

Desarrollar un modelo de predicción mediante Espectroscopia en Infrarrojo Cercano (NIRS) para la determinación de proteína cruda en subproductos de arroz (*Oriza sativa*)

Developing a prediction model by Near Infrared Spectroscopy (NIRS) for determination of crude protein in rice byproducts (*Oriza sativa*)

Segundo José Zamora Huamán¹, Flor Lidomira Mejía Risco²

RESUMEN

El objetivo de la investigación fue validar un modelo de predicción del contenido de proteína cruda en subproductos de arroz (*Oriza sativa*) usando espectroscopia en infrarrojo cercano (NIRS). Se utilizó dos subproductos, polvillo y arroz quebrado (nielen) de cuatro molinos piladores de arroz en la región Amazonas. Se recolectó 4 muestras en frascos de 50 ml de cada molino en el periodo de mayo - julio del 2018, contado con un total de 32 muestras, 16 de cada subproducto, luego fueron transportadas al laboratorio para sus respectivos análisis. Se realizó el análisis de proteína cruda mediante el equipo NIRS 2500XL en el rango de longitud de onda de 1100 – 2500 nm, asimismo de las mismas muestra se realizó el análisis de referencia mediante métodos tradicionales mediante la metodología de la AOAC (1990). Obtenidos estos valores, se evaluó en una tabla de Excel el coeficiente de determinación (R^2), Error estándar de predicción y el ajuste de bias. El polvillo de arroz y nielen reportaron un R^2 de 0.93 y 0.62, y el ajuste de bias de -0.06 y -0.09 respectivamente. Se concluye que se puede predecir el nivel de proteína cruda en polvillo mediante NIRS.

Palabras clave: NIRs, validación, predicción, salvado, proteína, arroz

ABSTRACT

The objective of the research was to validate a prediction model of crude protein content in rice byproducts (*Oriza sativa*) using near infrared spectroscopy (NIRS). Two byproducts, powder and broken rice (nielen) were used from four rice pilars mills in the Amazonas region. Four samples were collected in 50 ml flasks from each mill in the period of May - July 2018, counted with a total of 32 samples, 16 of each byproduct, then transported to the laboratory for their respective analyzes. The crude protein analysis was carried out using the NIRS 2500XL equipment in the wavelength range of 1100 - 2500 nm, and the reference sample was analyzed using traditional methods using the AOAC methodology (1990). Once these values were obtained, the coefficient of determination (R^2), Standard prediction error and bias adjustment were evaluated in an Excel table. Broken and rice bran reported an R^2 of 0.93 and 0.62, and the bias adjustment of -0.06 and -0.09 respectively. It is concluded that the level of crude protein in rice bran can be predicted by means of NIRS.

Keywords: NIRs, validation, prediction, bran, protein, rice

¹ Docente Auxiliar de la Facultad de Ingeniería Zootecnista, Agronegocios y Biotecnología de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas; Ingeniero Zootecnista; Maestro en Ciencias con especialidad en Producción y Sanidad Animal, Correo electrónico: szamora.fizab@untrm.edu.pe

I. INTRODUCCIÓN

El cultivo de arroz ocupa el primer puesto dentro del PBI agrícola a nivel nacional, con una superficie de producción aproximada de 417, 42 miles de hectáreas en la campaña agrícola 2015-2016, alcanzando un total de 3 166 miles de toneladas. Con promedio de 7,5 toneladas por hectárea, además es el que genera más fuentes de trabajo, el de más alto crecimiento en superficie agrícola (MINAGRI, 2017).

El polvillo de arroz está constituido por el pericarpio y germen de la semilla de *Oriza sativa* L., y constituye aproximadamente el 10% del grano duro de arroz (Juliano, 2013). Se compone de tres capas fusionadas: pericarpio, cubierta de semillas, nucellus y una pequeña capa de aleurona. Es un subproducto en el proceso de molinería y se ha utilizado como materia prima e ingrediente en la alimentación animal. En comparación con la otra porción del grano entero, el polvillo de arroz contiene la mayor cantidad de proteínas, grasas, cenizas, fibra, fibra dietética total, compuestos fenólicos, c-orzanol, vitamina E, pigmento de antocianina y algunos minerales esenciales (Fe, Zn).

