

Predicción de la composición química del grano de sorgo mediante espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS)

Predicting the chemical composition of sorghum grain by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS)

Erica Ramírez Rodríguez^a, Ana María Anaya Escalera^a, Gerardo Mariscal Landín^a

RESUMEN

En la calibración de un equipo de infrarrojo cercano (NIRS, por sus siglas en inglés) para predecir la composición química del grano de sorgo, se utilizaron 216 muestras de tres años (1996, 1997 y 1998), a las cuales se les determinó densidad, humedad, proteína cruda, fibra detergente neutro (FDN) y taninos. Se obtuvo su espectro de NIRS empleando un equipo con 19 filtros discretos. A los resultados del análisis químico se les realizó un estudio de estadística descriptiva (promedio, mínimo, máximo, desviación estándar y coeficiente de variación) y se compararon las muestras de cada año según un diseño completamente al azar. Los resultados muestran que el contenido de taninos tuvo diferencias significativas ($P < 0.05$) entre años 0.07, 0.72 y 0.52 % para 1996, 1997 y 1998 respectivamente. El nivel de FDN fue diferente ($P < 0.05$) en cada año: 14.70 en 1996, 10.22 en 1997 y 12.86 en 1998. El contenido de proteína cruda fue similar ($P > 0.05$) siendo 8.18 % el contenido promedio. El coeficiente de determinación (R^2) de las ecuaciones de regresión obtenidas con el NIRS fue alto para humedad (0.96), proteína cruda (0.93) y FDN (0.74). Para predecir taninos se desarrollaron dos ecuaciones: la primera para sorgos con bajas concentraciones de taninos (0.12 a 0.45 %) y la segunda para niveles de 0.47 a 1.07 %; en las dos ecuaciones la R^2 fue baja, 0.58 y 0.52 respectivamente. Se concluye que el NIRS fue capaz de predecir el contenido de humedad, proteína cruda y FDN. Se requiere mejorar la predicción del contenido de taninos.

PALABRAS CLAVE: Sorgo, Proteína cruda, Taninos, FDN, NIRS.

ABSTRACT

In the calibration of a near infrared spectroscopy (NIRS) device to predict the chemical composition of sorghum grain, 216 sorghum grain samples were used throughout three years (1996, 1997 y 1998). Density, moisture, crude protein, neutral detergent fiber (NDF), and tannin contents were measured by determining sample NIRS spectrum using a 19-discrete-filter NIRS machine. Chemical results were subjected to a descriptive statistical analysis (average, minimum, maximum, standard deviation, and coefficient of variation). Samples from each year were compared using a totally-at-random design. Regarding tannin contents, statistically significant differences ($P < 0.05$) were found among years (0.07, 0.72, and 0.52% for 1996, 1997, and 1998, respectively). NDF levels were different ($P < 0.05$) each year (14.70 in 1996; 10.22 in 1997; and 12.86 in 1998). Crude protein contents were similar ($P > 0.05$), with an average of 8.18 %. The coefficient of determination (R^2) of NIRS regression equations was high for moisture (0.96), crude protein (0.93), and NDF (0.74) contents. Two equations were developed in order to predict tanning contents. The first equation was for low tannin sorghum samples (0.12 to 0.45 %). The second equation corresponded to sorghum samples containing 0.47 to 1.07 % tannins. Both equations had low R^2 values (0.58 and 0.52, respectively). We concluded that NIRS was able to predict the levels of moisture, crude protein, and NDF. Tannin content prediction is yet to be improved.

KEY WORDS: Sorghum, Crude protein, Tannins, NDF, NIRS.

Recibido el 29 de enero de 2003 y aceptado para su publicación el 7 de mayo de 2004.

^a CENID Fisiología, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Km 1 Carretera a Colón, Ajuchitlán, Colón, Querétaro, 76280 México, teléfono: 419 292 00 36, fax: 419 292 00 33. mariscal.gerardo@inifap.gob.mx. Correspondencia al tercer autor.

INTRODUCCIÓN

El control de calidad de las materias primas y del alimento elaborado es importante en la industria productora de alimentos para animales, debido a que ellos demandan el aporte de nutrimentos que les permita manifestar su potencial productivo⁽¹⁾. Aunado a esto, los alimentos deben de ser económicamente competitivos y no aportar un exceso de nutrimentos, para de esa manera optimizar la síntesis del producto (carne, leche, huevos), disminuyendo el impacto de la producción animal sobre el medio ambiente^(2,3). Ese control tradicionalmente se ha realizado utilizando determinaciones químicas⁽⁴⁾, las cuales requieren personal capacitado y la infraestructura necesaria para su realización.

Actualmente, la industria cuenta con la espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS, por sus siglas en inglés), la cual permite estimar el contenido de compuestos orgánicos en una materia prima de una manera rápida, eficiente y económica⁽⁵⁻⁸⁾. Su fundamento es el siguiente: la región del infrarrojo cercano está comprendida entre las longitudes de onda de 730 a 2,500 nm y el infrarrojo medio entre las longitudes de onda de 2,500 a 50,000 nm. Esta región es una parte de la espectroscopia vibracional, por lo que cuando una muestra es irradiada con esas longitudes de onda, la luz es absorbida selectivamente de acuerdo a la frecuencia de vibración de la molécula, generándose así un espectro específico para esa muestra. Los constituyentes de los alimentos contienen enlaces de hidrógeno con otros grupos funcionales (C-H, O-H, N-H). Esos grupos funcionales dominan el espectro NIR de los alimentos, lo que permite realizar estudios cuantitativos^(8,9). Sin embargo, debido a que no se puede predecir la respuesta a la radiación de un compuesto heterogéneo, como una materia prima donde existen innumerables enlaces entre hidrógeno y otros grupos funcionales, la espectroscopía NIRS es una técnica empírica que precisa la calibración con muestras de composición conocida, determinada ésta por métodos tradicionales.

