fibra ácido detergente	6	0	0,95	0,330	0,92	0,459	S: 0-1-3; MSC
Lignina ácido detergente	2	6	0,80	0,135	0,79	0,146	S: 0-1-3
Extracto etéreo	4	0	0,92	0,254	0,89	0,297	Ninguno
Almidón	6	0	0,95	1,508	0,93	1,814	S: 0-1-3; MSC

F: número de factores utilizados en el modelo; N: número de muestras omitidas; Rc²: coeficiente de determinación de calibración; SEC: error estándar de calibración; Rcv²: coeficiente de determinación de validación cruzada; SECV: error estándar de validación cruzada; Tratamientos: SNV: variable normal estándar; MSC: corrección del efecto multiplicativo de dispersión; S (a-b-c): Suavizado, a: orden de derivada, b: orden del polinomio, c: puntos de suavizado.

Cozzolino (1998) encontró que los modelos para la predicción de la humedad en cebada y trigo desarrollados con los espectros de reflectancia tuvieron R² de 0,97 a 0,99 tanto en grano molido como entero, obteniendo el R² más bajo el modelo con grano de cebada entero. Por otro lado, Garnsworthy *et al.* (2000) obtuvieron R² de 0,88 en la estimación mediante reflectancia de la materia seca de trigo molido. Sohn *et al.* (2007) realizaron una comparación entre modelos de estimación para cebada molida con un espectrofotómetro de reflectancia de transformada de Fourier (NIR-FT) y un espectrofotómetro de reflectancia similar al del presente estudio. En general, estos autores obtuvieron modelos ligeramente mejores con NIR-FT y sin necesidad, en general, de correcciones como la MSC.

En el caso concreto de la humedad, para NIR-FT tuvieron un coeficiente de determinación del modelo propuesto (R²) de 0,89 inferior a los de nuestro estudio. Los tratamientos aplicados en este trabajo son similares a los utilizados por Díaz-Campos (2016), quien utilizó los tratamientos SNV y MSC para obtener los mejores valores de predicción. Cozzolino (1998) encontró que la estimación de la humedad en piensos compuestos tuvo R² menores. Cozzolino (2002), usando una mezcla de alimentos animales encontró una R² de 0,82. Samadi *et al.* (2018) obtuvieron modelos de predicción con R² = 0,86 para una mezcla de alimentos.

Garnsworthy *et al.* (2000) obtuvieron R² de 0,93 en la estimación mediante reflectancia de las cenizas de trigo molido. Sohn *et al.* (2007) utilizando NIR-FT en cebada molida tuvieron

Tabla 4. Tratamientos y estadísticos de calibración y predicción en transmitancia (NIT) para muestras en grano entero.

Table 4. Treatments and statistical calibration and prediction data in transmittance (NIT) for whole grain-samples.

Parámetros químicos	F	N	Calibración		Validación cruzada		Tratamiento
			Rc ²	SEC	Rcv ²	SECV	
Materia seca	4	0	0,99	0,300	0,99	0,303	Ninguno
Cenizas	5	0	0,88	0,179	0,86	0,198	S: 0-0-3
Materia orgánica	5	0	0,98	0,192	0,97	0,222	Ninguno
Proteína bruta	9	0	0,94	0,447	0,85	0,717	S: 0-0-3; MSC
Fibra bruta	10	0	0,97	0,205	0,88	0,439	S: 0-0-3; <i>Detrend</i>
Fibra neutro detergente	8	0	0,92	1,067	0,84	1,634	S: 0-0-3; Línea base
Fibra ácido detergente	7	0	0,94	0,347	0,89	0,483	<i>Detrend</i>
Lignina ácido detergente	7	1	0,97	0,067	0,96	0,088	Ninguno
Extracto etéreo	8	0	0,95	0,205	0,92	0,256	Ninguno
Almidón	9	0	0,94	1,67	0,87	2,44	Ninguno

F: número de factores utilizados en el modelo; N: número de muestras omitidas; Rc²: coeficiente de determinación de calibración; SEC: error estándar de calibración; Rcv²: coeficiente de determinación de validación cruzada; SECV: error estándar de validación cruzada; Tratamientos: SNV: variable normal estándar; MSC: corrección del efecto multiplicativo de dispersión; S (a-b-c): Suavizado, a: orden de derivada, b: orden del polinomio, c: puntos de suavizado.