Hoy en día estos subproductos son utilizados en la alimentación animal, en las raciones alimenticias de diferentes especies de interés zootécnico, existe un gran porcentaje de dichos subproductos, pero para poder ser utilizados en la alimentación animal es necesario conocer su composición química y nutricional. Para conocer esta composición es necesario realizar análisis, comúnmente estos análisis se realiza mediante el análisis proximal propuesto por la AOAC (1990) de manera tradicional mediante equipos habituales, los cuales requieren de tiempos prolongados y usa reactivos muy costosos lo que hace elevar el coste de dichos análisis, además los reactivos utilizados son desechados al ambiente generando contaminación y con el pasar del tiempo se ha ido buscando nuevas alternativas para realizar dichos análisis (Asekova et al., 2016).

La palabra espectroscopia proviene de la raíz latina spectrum (aparición, imagen) y la palabra griega skopia (ver). Esta definición es más bien descriptiva de la medición espectroscópica en sí misma. En esencia, la tecnología NIR involucra luz interactuando con un material, donde una radiación electromagnética ocurre en forma de ondas. La longitud de onda es la distancia entre los dos picos o puntos altos, y se indica con el símbolo λ .

La longitud de onda en el espectro NIR se mide normalmente en nanómetros (nm) donde $1\text{ nm} = 10^{-9}\text{ m}$ ó $1000\text{ nm} = .001\text{ mm}$. A la temperatura superior del

cero absoluto ($-273.15\text{ }^\circ\text{C}$) cualquier molécula emitirá rayos infrarrojos (Juliano, 2003).

Estas longitudes de onda interactúan con las moléculas de las sustancias; donde estas son grupos de átomos, los cuales se han combinado para formar compuestos químicos. Por ejemplo, el metano contiene un átomo de carbono (C) y cuatro átomos de hidrógeno (H). Las uniones específicas entre los átomos vibran a una cierta frecuencia, y cada tipo de estas uniones químicas dentro de una muestra absorberán rayos NIR de una longitud de onda específica, mientras todas las demás longitudes de onda son reflejadas. Wehling, 1998 (Como se citó en Borjas O. Eva, (2002)) dice que la espectroscopia de infrarrojo cercano se basa en la absorción de grupos funcionales que tienen un átomo de carbono unido a uno de hidrogeno, nitrógeno u oxígeno, las bandas originadas no son más que sobretonos de respuesta. Muy comunes en parámetros del alimento como agua, proteínas, grasas y polisacáridos.

En la práctica, la muestra a ser analizada es bombardeada con rayos NIR de diferentes longitudes de onda como se ilustra en la Figura 4. Por cada longitud de onda, algunos de los rayos serán entonces absorbidos por uniones químicas específicas. Al mismo tiempo, otros rayos serán diseminados y reflejados por otras uniones químicas. Este proceso es comúnmente descrito como Reflectancia NIR. En contraste, algunos de los rayos pasarán a través de la muestra, lo cual es denominado Transmisión NIR (a menudo referida como NIT).

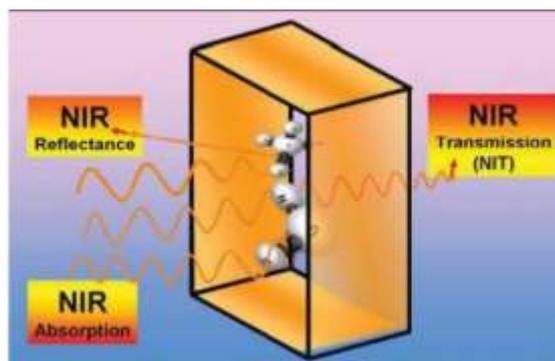


Fig. 1. Rayos NIR absorbidos por algunos enlaces y reflejados por otros enlaces (reflectancia NIR), o transmitidos a través de la muestra.

La espectroscopia de infrarrojo cercano se usó inicialmente para determinar la composición de pienso para animales y forrajes. La información que se encuentra en la literatura está enfocada en gran medida a la determinación de humedad, fibra cruda, proteína total y grasa total; adicionalmente se encuentran datos relacionados a los aminogramas de algunas sustancias. Actualmente la espectroscopia de

infrarrojo cercano (NIR) es una de las técnicas más importantes usadas en las industrias de alimentos y en las industrias farmacéuticas entre otros sectores como el sector agropecuario, de bebidas, aceites etc.