INTRODUCTION

Raw material quality control is important for the balanced feed industry, since animals have certain nutrient requirements in order to express their full genetic potential⁽¹⁾. On the other hand, feeds must remain economically competitive. Excess nutrient supply should be avoided while optimizing animal production (meat, milk, eggs), and decreasing the impact of farming on the environment^(2,3). Traditionally, feedstuff quality control has been performed using chemical procedures⁽⁴⁾ that require special facilities, and trained staff.

Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS), is now available to the feed industry. NIRS allows for the rapid, efficient, inexpensive estimation of organic compound contents⁽⁵⁻⁸⁾. Its fundament is as follows: the near infrared region is found between 730 and 2,500 nm wavelengths, while the medium infrared region is found between 2,500 and 50,000 nm. This region is a part of the vibrational spectroscopy, so that when a sample is radiated with such wavelengths, light is selectively absorbed depending on molecule's vibration frequency, thus generating a sample-specific spectrum. Feeds contain hydrogen bonds linked to other functional groups (C-H, O-H, N-H). Such functional groups dominate the NIRS spectrum of feeds, so that quantitative studies can be performed⁽⁸⁻⁹⁾. Nevertheless, given that the radiation response of a heterogeneous compound such as a raw material containing numberless bonds between hydrogen and other functional groups cannot be predicted, NIRS –as an empirical technique– needs to be calibrated using samples of known composition, as previously determined using traditional methods.

Once the NIRS system has been loaded with known spectra, data is processed using mathematical models in order to predict the chemical composition of unknown, test samples. This process is known as “chemometrics”, and it is carried out using multiple linear regression methods, which can be represented by the following model:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \dots + \beta_n X_n$$

Where Y is the component to be calibrated; X_1 , X_2 ,

Una vez que se ha alimentado al NIRS con espectros conocidos, se procesa la información por modelos matemáticos para predecir la composición química de muestras no analizadas; proceso que se conoce como “chemometrics”. Este proceso se lleva a cabo empleando métodos de regresión lineal múltiple, los cuales pueden ser representados por el siguiente modelo:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \dots + \beta_n X_n$$

Donde Y es el componente a ser calibrado, $X_1, X_2, X_3 \dots X_n$ son las variables espectrales independientes, $\beta_1, \beta_2, \beta_3 \dots \beta_n$ son los n coeficientes de regresión y β_0 es el intercepto.

En el proceso de alibración un conjunto de X 's y Y 's conocidas es utilizado para calcular las β s, mientras que en el proceso de validación un conjunto de X 's y β 's ya calculadas son utilizadas para predecir un Y desconocido⁽⁹⁾. La ventaja del NIRS es que una vez calibrado para los nutrientes deseados, puede ser empleado en la predicción de ellos en otras muestras de una manera rápida y confiable.

En la actualidad no existen modelos desarrollados para predecir la composición química del sorgo, por lo que el objetivo del presente trabajo fue el de implementar un modelo de predicción del contenido de humedad, proteína cruda, fibra detergente neutro y taninos del grano de sorgo, por medio de un equipo NIRS.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron 216 muestras de sorgo; 55 de ellas correspondieron a 1996, 82 a 1997 y las restantes 79 a 1998. Las muestras del primer año se comercializaron en “La Piedad Michoacán” y fueron proporcionadas por la empresa “Concentra”. Las demás muestras se cultivaron y comercializaron en el estado de Guanajuato y fueron proporcionadas por la unión de porcicultores de Guanajuato (UGRPG), con excepción de cuatro muestras cultivadas en el campo experimental de Amazcala de la Universidad Autónoma de Querétaro, y que fueron proporcionadas por esa institución.

$X_3 \dots X_n$ are the independent spectral variables; $\beta_1, \beta_2, \beta_3 \dots \beta_n$ are the coefficients of regression, and β_0 is the intercept.

During the calibration process a known X 's/ Y 's set is used to estimate the β s. During the validation process, a previously calculated X 's/ β 's set is used to predict an unknown Y ⁽⁹⁾. The benefit of NIRS is that once calibrated for the desired nutrients, it can be used for the rapid, reliable prediction of such nutrients in different test samples.

No models have been developed so far for predicting the chemical composition of sorghum. Therefore, the purpose of this research was to implement a prediction model for moisture, crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF), and tannins in sorghum grain samples using NIRS.

MATERIALS AND METHODS

The research was carried out during 1996 - 1998, using 216 sorghum samples, 55 of which corresponded to 1996, 82 to 1997, and 79 to 1998. All 1996 samples were obtained from sorghum batches sold in La Piedad, State of Michoacán, Mexico, and they were provided by the Concentra company. All other samples were cropped and sold in the State of Guanajuato, and they were provided by Guanajuato's Swine Producers Union (UGRPG), with the exception of four samples harvested and provided by the Amazcala experimental station, from the Autonomous University of Querétaro.

Samples were received in the Nutrition Laboratory of CENI: Physiology. Sample density was determined following Mexican Sorghum Norm⁽¹⁰⁾ guidelines. Samples were ground using a lab mill (Arthur H. Thomas Co. Philadelphia, PA) to a 1.0 mm mesh particle size. Moisture and crude protein levels were determined using the technique described by van Soest *et al.*⁽¹¹⁾. Tannin levels were determined using the technique proposed by Price *et al.*⁽¹²⁾. Percent tannin contents were expressed in catechin equivalents.