un R² de 0,84 inferior a los del presente trabajo. En el estudio llevado a cabo por Manley et al. (2013) se hizo una comparativa entre el análisis en grano entero y molido, ocurriendo en el primer caso lo mismo que aquí, generando un modelo de predicción poco fiable con valores de R_{cv}² mayores de 0,60 y RPD menores de 2. Por su parte, Sohn et al. (2008), un año después de haber analizado la cebada molida, compararon tres equipos NIR para cebada en grano entero donde, en el caso del NIRSystem 6500, obtuvieron resultados aceptables para la determinación de este parámetro, con valor R² de calibración de 0,81 y RPD igual a 2,33. En cuanto al maíz, Yang et al. (2011) mostraron valores de RPD mayores de 3 en la determinación de este parámetro, debido a la amplia variabilidad de datos de re-

ferencia. Los resultados deficientes en trigo molido para este parámetro, son similares a los encontrados por Manley et al. (2013) que, en un estudio con triticale los estadísticos R_c² y R_{cv}² fueron de 0,72 y 0,65, respectivamente, con un valor de RPD de 1,70. En contraposición, resultados satisfactorios para este parámetro en trigo fueron los mostrados por Garnsworthy et al. (2000), con un R_c² de 0,97 y un valor RPD de 4,06. Por su parte, Sohn et al. (2007) encontraron valores aceptables de predicción para cenizas en cebada molida en un trabajo donde se analizó dicho componente con dos equipos NIR distintos. En el caso del maíz, los estadísticos desarrollados en el presente estudio guardan similitud en la calibración con los reportados obtenidos por Vásquez et al. (2004). Sin embargo, Cozzo-

lino (1998) encontró valores de R^2 de 0,70 para la estimación de cenizas en piensos compuestos usando reflectancia, valores muy inferiores a los encontrados en nuestro trabajo para cualquiera de los modelos. Cozzolino (2002), usando una mezcla de alimentos animales, encontró una R^2 de 0,92. Estos resultados deficientes de algunos autores pueden deberse a que los minerales no absorben radiación en el infrarrojo cercano si se encuentran en forma iónica o sales; sin embargo, sí se podría llegar a modelos de predicción fiables si dichos minerales estuviesen en las muestras en forma de quelatos o de complejos orgánicos (Shenk y Westhaus, 1995).

Garnsworthy *et al.* (2000) obtuvieron un R^2 de 0,88 en la estimación mediante reflectancia de la proteína bruta del trigo molido con el mismo equipo que se empleó en este trabajo. Sohn *et al.* (2007), usando cebada molida, obtuvieron un R^2 de 0,96. Owens *et al.* (2009) y Vásquez *et al.* (2004) encontraron coeficientes de determinación en la estimación del nitrógeno en trigo y maíz, respectivamente, superiores a 0,90 usando un espectrofotómetro de reflectancia FOSS Nirsystem 6500. La determinación del contenido proteico ha sido ampliamente estudiada en transmitancia para granos enteros de trigo por otros autores (Delwiche, 1995; Pedersen *et al.*, 2002; Nielsen, 2003), en cuyos trabajos lograron obtener modelos de predicción fiables para este cereal. Dantes (2020) usó el infrarrojo en imágenes hiperespectrales para predecir la proteína de la soja con un R^2 de 0,89. Analizando el contenido en proteína bruta de pienso compuesto con reflectancia, Cozzolino (1998) encontró un R^2 de 0,95, y Cozzolino (2002), usando una mezcla de alimentos animales encontró un R^2 de 0,92 a 0,98.

Los resultados desarrollados por Owens *et al.* (2009) para la estimación de fibra bruta en el caso del trigo fueron similares, encontrando una R_c^2 de 0,67 y R_{cv}^2 menores o iguales de 0,50. En cuanto al maíz, Vásquez *et al.* (2004) detectaron valores óptimos de calibración