Una de las alternativas es la utilización de tecnologías emergentes, la más utilizada para el análisis de composición química es la espectroscopia en el infrarrojo cercano, del inglés Near Infrared Spectroscopy (NIRS), se basa en la quimiométrica, que relaciona la luz absorbida en una muestra con la composición química de la misma y en base en ello se desarrollan ecuaciones de predicción. Esta metodología ha sido aplicada en el análisis de productos, alimentos, químicos, y en farmacéutica entre otros (Rivera, 2017, Ye et al., 2018 Jiang & Lu, 2018 y).

Además es empleada desde la década del setenta como una técnica alternativa a los métodos tradicionales, con alto potencial para la obtención de confiables y rápidos resultados de la composición nutricional (Cozzolino, 2002 y Peguero, 2010). Permite determinar la composición nutricional a un bajo costo, en un menor tiempo, es una técnica no destructiva y para ello es necesario validar modelos que relacionan los datos espectrales obtenidos del equipo NIR y la composición nutricional obtenidos por métodos tradicionales como el método proximal (Galasso et al., 2017, Bagchi et al, 2015, (Magwaza, Messo Naidoo, Laurie, Laing, & Shimelis, 2016)

Dado que el Laboratorio de Nutrición Animal y Bromatología de Alimentos de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas cuenta con el equipo NIRS y por otro lado la región Amazonas es una de las principales productoras de arroz, donde los subproductos son poco valorados y se desconoce su composición química, por ello, con esta investigación se pretende evaluar el contenido de proteína cruda de dos subproductos de la industria arrocera, a fin de validar los modelos de predicción de composición proteica en subproductos de arroz de la provincia de Bagua y Utcubamba, región Amazonas, requiriendo previamente de análisis de laboratorio como análisis de referencia, a partir del cual se validará modelos para predecir la composición nutricional y esto permitirá brindar las facilidades a los productores para poder realizar el análisis de estos subproductos a un menor costo y en un menor tiempo posible. El objetivo del presente proyecto fue validar un modelo de predicción del contenido de proteína cruda en subproductos de arroz (*Oriza sativa*) usando espectroscopia en infrarrojo cercano (NIRS) de la región Amazonas.

II. MATERIAL Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo en dos fases, la primera fue la recolección de muestras de 4 plantas de molinos piladores de arroz, 2 pertenecen al distrito de Cajaruro, Provincia de Utcubamba, uno del distrito de Utcubamba y uno del distrito de Bagua, región Amazonas, se describen en la tabla 1. La segunda fase se llevó a cabo en laboratorio de nutrición animal y bromatología de los alimentos de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, donde se cuenta con los equipos necesarios para realizar la investigación.

Las muestras de polvillo de arroz y arroz quebrado (nielen) fueron recolectadas en frascos de plástico del molino pilador de arroz, un promedio de 80g de cada muestra, con 4 repeticiones de cada subproducto en cada uno de los molinos. Los principales equipos utilizados en la investigación fue el espectrofotómetro de infrarrojo cercano NIR (SPECTRA 2500 XL, Unity Scientific - USA) para tomar los espectros y el equipo de Khjendal (00-N, Selecta Pro Nitro - España) para determinar proteína. La población estuvo constituida por dos subproductos de arroz: Nielen y Polvillo del distrito de Cajaruro, Utcubamba y Bagua, considerada como una zona principal de producción arrocera de la región Amazonas.

Se contó con un total 32 muestras de 16 muestras de polvillo y 16 de nielen, tomado cuatro repeticiones de cada molino de cada uno de los subproductos.

El muestro fue al azar directamente de los sacos almacenados en el molino.

Antes del análisis con el equipo NIRS, las muestras fueron almacenadas en temperaturas que oscilan entre 20-25°C por un periodo de 6 h para balancear la humedad y temperatura que podría alterar la reflectancia y absorbancia de las ondas NIR. El equipo fue calibrado con la ayuda del software UCal Model. La metodología utilizada para realizar el análisis mediante NIRS fue la descrita por , quien describe el uso de una pequeño recipiente (medidas: diámetro interno de 66 mm y una altura de 25 mm), que fue usada para la toma de espectros en el equipo NIRS en una longitud de onda de 1100 - 2500 nanómetros, tomando aproximadamente 15 gramos de cada muestra. El valor de espectro de reflectancia ($\log 1/R$) el reportará el valor de proteína de cada una de las muestras.