The chemical composition of sorghum samples was used to generate a descriptive statistical data base

Las muestras se recibieron en el laboratorio de Nutrición del CENI Fisiología, donde se procedió a determinar la densidad del grano de acuerdo a la Norma Mexicana del Sorgo⁽¹⁰⁾. Posteriormente, se molieron en un molino de laboratorio (Arthur H. Thomas Co. Philadelphia, PA) para que atravesaran una malla de 1.0 mm y se les determinó el contenido de humedad y proteína cruda (PC) de acuerdo al AOAC⁽⁴⁾, fibra detergente neutro (FDN) según la técnica descrita por van Soest *et al.*⁽¹¹⁾ y taninos de acuerdo a la técnica propuesta por Price *et al.*⁽¹²⁾, expresando el porcentaje como equivalente de catequina. La composición química de los sorgos se utilizó para generar una estadística descriptiva de cada uno de los componentes analizados. El análisis estadístico se realizó por medio del procedimiento "Means" del paquete estadístico SAS⁽¹³⁾. La composición química entre años se comparó por medio de un diseño completamente al azar⁽¹⁴⁾, utilizando el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS⁽¹³⁾, y las diferencias entre medias se analizaron por medio de la probabilidad de diferencia entre las medias mínimo cuadráticas.

A los granos de sorgo molidos se les determinó su espectro NIRS, empleando para ello un equipo Bran + Luebbe, InfraAlyzer 360 equipado con 19 filtros discretos en interfase con una computadora PC 486. Las longitudes de onda (nm) comprendidas fueron (1445, 1680, 1722, 1734, 1759, 1778, 1818, 1940, 1982, 2100, 2139, 2180, 2190, 2208, 2230, 2270, 2310, 2336, 2348). Las muestras analizadas químicamente durante los tres años se utilizaron para calibrar el NIRS; lo cual se realizó utilizando el software Idas-PC, versión 1.45 con capacidad para realizar regresiones múltiples. El programa "Step-Up Search" del software antes mencionado fue el encargado de realizar la regresión lineal múltiple; se le predeterminó para que obtuviera ecuaciones de regresión con tres betas (longitudes de onda), las cuales obtenía después de encontrar las cinco combinaciones de tres longitudes de onda con el mayor coeficiente de correlación. Los datos de calibración se revisaron cuidadosamente para detectar muestras atípicas, las cuales se definieron como aquéllas en que el valor "t" del residuo fue superior a 2.5 veces el error estándar de estimación y aquéllas en las que su distancia H (distancia de

of each compound analyzed. Statistical analysis was performed using the Means procedure of SAS⁽¹³⁾. Chemical composition was compared among years using a completely randomizing design⁽¹⁴⁾. For this purpose, 55, 82, and 79 sorghum samples corresponding to 1996, 1997, and 1998, respectively were used. This analysis was performed using the GLM procedure of SAS⁽¹³⁾. Mean differences were analyzed using the difference probability between quadratic minimum means.

NIRS spectrum of ground sorghum grain samples was determined using a Bran + Luebbe, InfraAlyzer 360 machine, equipped with 19 discrete filters in an inter-phase, with a PC 486 computer. Wave lengths included (1445, 1680, 1722, 1734, 1759, 1778, 1818, 1940, 1982, 2100, 2139, 2180, 2190, 2208, 2230, 2270, 2310, 2336, and 2348 nm). Samples analyzed chemically throughout the three years were used to calibrate the NIRS. This was done using the Idas-PC, version 1.45 software, with the ability to perform multiple regressions. The "Step-Up Search" program of the software was used to perform the multiple linear regression. It was predetermined to obtain regression equations with three betas (wavelengths). Such regression equations were obtained using the software after finding the five combinations of three wavelengths with the highest correlation coefficient. Calibration data were carefully reviewed in order to detect atypical samples. Wich were defined as those where the residue "t" value was >2.5 times the estimation standard error, and those in which the H distance Mahalanobis' distance) of the average spectrum of all samples was >3. Such samples were analyzed chemically one more time and if the difference persisted, they were removed. Multiple regression equations for moisture, CP, and NDF were validated using 20 sorghum samples not used for the calibration. This way, the prediction standard error was obtained.

RESULTS

Chemical analysis results are shown in Table 1. Average percent results were: density, 75.1; moisture, 11.7; CP, 8.2; NDF, 12.3; and tannins, 0.49. Density was the component showing the least

COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL GRANO DE SORGO MEDIANTE NIRS

Cuadro 1. Composición química porcentual del grano de sorgo

Table 1. Chemical composition of sorghum grain (%)

	N	Mean	Minimum	Maximum	SD	CV
Moisture	216	11.7	7.2	16.9	1.11	9.49
Density	137	75.1	65.5	79.1	2.51	3.34
Crude protein	216	8.2	5.2	11.0	1.09	13.28
NDF	216	12.3	6.3	22.9	2.90	23.51
Tannins	21	60.4	90.0	25.0	60.73	152.79
Composition of sorghum harvested in 1996						
Moisture	55	11.1 ^a	8.5	14.9	1.32	11.88
Density	55	75.0	65.9	78.3	2.21	2.95
Crude protein	55	8.4	6.4	11.0	1.06	12.60
NDF	55	14.7 ^c	11.6	17.4	1.34	9.13
Tannins	55	0.07 ^a	0.02	0.40	0.06	80.71
Composition of sorghum harvested in 1997						
Moisture	82	12.0 ^b	10.1	16.9	0.98	8.14
Density	82	75.2	65.5	79.1	2.70	3.59
Crude protein	82	8.0	5.2	10.6	1.15	14.34
NDF	82	10.2 ^a	6.3	17.2	2.58	25.28
Tannins	82	0.72 ^b	0.02	4.45	0.73	101.62
Composition of sorghum harvested in 1998						
Moisture	79	11.8 ^b	7.2	14.0	0.91	7.72
Crude protein	79	8.2	5.7	10.0	1.01	12.32
NDF	79	12.9 ^b	8.3	22.9	2.49	19.35
Tannins	79	0.52 ^b	0.02	5.06	0.86	167.61

N = number of samples analyzed, SD = standard deviation, CV = coefficient of variation.