en el análisis del valor nutricional de los granos de maíz molidos, pero en el mismo trabajo se mostró una R_{cv}^2 de 0,33 para la FND. Por último, valores aceptables con un coeficiente de determinación en torno a 0,60 se han encontrado en la bibliografía para la FND de la cebada, en un estudio llevado a cabo por Harasymow y Tarr (2019). Yang *et al.* (2011) obtuvieron mejores resultados, tanto de calibración como de validación cruzada, a los obtenidos en el presente trabajo. Cozzolino (1998) encontró valores de R^2 de 0,98 para la estimación de fibra bruta en piensos compuestos usando reflectancia. Cozzolino (2002), usando una mezcla de alimentos animales, encontró una R^2 de 0,93 para la estimación de fibra ácido detergente y de 0,80 para la de fibra neutro detergente. Samadi *et al.* (2018) consiguieron modelos de predicción de fibra neutro detergente y fibra ácido detergente con R^2 de 0,80 y 0,85, respectivamente.

En cuanto al extracto etéreo, Garnsworthy *et al.* (2000) obtuvieron R^2 de 0,65 en la estimación de trigo molido. Sin embargo, Vásquez *et al.* (2004) encontraron valores de 0,97 para la estimación del porcentaje de extracto etéreo en maíz. Sohn *et al.* (2007) encontraron mayores coeficientes de determinación usando NIR-FT que usando un NIR dispersivo en cebada. Valores similares de predicción de EE para cereales sin moler también han sido desarrollados por diversos autores como Owens *et al.* (2009) en trigo, Sohn *et al.* (2008) en cebada, con valor RPD de 2,92, y Yang *et al.* (2011) en maíz. Resultados poco satisfactorios en la determinación de grasa en maíz con un NIR de transmitancia fueron obtenidos por Cogdill *et al.* (2004), en contraposición a los proporcionados por Orman y Schumann (1992). Dantes (2020) usó el infrarrojo en imágenes hiperespectrales para predecir la grasa de la soja con un R^2 de 0,89. Cozzolino (1998) encontró valores de R^2 de 0,95 para su estimación en piensos compuestos usando reflectancia, superiores al rango de R^2 de 0,89 a 0,92 encontrado en nuestro estudio.

El contenido en almidón del trigo molido fue estimado por Garnsworthy *et al.* (2000) con R^2 de 0,74 mediante la técnica de reflectancia. Asimismo, en el caso del estudio de Owens *et al.* (2009), donde también se obtuvo un valor aceptable de calibración, el valor RPD de 2,66 mostró un modelo de predicción consistente para este parámetro. Por otro lado, en investigaciones como la de Sohn *et al.* (2007), se observaron resultados aceptables en la predicción de almidón en cebada. Por último, a pesar de que no se logró un modelo de predicción fiable para este parámetro en maíz molido, sí hay artículos en la literatura, como los de Paulsen *et al.* (2003) y Vásquez *et al.* (2004), donde se obtuvieron predicciones aceptables para dicha materia prima, debido a la presencia de un gran número de datos de referencia y por tanto una mayor variabilidad. Hasta donde conocemos, no existen trabajos que hablen de desarrollo de modelos de predicción en transmitancia para parámetros como las fracciones la fibra o almidón. En este caso, no se realizó de forma análoga un análisis con el mismo equipo para muestras molidas. Según algunos autores (Williams y Sobering, 1993), no es conveniente el uso del modo de transmitancia para muestras molidas, harinas, etc.

A pesar de que los espectrofotómetros son muy diferentes (reflectancia vs. transmitancia) y utilizan regiones espectrales muy distintas, cuando se utilizó el grano entero tuvieron resultados similares en el caso de la mezcla de cereales. Sin embargo, y a pesar de que el espectrofotómetro de reflectancia utiliza el espectro visible y espectro del infrarrojo cercano, probablemente debido a su menor resolución (recoge valores cada 2 nm) obtuvo peores resultados, en general, que el espectrofotómetro de transmitancia cuando se utilizan los cereales por separado, usando este último una región reducida del infrarrojo cercano, pero con una resolución mayor (recoge valores cada 0,5 nm).

Conclusiones

Las tres combinaciones de sistemas de infrarrojo con la presentación de la muestra presentaron modelos de predicción útiles y relativamente similares, aunque cada una de ellas destacó en distintas variables, debido a que los dos distintos espectrofotómetros testados utilizan distintas regiones espectrales, con distintas resoluciones.