La metodología utilizada para el análisis proximal de contenido de nitrógeno (Proteína = %N x 5.95), tanto de las muestras de polvillo y nielen, fue mediante el protocolo de la , tomando en cuenta que se tomó

aproximadamente 100 mg de polvillo sin grasa de las mismas muestras utilizadas para el análisis NIRS. La validación del modelo se realizó mediante el procedimiento propuesto por [1], donde se utilizó un modelo UCAL (www.unityscientific.com) con el que cuenta el equipo NIRS, se realizó usando una tabla de Excel. La precisión fue medida mediante el valor del coeficiente de determinación (R^2) que es la variación explicada por la curva de validación, el error estándar de predicción y el valor de residuales o "bias que es la diferencia sistemática entre los valores reales y predicción NIRS (Borjas, 2002). Se obtuvo el factor de ajuste y este fue reemplazado en el parámetro de proteína, en cada uno de los subproductos de arroz, en el equipo NIRS, quedando listo para realizar el análisis de proteína de los subproductos evaluados, sin tener que realizar el análisis convencional, lo cual facilitara la obtención de resultados de proteína en los productos antes mencionados.

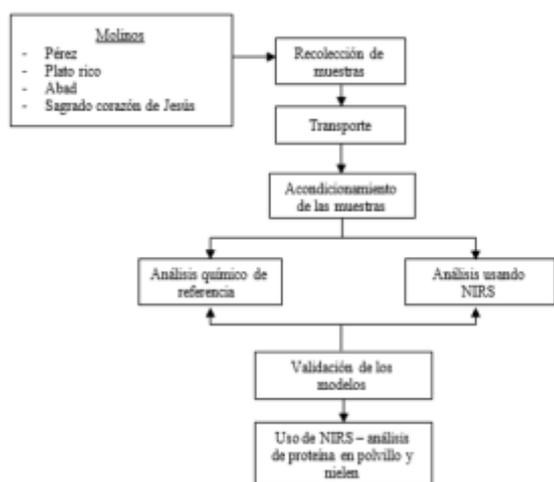


Fig. 2. Flujograma de procedimiento

III. RESULTADOS

Contenido de proteína

Se muestra el análisis descriptivo de 32 muestras de dos principales subproductos de arroz, 16 muestras de polvillo y 16 de nielen, los niveles promedios de proteína para el análisis de químico referencia (realizado por métodos tradicionales - análisis proximal) fueron de 14.20% y 8.51% respectivamente y los niveles promedio de proteína mediante el análisis NIRS fueron de 14.26% en polvillo y 8.72% en nielen.

Tabla 1. Resultados de contenido de proteína en sub productos de arroz

	Análisis tradicional		Análisis NIRS	
	Polvillo	Nielen	Polvillo	Nielen
N° de muestras	16	16	16	16
Promedio	14.20	8.51	14.26	8.60
Mínimo	13.13	7.55	13.27	7.39
Máximo	15.07	10.04	15.2	9.65
Error típico	0.12	0.18	0.13	0.14
Desviación estándar	0.48	0.72	0.5	0.54

Validación del modelo de predicción

Los resultados de validación del modelo de predicción de proteína cruda en subproductos de arroz, polvillo y nielen son: coeficiente de determinación (R^2) de 0.93 y 0.62, error estándar de predicción de 0.18 y 0.57 y ajuste de bias de -0.06 y -0.09 respectivamente. Indicando un mejor coeficiente de determinación en el polvillo, el cual indica que existe menor variación explicada por la curva de validación, asimismo el error estándar de predicción y el ajuste de bias fue menor, estos estadísticos mientras más cercano a cero existirá una mejor validación.

El ajuste de bias fue reemplazado en el parámetro de proteína en el equipo NIRS, en los subproductos de arroz evaluados individualmente, a partir de ello el modelo quedó listo para poder realizar análisis de rutina. El polvillo de arroz presenta mejor modelo, ya que muestra un mejor R^2 en relación a los análisis químicos y NIRS se encuentran cerca de la línea de tendencia como lo muestra la figura 3, a comparación del nielen el cual el R^2 es bajo y los análisis NIRS están alejados a la línea de tendencia de la validación ver figura 4.