NDF = Neutral detergent fiber.

^{abc}Different superscripts on the same nutrient in column two are different ($P < 0.05$).

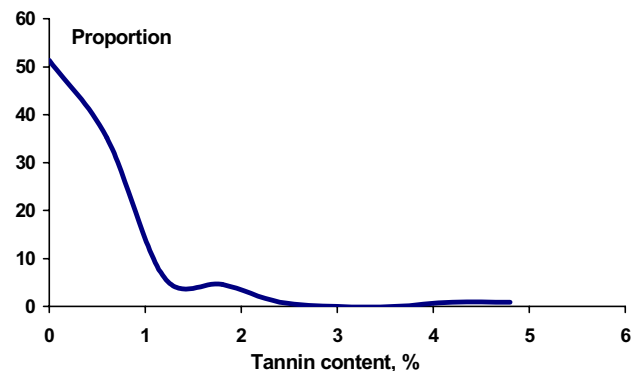
Mahalanobis) del espectro promedio de todas las muestras fue mayor de tres. Esas muestras se volvieron a analizar químicamente y en el caso de persistir la diferencia se eliminaron. Las ecuaciones de regresión múltiple para humedad, proteína cruda y FDN se validaron utilizando 20 muestras de granos de sorgo no empleadas en la calibración, obteniendo así el error estándar de predicción.

RESULTADOS

Los resultados de los análisis químicos se presentan en el Cuadro 1. La composición porcentual promedio fue de 75.1 de densidad, 11.7 de humedad, 8.2 de PC, 12.3 de FDN y 0.49 de taninos. La densidad fue el componente menos

Figura 1. Distribución de frecuencias del contenido de taninos de las 216 muestras analizadas

Figure 1. Tannin content frequency distribution among the 216 samples analyzed



variable con un coeficiente de variación de 3.34 y el contenido de taninos el más variable con un coeficiente de variación de 152.79. La humedad, FDN y taninos fueron diferentes ($P < 0.05$) entre años, siendo los contenidos de humedad y de taninos inferiores en el año 1996 con respecto a los otros años. El contenido de FDN fue diferente ($P < 0.05$) en los tres años, el menor contenido (10.2) fue para el año 1997 y el mayor (14.7) para el año 1996.

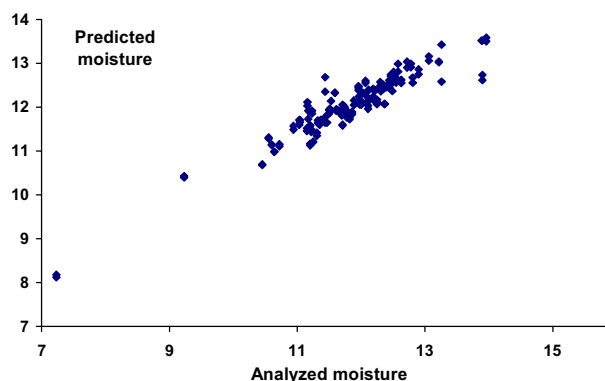
En la Figura 1 se muestra la frecuencia relativa del contenido de taninos, apreciándose que el 91.7 % de las muestras analizadas tuvo niveles de taninos inferiores a 1.5 %, existiendo solamente un 1.86 % de muestras de sorgo con valores de taninos superiores a 3.9 %.

En el Cuadro 2 se presentan las R^2 de las ecuaciones de predicción obtenidas, su error estándar de predicción y las longitudes de onda empleadas para cada uno de los nutrientes estudiados. La ecuación de predicción del contenido de humedad empleó las longitudes de onda de 1,940, 2,100 y 2,348 nm; su R^2 fue de 0.96 (Figura 2), y cuando fue validada su error estándar de predicción fue pequeño (0.372). Para predecir el contenido de PC se obtuvo una ecuación empleando las longitudes de onda 1,818, 2,139 y 2,208 nm, la cual tuvo una R^2 de 0.93 (Figura 3), y al ser validada tuvo un error estándar de predicción de 0.186. La ecuación que

variation with a CV of 3.34. Tannin content was the parameter with the highest level of variation, with a CV of 152.79. Moisture, NDF, and tannins were different ($P < 0.05$) among years. Moisture and tannin contents were lower in 1996 than in any of the other two years. NDF levels were different ($P < 0.05$) among all three years, being the lowest (10.2) in 1997, and the highest (14.7) in 1996.

Figura 2: Contenido de humedad analizado en el laboratorio y el predicho por el NIRS. Datos utilizados en el proceso de calibración del equipo NIRS

Figure 2. Moisture content as analyzed in the laboratory (X axis), and moisture content as predicted by NIRS (Y axis). Data used in the calibration process of the NIRS equipment



Cuadro 2. Estadísticas de calibración del NIRS, longitudes de onda utilizadas y coeficientes asignados para cada longitud de onda en cada una de las ecuaciones

Table 2. NIRS calibration statistics, wavelengths used, and coefficients assigned to each wavelength for each equation

Component	R^2	PSE	Wavelength selected			Coefficients assigned to each wavelength			
			1	2	3	β_0	β_1	β_2	β_3
Moisture	0.96	0.372*	1940	2100	2348	9.1470	67.9699	-46.9100	-19.1433
Crude protein	0.93	0.186*	1818	2139	2208	16.6758	-124.5966	-291.0390	400.1475
Neutral detergent fiber	0.74	0.838*	1445	2180	2230	22.6460	94.3665	307.0979	-397.6016
Tannins (range)									
0.12 - 0.45	0.58	0.071**	1940	2208	2310	-0.2180	2.8200	-11.3090	7.4500
0.47 - 1.07	0.52	0.129**	1680	2270	2310	2.9800	-10.7730	37.0690	-31.5250

PSE = Prediction standard error.