Teniendo en cuenta el valor de RPD, la combinación de reflectancia y grano molido fue la que desarrolló dos de los mejores modelos (materia seca con RPD = 6,4 y proteína bruta con RPD = 4,3), mientras el uso de reflectancia con grano entero desarrolló cinco de los mejores modelos (cenizas con RPD = 3,2; fibra bruta con RPD = 4,2; fibra neutro detergente con RPD = 3,2; fibra ácido detergente con RPD = 3,3 y almidón con RPD = 3,6) y la transmitancia con grano entero desarrolló tres de los mejores modelos (materia orgánica con RPD = 5,8; lignina ácido detergente = 5,4 y extracto etéreo = 3,4). La transmitancia con grano entero, en general, usó modelos con más factores, pero requirió de menos pretratamiento espectral. La opción de reflectancia con grano entero se muestra preferible a la de grano molido por el ahorro de trabajo y la rapidez debida a no tener que moler la muestra. También es el más indicado para la estimación del contenido de fibras. La reflectancia usando el grano molido destacó por la predicción de la proteína bruta ($R_{cv}^2 = 0,95$), teniendo calibraciones de calidad no muy inferiores a las otras combinaciones en materia seca ($R_{cv}^2 = 0,98$), cenizas ($R_{cv}^2 = 0,91$) y materia orgánica ($R_{cv}^2 = 0,97$). Tanto la reflectancia como la transmitancia usando grano entero dan buenos modelos para la materia seca ($R_{cv}^2 = 0,97-0,99$), pero la reflectancia con grano entero lo hizo en la estimación de fibras ($R_{cv}^2 = 0,91-0,94$) y almidón ($R_{cv}^2 = 0,93$), mientras que la transmitancia destacó en la estimación del extracto etéreo ($R_{cv}^2 = 0,92$) y la materia orgánica ($R_{cv}^2 = 0,99$).

No obstante, estos resultados se pueden considerar preliminares por usar un reducido número de muestras, aunque son indicativos de las posibilidades y limitaciones del uso de reflectancia y transmitancia en función del parámetro químico a estimar y el estado de molienda de la muestra. El aumento del número de muestras utilizado daría lugar a modelos de predicción más robustos y fiables, de manera que con un único espectrofotómetro se pudiera estimar de manera precisa todas las variables estudiadas.

Agradecimientos

Nuestro especial agradecimiento a todas las empresas que nos han cedido desinteresadamente las muestras de cereales, germen de este trabajo (Agropienseo, Agroveco, Agrovilanova, Alendi, Arpisa, ASN, Bynsa, Cargill, Cooperativa Monegros, COPISO, Inga Food, Premier pigs, Uvesa y Vall Companys), así como al personal del laboratorio, tanto de la Unidad de Nutrición Animal de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza (Jesús Artajona y Belén Hernando), como del Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (Ángeles Legua), por todo el apoyo prestado.

Referencias bibliográficas

AOAC (2000). Official methods of analysis of Association of Official Analytical Chemist, 17th ed., W. Horwitz, G.Latimer, Arlington, VA, USA.

AOCS (2005). Approved procedure Am 5-04, Rapid determination of oil/fat utilizing high temperature solvent extraction. AOCS Press. Urbana, EEUU.

Ben Gera I, Norris KH (1968). Direct spectrophotometric determination of fat and moisture in meat products. *Journal of Food Science* 33(1): 64-67. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1968.tb00885.x>.

Cen H, He Y (2007). Theory and application of near infrared reflectance spectroscopy in determination of food quality. *Trends in Food Science & Technology* 18(2): 72-83. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2006.09.003>.

CESFAC (2007). Guía para el desarrollo de normas de higienización de los piensos. Fundación CESFAC, Madrid, España, 140 pp.

Cogdill RP, Hurburgh C, Rippe GR, Bajic SJ, Jones RW, McClelland JF, Jensen TC, Liu J (2004). Single-kernel maize analysis by near-infrared hyperspectral imaging. *Transactions of the ASAE* 47(1): 311-320. <https://doi.org/10.13031/2013.15856>.

Cozzolino D (1998). Aplicación de la tecnología del NIRS para el análisis de calidad de los productos agrícolas. *Serie Técnica INIA* 97: 16.

Cozzolino D (2002). Uso de la espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) en el análisis de alimentos para animales. *Agrociencia* 6(2): 25-32.