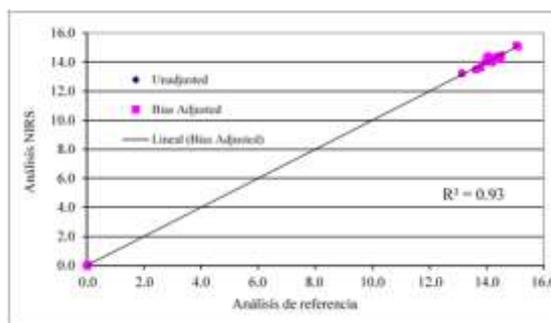


Fig. 3. Relación entre análisis químico de referencia y NIRS en polvillo de arroz

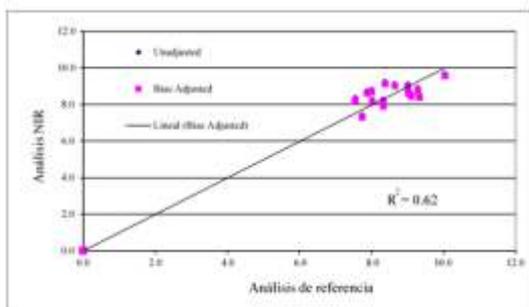


Fig. 4. Relación entre análisis químico de referencia y NIRS en arroz quebrado

IV. DISCUSIÓN

Los niveles de proteína cruda de los subproductos de arroz se muestran en tabla 1. Los resultados de polvillo y en nielen fueron similares a los obtenidos por Bernal, Maicelo, & Yoplac (2017) en su trabajo caracterización bromatológica de veinte insumos alimenticios disponibles en la región, reportaron valores de 13,41 y 8.65 respectivamente. También Goñas (2017), realizó la caracterización nutricional de once subproductos agroindustriales usados en la alimentación animal, evaluando también los subproductos de la industria arrocera y reporto valores de 13.28 y 9.68 respectivamente, dichos resultados fueron cercanos a los reportados en esta investigación.

Los resultados de validación de los modelos de los subproductos de arroz, polvillo y nielen, los valores de coeficiente de determinación (R^2) fueron de 0.93 y 0.62, indica que cuan más cercano a 1 está mejor validado, error estándar de predicción (EEP) de 0.18 y 0.57 y ajuste de bias de -0.06 y -0.09 respectivamente, estos resultados mientras más cercanos a cero se tendrá un mejor modelo. Este trabajo se compara con diferentes estudios realizados en cereales, insumos y alimentos ejecutados en diferentes países, debido a que no presenta evidencias para la validación de predicción de composición de proteína cruda de subproductos de arroz usando NIRS donde presentan valores similares en los estadísticos evaluados a los reportados por Kays, Barton, & Windham (2000), en su investigación realizaron la predicción del contenido de proteínas mediante NIRS en diversos cereales, incluido el arroz, donde reportaron un R^2 , EEC y ajuste de bias de 0.98, 0.49 y 0.18 respectivamente. Asimismo Borjas (2002), estableció y validó curvas de calibración NIRS para determinar la calidad química del jamón Virginia, y obtuvo un R^2 , EEP y el ajuste de bias de 0.99, 0.43 y 0.001 respectivamente, las diferencias se puede deber a diferencia insumos y al número de muestra

evaluadas.

V. CONCLUSIONES

La composición media de proteína cruda de subproducto de arroz, polvillo y nielen mediante el análisis de referencia y NIR es de 14.20, 14.26 y 0.51, 8.60% respectivamente.

Los resultados obtenidos nos indican que se puede predecir el nivel de proteína cruda en polvillo de arroz en el equipo NIR, es de mucha ayuda ya que mejora la eficiencia en el proceso para la toma de decisiones en términos de costos, tiempo y recurso humano. Sin embargo, el nielen reporto un R^2 bajos y un error mayor, para lo cual no es recomendable usar para realizar este análisis mediante el equipo NIRS.