*Prediction standard error obtained during equation's validation process.

**Estimation standard error obtained during the calibration process.

se obtuvo para predecir el contenido de FDN utilizó las longitudes de onda de 1445, 2180 y 2230 nm, tuvo una R^2 de 0.74 (Figura 4), por lo que al ser validada su error estándar de predicción fue mayor (0.838). La predicción de taninos fue mucho menos precisa, teniéndose que crear dos ecuaciones con diferentes intervalos de contenido de taninos. La primer ecuación fue para los sorgos con bajo contenido de taninos (0.12 a 0.45 %), la segunda fue para los sorgos con niveles de taninos de 0.47 a 1.07 %. Las R^2 fueron bajas: 0.58 y 0.52 respectivamente (Figuras 5,6).

Figure 1 shows the relative frequency of tannin contents. As it can be seen, 91.7% of the samples had tannin levels $<1.5\%$. Only 1.86% of the samples had tannin concentrations $>3.9\%$.

Prediction equation R^2 values, prediction standard error, and wavelengths used for each of the nutrients analyzed are shown in Table 2. The moisture prediction equation used the following wavelengths: 1940, 2100, and 2348 nm; its R^2 was 0.96 (Figure 2), and during validation, its prediction standard error was rather small (0.372). A CP prediction

Figura 3: Contenido de proteína cruda analizado en el laboratorio y el predicho por el NIRS

Figure 3: Crude protein content as analyzed in the laboratory (X axis); and crude protein content as predicted by NIRS (Y axis)

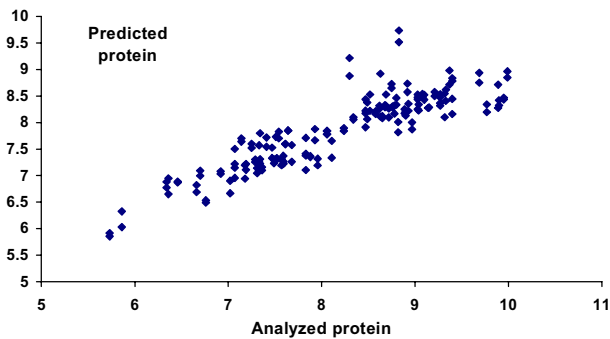


Figura 5: Contenido de taninos analizado en el laboratorio y el predicho por el NIRS (ecuación 1)

Figure 5: Tannin content as analyzed in the laboratory (X axis), and tannin content as predicted by NIRS (Y axis), (equation 2)

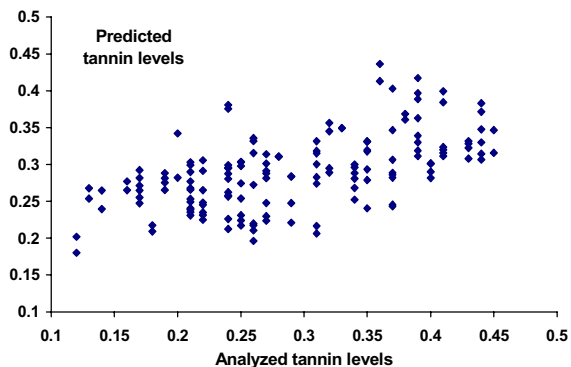


Figura 4: Contenido de FDN analizado en el laboratorio y el predicho por el NIRS

Figure 4: Neutral detergent fiber (NDF) content as analyzed in the laboratory (X axis), and NDF content as predicted by NIRS (Y axis)

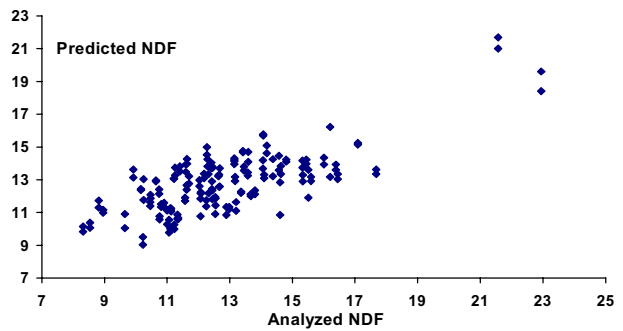
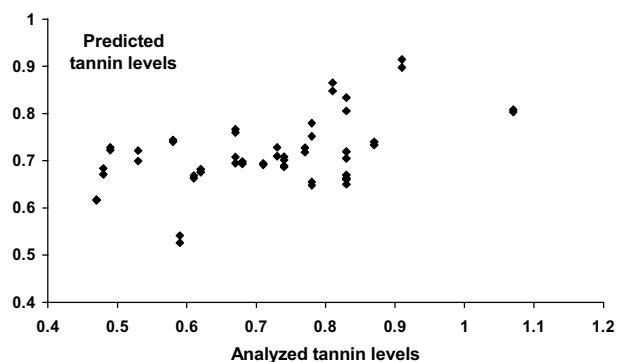


Figura 6: Contenido de taninos analizado en el laboratorio y el predicho por el NIRS (ecuación 2)

Figure 6: Tannin levels as analyzed in the laboratory (X axis), and tannin levels as predicted by NIRS (Y axis), (equation 2)



DISCUSIÓN

El estrecho rango observado en la densidad, pudo deberse a que los sorgos estudiados se produjeron en condiciones de riego, lo que minimizó el efecto del estrés hídrico sobre el llenado de los granos, y por lo tanto sobre su densidad. El intervalo reportado en la literatura para el contenido de proteína cruda en el grano de sorgo se encuentra entre 6.6 y 15.0 %⁽¹⁵⁻¹⁹⁾, para taninos entre 0.02 y 6.32 %^(16,18,20,21) y para FDN entre 9.1 y 15.7 %^(18,22). Los valores encontrados en este trabajo coinciden en lo general con ellos; tanto en la dispersión de los valores como en los promedios reportados en tablas^(15,23,24). La variación observada en la composición química pudo estar asociada a dos factores: variedades o híbridos estudiados^(18,22) y a las condiciones agroecológicas en las cuales fueron producidas las muestras⁽¹⁸⁾. Estos factores pueden explicar la diferencia entre años observada en la composición química.