Dantes PTG (2020). NIR hyperspectral imaging for animal feed ingredient applications. Tesis doctoral. Iowa State University, Ames, Iowa.

Delwiche SR (1995). Single wheat kernel analysis by near-infrared transmittance: Protein content. *Cereal Chemistry* 72(1): 11-16.

Díaz-Campos FJ (2016). Utilización de la técnica NIRS para evaluar la composición química de subproductos vegetales destinados en alimentación animal. Trabajo Fin de Grado, Universidad Miguel Hernández de Elche, Elche, España.

FEDNA (1999). Normas FEDNA para la formulación de piensos compuestos. FEDNA, Madrid, España.

Flores KU (2009). Determinación no destructiva de parámetros de calidad de frutas y hortalizas mediante espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano. Tesis Doctoral, Universidad de Córdoba, Servicio de Publicaciones, Córdoba, España.

Garnsworthy PC, Wiseman J, Fegeros K (2000). Prediction of chemical, nutritive and agronomic characteristics of wheat by near infrared spectroscopy. *The Journal of Agricultural Science* 135(4): 409-417. <https://doi.org/10.1017/S0021859699008382>.

- Harasymow S, Tarr A (2019). Predicting barley neutral detergent fibre (NDF) by near infrared spectroscopy and its application in malting barley quality selection. 9th Australian Barley Technical Symposium. 10-12 septiembre, Melbourne, Australia.
- Herschel W (1800). XIII. Investigation of the powers of the prismatic colours to heat and illuminate objects; with remarks, that prove the different refrangibility of radiant heat. To which is added, an inquiry into the method of viewing the sun advantageously, with telescopes of large apertures and high magnifying powers. *Philosophical Transactions* (90): 255-283. <https://doi.org/10.1098/rstl.1800.0014>.
- Manley M, McGoverin CM, Snyders F, Muller N, Botes WC, Fox GP (2013). Prediction of triticale grain quality properties, based on both chemical and indirectly measured reference methods, using near infrared spectroscopy. *Cereal Chemistry* 90(6): 540-545. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-02-13-0021-R>.
- Meng Q, Murray SC, Mahan A, Collison A, Yang L, Awika J (2015). Rapid estimation of phenolic content in colored maize by near infrared reflectance spectroscopy and its use in breeding. *Crop Science* 55(5): 2234-2243. <https://doi.org/10.2135/cropsci2014.11.0767>.
- Meurens M, Yan SH (2006). Applications of vibrational spectroscopy in brewing. En: *Handbook of Vibrational Spectroscopy* (Ed. Chalmers JM y Griffiths PR), pp. Eds., John Wiley & Sons. Chichester, UK. <https://doi.org/10.1002/0470027320.s6502>.
- Montes J, Paul C, Kusterer B, Melchinger A (2006). Near infrared spectroscopy to measure maize grain composition on plot combine harvesters: evaluation of calibration techniques, mathematical transformations and scatter corrections. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* 14(6): 387-394.
- Mouazen AM, Saeys W, Xing J, De Baerdemaeker J, Ramon H (2005). Near infrared spectroscopy for agricultural materials: an instrument comparison. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* 13(2): 87.
- Nielsen BK (2003). Organic beef production with emphasis on welfare, health and product quality. 54th Annual Meeting EAAP, 31 agosto a 3 de septiembre, Roma, Italia.
- Orman BA, Schumann RA (1992). Nondestructive single-kernel oil determination of maize by near-infrared transmission spectroscopy. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 69(10): 1036-1038. <https://doi.org/10.1007/BF02541073>.
- Osborne BG (2000). Near-infrared spectroscopy in food analysis. En: *Encyclopedia of Analytical Chemistry* (Ed. R.A. Meyers), pp. 1-14. John Wiley & Sons Ltd. Chichester, UK.
- Owens B, McCann M, McCracken KJ, Park R (2009). Prediction of wheat chemical and physical characteristics and nutritive value by near-infrared reflectance spectroscopy. *British Poultry Science* 50(1): 103-122. <https://doi.org/10.1080/00071660802635347>.
- Pasquini C (2003). Near Infrared Spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 14: 198-219. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532003000200006>.
- Paulsen MR, Pordesimo LO, Singh M, Mbuvi SW, Ye B (2003). Maize starch yield calibrations with near infrared reflectance. *Biosystems engineering* 85(4): 455-460. [https://doi.org/10.1016/S1537-5110\(03\)00082-5](https://doi.org/10.1016/S1537-5110(03)00082-5).
- Pedersen DK, Martens H, Nielsen JP, Engelsen SB (2002). Near-infrared absorption and scattering separated by extended inverted signal correction (EISC): analysis of near-infrared transmittance spectra of single wheat seeds. *Applied Spectroscopy* 56(9): 1206-1214.
- Peguero A (2010). La espectroscopia NIR en la determinación de propiedades físicas y composición química de intermedios de producción y productos acabados. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias, Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona, España.
- Prieto N, Roehe R, Lavín P, Batten G, Andrés S (2009). Application of near infrared reflectance spectroscopy to predict meat and meat products quality: A review. *Meat Science* 83(2): 175-186. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.04.016>.