Dado que el laboratorio utiliza reactivos contaminantes para realizar los análisis proximales de referencia, NIRS nos permite reducir los niveles de contaminación teniendo mayor número de análisis, también los costos van disminuir. Un análisis de proteína cruda tarda cerca de 6 horas hábiles, mientras que el equipo NIR realiza este análisis en 45 segundos, la velocidad en este análisis permite tener capacidad de respuesta inmediata y tomar decisiones al incorporar estos insumos en la alimentación animal según la especie.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC. (1990). AOAC: Official Methods of Analysis (Vol. 1).
- Asekova, S., Han, S. I., Choi, H. J., Park, S. J., Shin, D. H., Kwon, C. H., ... Lee, J.-D. (2016). Determination of forage quality by near-infrared reflectance spectroscopy in soybean. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 40, 45 - 52. <https://doi.org/10.3906/tar-1407-33>
- Bagchi, T. B., Sharma, S. G., & Chattopadhyay, K. (2015). Development of NIRS models to predict protein and amylose content of brown rice and proximate compositions of rice bran. *Food Chemistry*, 1-26. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.038>
- Bernal, W., Maicelo, J. L., & Yoplac, I. (2017). Bromatological characterization of non-traditional supplies for animal feed in the Amazonas region. *Revista RICBA*, 1(1), 27 - 32. <https://doi.org/10.25127/ricba.201701.003>
- Borjas, E. D. (2002). Establecimiento y validación de curvas de calibración NIRS para

- determinar la calidad química del jamón Virginia. Honduras.
- Burns, D.A. y Ciurczak, E.W. (1992). Handbook of near infrared analysis. Burns, D. A. and Ciurczak, E.W. (eds.) Marcel Dekker, New York, NY, USA.
- Cen, H. y He, Y. (2007). Theory and application of near infrared reflectance spectroscopy in determination of food quality. *Trends in Food Science and Technology*, 18, 72-83.
- Cozzolino, D. (2002). Uso de la espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) en el análisis de alimentos para animales. *Agrociencia*, VI, 25-32.
- Galasso, H. L., Callier, M. D., Bastianelli, D., Blancheton, J. P., & Aliaume, C. (2017). The potential of near infrared spectroscopy (NIRS) to measure the chemical composition of aquaculture solid waste. *Aquaculture*, 476, 134-140. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.02.035>
- Goñas, K. (2017). Caracterización nutricional de once sub productos agroindustriales para la alimentación animal en la región Amazonas. Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas.
- Jiang, H., & Lu, J. (2018). Using an optimal CC-PLSR-RBFNN model and NIR spectroscopy for the starch content determination in corn. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 196, 131-140. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2018.02.017>
- Juliano, B.O. (2003). Rice. Chemistry and quality. Manila, Philipines: Phil Rice. 480.
- Kays, S. E., Barton, F. E., & Windham, W. R. (2000). Predicting protein content by near infrared reflectance spectroscopy in diverse cereal food products. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 8(1), 35-43. <https://doi.org/10.1255/jnirs.262>
- Magwaza, L. S., Messo Naidoo, S. I., Laurie, S. M., Laing, M. D., & Shimelis, H. (2016). Development of NIRS models for rapid quantification of protein content in sweetpotato [*Ipomoea batatas* (L.) LAM.]. *LWT - Food Science and Technology*, 72, 63-70. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.04.032>
- MINAGRI. (2017). Informe de Arroz. Direccion de Estudios Económicos e Información Agraria (Vol. 9). Recuperado a partir de file:///C:/Users/User/Downloads/boletin-informe-arroz_final.pdf
- Morgado, F. (2014). Ajuste de Modelos AUNIR en Equipos NIR Unity Scientific.
- Peguero, A. (2010). La espectroscopia NIR en la determinación de propiedades físicas y composición química de intermedios de producción y productos acabados. Universidad Autónoma de Barcelona.
- Rivera, A. (2017). NIRS for analyzing animal nutrition food. *Revista Ingenio UFPSO*, (June), 199-211.
- Ye, D., Sun, L., Zou, B., Zhang, Q., Tan, W., & Che, W. (2018). Non-destructive prediction of protein content in wheat using NIRS. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 189, 463-472. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2017.08.055>
- Wehling, R.L. 1998. Basic Principles of spectroscopy. In Nielsen, S. Food analysis. 2 ed. Indiana US. RB. 630