La capacidad de predicción del NIRS para humedad y proteína cruda fue alta. El coeficiente de determinación ($R^2=0.96$) de la ecuación para el contenido de humedad del grano de sorgo concuerda con la de otras materias primas reportadas en la literatura: grano de trigo⁽²⁵⁾, grano de soya y chícharo, pastas de canola y girasol⁽²⁶⁾ y harina de pescado⁽²⁷⁾; trabajos en los cuales se obtuvieron ecuaciones con una R^2 de 0.94 a 0.97. La ecuación obtenida empleó la longitud de onda de 1,940 nm, la cual es donde presenta mayor absorbancia la molécula de agua^(8,27) y la longitud de onda de 2,348 nm, la cual está asociada a los enlaces carbono-hidrógeno⁽²⁷⁾. De igual manera, la calidad de la ecuación de predicción del contenido de proteína fue alta ($R^2 = 0.93$), lo cual concuerda con resultados obtenidos en grano de trigo⁽²⁵⁾, grano de soya y chícharo, pastas de canola y girasol⁽²⁶⁾, chícharo⁽²⁸⁾ y maíz⁽²⁹⁾, trabajos en los cuales se obtuvieron ecuaciones con una R^2 de 0.90 a 0.99. La ecuación obtenida empleó las longitudes de onda de 1,818 y 2,208 nm, las cuales han sido asociadas con la proteína del maíz⁽²⁹⁾.

En el caso de FDN, la capacidad de predicción fue menor ($R^2=0.74$), resultado que discrepa de lo reportado en la literatura^(29,30,31), en donde se

equation was obtained using 1818, 2139, and 2208 nm wavelengths. Such equation had a R^2 of 0.93 (Figure 3), and when validated, it showed a prediction standard error of 0.186. The equation obtained to predict the NDF content used 1445, 2180, and 2230 nm wavelengths, and its R^2 was 0.74 (Figure 4); hence, when validated its prediction standard error was higher (0.838). Tannin prediction was a lot less precise. Therefore, two different equations needed to be created for two different tannin content intervals. The first of these equations was used for sorghum samples containing low tannin levels (0.12 to 0.45 %). The other equation was for sorghum samples with 0.47 to 1.07 % tannins. R^2 values were low, i.e.: 0.58 and 0.52 respectively (Figures 5,6).

DISCUSSION

The narrow density range found could have been due to the fact that the sorghum samples analyzed were cropped under irrigation, thus minimizing the effect of water stress over grain fill, hence over grain density. The intervals reported in the literature for sorghum grain are 6.6 to 15.0 %⁽¹⁵⁻¹⁹⁾ for CP; 0.02 to 6.32 %^(16,18,20,21) for tannins; and 9.1 to 15.7 %^(18,22) for NDF. The values detected in this research grossly match those reported in the literature, regarding both value dispersion and table averages^(15,23,24). The variation observed in the chemical composition could be associated with two factors, i.e.: sorghum varieties/hybrids^(18,22), and the cropping/environmental conditions⁽¹⁸⁾. These factors could explain the yearly chemical composition differences.

NIRS had a high prediction ability regarding both moisture and CP. The determination coefficient ($R^2 = 0.96$) of the sorghum grain moisture content equation is in agreement with that of other feedstuffs reported in the literature: wheat grain⁽²⁵⁾; soybeans and peas; canola meal and sunflower meal⁽²⁶⁾; and fishmeal⁽²⁷⁾; where equations with R^2 values ranging from 0.94 to 0.97 were obtained. The equation obtained used the 1940 nm wavelength –at which the highest absorbance of water molecules occur^(8,27)– as well as the 2348 nm wavelength – which is associated with the carbon-hydrogen

obtuvieron ecuaciones con una R^2 de 0.90 a 0.97. La diferencia puede ser debida a que en esos estudios se trabajó con la planta entera, lo que permitió tener una amplia gama de valores de FDN (33 a 89 %) incrementando así la eficiencia en la predicción. En el presente estudio al utilizar solamente el grano de sorgo se contó con un intervalo menor de FDN (6.27 a 22.94 %). Aunado a esto, la cantidad de almidón presente en el grano pudo disminuir la precisión del análisis de FDN⁽³²⁾. La ecuación obtenida empleó las longitudes de onda de 1,445 y 2,230 nm, las cuales han sido asociadas a la estimación de FDN en maíz⁽²⁹⁾.