- Ripoll G, Lobón S, Joy M (2018). Use of visible and near infrared reflectance spectra to predict lipid peroxidation of light lamb meat and discriminate dam's feeding systems. *Meat Science* 143: 24-29. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.04.006>.
- Saeyns W, Mouazen AM, Ramon H, 2005. Potential for onsite and online analysis of pig manure using visible and near infrared reflectance spectroscopy. *Biosystems engineering* 91(4): 393-402. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2005.05.001>.
- Samadi S, Wajizah S, Munawar AA (2018). Rapid and simultaneous determination of feed nutritive values by means of near infrared spectroscopy. *Tropical Animal Science Journal* 41(2): 121-127. <https://doi.org/10.5398/tasj.2018.41.2.121>.
- Samadi, Wajizah S, Munawar AA (2020). Near infrared spectroscopy (NIRS) data analysis for a rapid and simultaneous prediction of feed nutritive parameters. *Data in Brief* 29: 105211. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2020.105211>.
- Shenk J, Westhaus M (1995). Analysis of agriculture and food products by near infrared reflectance spectroscopy. Monograph NIR systems. Infracsoft International, NIR Systems. Inc., Silver Spring, USA. 116 pp.
- Sinnaeve G, Dardenne P, Agneessens R, Biston R (1994). The use of near infrared spectroscopy for the analysis of fresh grass silage. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* 2: 79-84.
- Sohn M, Himmelsbach DS, Barton FE, Griffey CA, Brooks W, Hicks KB (2007). Near-infrared analysis of ground barley for use as a feedstock for fuel ethanol production. *Applied Spectroscopy* 61(11): 1178-1183. <https://doi.org/10.1366%2F000370207782597148>.
- Sohn M, Himmelsbach DS, Barton FE, Griffey CA, Brooks W, Hicks KB (2008). Near-infrared analysis of whole kernel barley: Comparison of three spectrometers. *Applied Spectroscopy* 62(4): 427-432. <https://doi.org/10.1366%2F000370208784046768>.
- Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74: 3583-3597. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2).
- Vásquez DR, Abadía B, Arreaza LC (2004). Aplicación de la Espectroscopía de Reflectancia en el Infrarrojo Cercano (NIRS) para la caracterización nutricional del pasto Guinea y del grano de maíz. *Ciencia & Tecnología Agropecuaria* 5(1): 49-55.
- Williams PC (1975). Application of near infrared reflectance spectroscopy to analysis of cereal grains and oilseeds. *Cereal Chemistry* 52: 561-576.
- Williams PC, Sobering D (1993). Comparison of commercial near infrared transmittance and reflectance instruments for analysis of whole grains and seeds. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* 1(1): 25-32. <https://doi.org/10.1255%2Fjnirs.3>.
- Yang F, Xie C, He D (2011). Analysis and estimate of corn quality by near infrared reflectance (NIR) spectroscopy. 2011 Symposium on Photonics and Optoelectronics (SOPO), 16-18 mayo, Wuhan, China. pp. 1-4. <https://doi.org/10.1109/SOPO.2011.5780611>.
- Zeng X-Y, Zhao W-Q, Hu X-Z, Li X-P, Qiao Y-Y, Ma Z, Zhang Q-A (2019). Determination of polyphenols in oats by near-infrared spectroscopy (NIRS) and two-dimensional correlation spectroscopy. *Analytical Letters* 52(6): 962-971.

(Aceptado para publicación el 13 de enero de 2022)