En el caso de taninos el NIRS mostró una capacidad de predicción muy baja, ya que en las dos ecuaciones desarrolladas se obtuvieron coeficientes de determinación bajos ($R^2=0.52$ y 0.58). En trabajos realizados para predecir el contenido de compuestos fenólicos en hojas de Té⁽³³⁾ y de taninos condensados en una variedad de Trébol⁽³⁴⁾ las R^2 fueron ligeramente superiores (0.67 y 0.77 respectivamente). Las longitudes de onda de 2,200 y 1,670 han sido asociadas a la predicción de taninos condensados⁽³⁴⁾, esas longitudes son muy similares a algunas longitudes de onda empleadas en el presente trabajo (2,208 y 1,680 nm). La baja capacidad de predicción del NIRS para el contenido de taninos observada en este trabajo, pudo deberse básicamente a dos factores: que la mayoría de los sorgos utilizados (91.7 %) contenía menos de 1.5 % de taninos; y que el 25 % de los sorgos empleados estuvieron almacenados durante un año. Esto pudo ocasionar que se incrementara su nivel de polimerización, proceso reportado en el vino⁽³⁵⁾, lo cual pudo influir en la estimación del contenido de taninos, ya que cuando estos están muy polimerizados, son subestimados químicamente⁽³⁶⁾; a diferencia del NIRS en el cual los enlaces empleados en la estimación de compuestos fenólicos han sido utilizados para caracterizar la edad de las hojas de Té, ya que el NIRS es capaz de discriminar entre compuestos fenólicos con diferentes grados de polimerización⁽³³⁾.

CONCLUSIONES E IMPLICACIONES

El NIRS fue capaz de predecir de manera rápida y confiable el contenido de humedad, proteína cruda

bonds⁽²⁷⁾. Likewise, the quality of the protein content prediction equation was also high ($R^2 = 0.93$). This is in agreement with the results obtained with wheat grain⁽²⁵⁾; soybeans and peas; canola meal and sunflower meal⁽²⁶⁾; peas⁽²⁸⁾; and corn⁽²⁹⁾; where equations with R^2 values ranging from 0.90 to 0.99 have been obtained. The equation obtained used the 1818 and 2208 nm wavelengths, which has been associated with corn protein⁽²⁹⁾.

As far as NDF is concerned, a lower prediction ability ($R^2 = 0.74$) was observed. This does not match other literature reports^(29,30,31) where equations with R^2 values ranging from 0.90 to 0.97 have been obtained. The difference can be attributed to the fact that such studies involved whole plants, resulting in a wide range (33 to 89 %) of NDF values, thus increasing prediction efficiency. In our study, the use of sorghum grain resulted in a smaller NDF interval (6.27 to 22.94 %). In addition, the starch content in the grain could have resulted in a decreased NDF analysis precision as mentioned by Aufrère *et al.*⁽³²⁾. The equation obtained used the 1445 and 2230 nm wavelengths, which have been associated with corn NDF estimation⁽²⁹⁾.

Regarding tannins, NIRS showed a very poor prediction ability, since both of the equations that were developed had low determination coefficients ($R^2 = 0.52$ and 0.58). Papers published elsewhere about the prediction of phenolic compounds in tea leaves⁽³³⁾ and condensed tannins in one clover variety⁽³⁴⁾ reported slightly higher R^2 values (0.67 and 0.77 , respectively). The wavelengths of 2200 and 1670 nm have been associated with the prediction of condensed tannin contents⁽³⁴⁾. Such wavelengths are very similar to some of the wavelengths used in our research (2208 and 1680 nm). The low prediction ability of NIRS for tannin contents observed in this study could be the result of two factors: that either most of the sorghum samples used (91.7 %) contained <1.5 % tannins, or that 25 % of the sorghum samples used had been stored for one year. This could have resulted in an increased degree of polymerization (as reported for wine⁽³⁵⁾), and this could have affected the estimation of tannin contents since once polymerized, tannin levels are typically underestimated if analyzed

y FDN del grano de sorgo; sin embargo, se requiere mejorar la capacidad de predicción del contenido de taninos.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a la Fundación Guanajuato Produce A.C. por el apoyo financiero a este proyecto de investigación. A la Unión de Porcicultores de Guanajuato (UGRPG), a la empresa CONCENTRA y a la Universidad Autónoma de Querétaro por las muestras de sorgo proporcionadas.

LITERATURA CITADA

1. Black JL. Principles behind feed formulation. In: Moughan PJ, Verstegen MWA, Visser-Reyneveld MI editors. Feed evaluation principles and practice. 1st ed. Wageningen, The Netherlands: Wageningen Pers; 2000:209-220.
2. Sève B. Alimentation du porc en croissance: intégration des concepts de protéine idéale, de disponibilité digestive des acides aminés et d'énergie nette. *INRA Prod Anim* 1994;(4):275-291.
3. Heger J, Mengrsha S, Vodehnal D. Effect of essential:total nitrogen ratio on protein utilization in the growing pig. *Br J Nutr* 1998;(80):537-544.
4. AOAC. Official Methods of Analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA. 1990.
5. Givens DI, De Boever JL, Deaville ER. The principles, practices and some future applications of near infrared spectroscopy for predicting the nutritive value of foods for animals and humans. *Nutr Res Reviews* 1997;(10):83-114.
6. Leeson S, Valdes EV, de Lange CFM. Near infrared reflectance spectroscopy and related technologies for the analysis of feed ingredients. In: Moughan PJ, Verstegen MWA, Visser-Reyneveld MI editors. Feed evaluation principles and practice. 1st ed. Wageningen, The Netherlands: Wageningen Pers; 2000:93-104.
7. Reeves JB. Use near infrared reflectance spectroscopy. In: D'Mello JPF editor. Farm animal metabolism and nutrition. CAB International 2000:185-207.
8. Bertrand D. La spectroscopie proche infrarouge et ses applications dans les industries de l'alimentation animale. *INRA Prod Anim* 2002;(15):209-219.
9. Givens DI, Deaville ER. The current and future role of near infrared reflectance spectroscopy in animal nutrition: a review. *Aust J Agric Res* 1999;(50):1131-1145.
10. Norma Mexicana. NMX-Y-014-1994 SCFI Alimentos para animales sorgo (sorghum vulgare). Diario Oficial de la Federación, México, D.F. a 6 de Septiembre de 1994.
11. Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J Dairy Sci* 1991;(74):3583-3597.
12. Price ML, Steve VS, Butler LC. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *J Agric Food Chem* 1978;(26):1214-1218.
13. SAS. SAS/STAT User's Guide (Version 6, 4th Ed.). SAS Inst. Inc. Cary NC. 1990.
14. Steel RGD, Torrie JH. Principles and procedures of statistics. A biometrical approach. 2nd ed. McGraw-Hill Kogakusha, Ltd. 1980.
15. AMINODAT. Interactive software for monogastric/ruminant nutrition. DEGUSSA. Degussa-Hüls AG, Hanua Germany. 1995.
16. Torres CTE, Alanis GMG, Maiti R. Relación entre composición nutricional y parámetros anatómicos en sorgo. *Arch Latinoam Nutr* 1996;(46):253-259.
17. Nyachoti CM, Atkinson JL, Leeson S. Sorghum tannins: a review. *World's Poult Sci J* 1997;(53):5-21.
18. Douglas JH, Sullivan TW, Bond PL, Struwe FJ. Nutrient composition and metabolizable energy values of selected grain sorghum varieties and yellow corn. *Poult Sci* 1990;(69):1147-1155.
19. Jondreville C, van den Broecke J, Gatel F, Grosjean F, van Cauwenberghe S, Sève B. Ileal digestibility of amino acids and estimates of endogenous amino acid losses in pigs fed wheat, triticale, rye, barley, maize and sorghum. *Anim Res* 2001;(50):119-134.

CONCLUSIONS AND IMPLICATIONS

NIRS was able to predict quickly and reliably the content of moisture, CP, and NDF in sorghum grain samples. The ability of NIRS to predict tannin content is yet to be improved.

ACKNOWLEDGEMENTS

Authors wish thank to Guanajuato Produce Foundation for their financial support to this project, to Guanajuato Swine Producers Union (U.G.R.P.G.), to CONCENTRA company, and Querétaro Autonomous University for supplying the sorghum samples.

End of english version

COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL GRANO DE SORGO MEDIANTE NIRS

20. Elkin RG, Marisue BF, Hamaker BR, Zhang Ye, Parsons AM. Condensed tannins are only partially responsible for variations in nutrient digestibilities of sorghum grain cultivars. *J Agric Food Chem* 1996;(44):848-853.
21. Bullard RW, York JO. Screening grain sorghums for bird tolerant and nutritional quality. *Crop Protection* 1996;(15):159-165.
22. Reeds JD. Phenolics, fiber and fiber digestibility in bird resistant and non bird resistant sorghum grain. *J Agric Food Chem* 1987;(35):461-464.
23. Tejada HI, Berruecos JM, Merino ZH. Análisis bromatológico de alimentos empleados como ingredientes en nutrición animal. *Téc Pecu Méx* 1977;(Supl 5).
24. NRC. National Research Council. Nutrient requirements of swine. 10th ed. Washington, DC: National Academy Press; 1998.
25. Garnsworthy PC, Wiseman J, Fegeros K. Prediction of chemical, nutritive and agronomic characteristics of wheat by near infrared spectroscopy. *J Agric Sci Cambr* 2000;(135):409-417.
26. Fontaine J, Hörr J, Schirmer B. Near-Infrared reflectance spectroscopy enables the fast and accurate prediction of the essential amino acid contents in soy, rapeseed meal, sunflower meal, peas, fishmeal, meat meal products and poultry meal. *J Agric Food Chem* 2001;(49):57-66.
27. Cozzolino D, Chree A, Murray I, Scaife JR. The assesment of the chemical composition of fishmeal by near infrared reflectance spectroscopy. *Aquaculture Nutr* 2002;(8):149-155.
28. Williams PC, Mackenzie SL, Starkey PM. Determination of methionine in peas by Near-Infrared reeeflectance spectroscopy (NIRS). *J Agric Food Chem* 1985;(33):811-815.
29. Albanell E, Plaixats J, Ferret A. Evaluation of Near-Infrared reflectance spectroscopy for predicting stover quality trait in semi-exotic populations of maize. *J Sci Food Agric* 1995;(69):269-273.
30. Bruno-Soares AM, Murray I, Paterson RM, Abreu JFM. Use of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) for the prediction of the chemical composition and nutritional attributes of green crop cereals. *Anim Feed Sci Technol* 1998;(75):15-25.
31. Cozzolino D, Fassio A, Gimenez A. The use of near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to predict the composition of whole maize plants. *J Sci Food Agric* 2000;(81):142-146.
32. Aufrère J, Graviou D, Demarquilly C, Perez JM, Andrieu J. Near infrared reflectance spectroscopy to predict energy value of compound feeds for swine and ruminants. *Anim Feed Sci Technol* 1996;(62):77-90.
33. Schulz H, Engelhardt UH, Wegent A, Drews HH, Lapczynski S. Application of near infrared reflectance spectroscopy to the simultaneous prediction of alkaloids and phenolic substances in green tea leaves. *J Agric Food Chem* 1999;(47):5064-5067.
34. Smith KF, Kelman WM. Predicting condensed tannin concentration in *Lotus uliginosus* Schkuhr using near-infrared reflectance spectroscopy. *J Sci Food Agric* 1997;(75):263-267.
35. Drownowski A, Gomez-Carneros C. Bitter taste, phytonutrients, and the consumer: a review. *Am J Clin Nutr* 2000;(72):1424-1435.
36. Schofield P, Mbugua DM, Pell AN. Analysis of condensed tannins: a review. *Anim Feed Sci Technol* 2001;(91):21-40.

