

Predicción de la Composición Química y Fibra Detergente Neutro de Rye Grass Italiano (*Lolium multiflorum* Lam) mediante Espectroscopía de Reflectancia en Infrarrojo Cercano (NIRS)

PREDICTION OF CHEMICAL COMPOSITION AND NEUTRAL DETERGENT FIBRE OF ITALIAN RYEGRASS (*Lolium multiflorum* LAM) BY NEAR INFRARED SPECTROSCOPY (NIRS)

Sandra Bezada Q.^{1,6}, Teresa Arbaiza F.¹, Fernando Carcelén C.¹, Felipe San Martín H.¹, Christian López L.², Jean Rojas E.³, Virginia Rivadeneira¹, Oscar Espezúa F.¹, Jorge Guevara V.⁴, Víctor Vélez M.⁵

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue generar ecuaciones de calibración que permitan predecir la composición químico nutricional de la especie forrajera rye grass italiano (RG) (*Lolium multiflorum* Lam) mediante la técnica de Espectroscopía de Reflectancia en Infrarrojo Cercano (NIRS). Se colectaron 75 muestras de RG de diferentes semanas de corte provenientes de los campos experimentales del Centro de Investigación IVITA-El Mantaro (Huancayo, Perú), a las cuales se les realizó la captura del espectro mediante equipo NIRS y se hizo el análisis químico de referencia para los componentes proteína cruda (PC), extracto etéreo (EE), cenizas totales (CZ), fibra cruda (FC) y fibra detergente neutro (FDN). Se desarrolló un modelo de calibración y validación mediante mínimos cuadrados parciales (PLS) y como estadísticos de exactitud y precisión se utilizaron el coeficiente de correlación (R), coeficiente de determinación (R^2), raíz cuadrada media del error de calibración (RMSEC), raíz cuadrada media del error de predicción (RMSEP), proporción del rango con el error (RER) y desviación residual predictiva (RPD). El análisis proximal promedio fue para PC=19.02%, EE=4.53%, CZ=12.79%, FC=16.50% y FDN=60.98%. Altos valores de R^2 y bajos RMSEC y RMSEP fueron obtenidos para PC

¹ Laboratorio de Bioquímica, Nutrición y Alimentación Animal, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú

² Reactivos para Análisis Perú SA, Lima, Perú

³ Estación Experimental del Centro de Investigación IVITA-El Mantaro, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Huancayo, Perú

⁴ EAP Ingeniería Agroindustrial, Facultad de Química e Ingeniería Química, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú

⁵ Estación Experimental del Centro de Investigación IVITA-Marangani, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Cusco, Perú

⁶ E-mail: sandrabezadaq@gmail.com

Recibido: 4 de noviembre de 2016

Aceptado para publicación: 24 de abril de 2017

(0.96, 1.02, 1.19), EE (0.94, 0.29, 1.05), CZ (0.90, 0.57, 0.92) y FDN (0.90, 1.01, 1.25, respectivamente). El mayor RER (22.34) y RPD (4.90) se obtuvo para EE. Se concluye que las ecuaciones de calibración y validación NIRS obtenidas permiten una óptima predicción cuantitativa de PC, EE, CZ y FDN en rye grass italiano (*Lolium multiflorum* Lam).

Palabras clave: NIRS; espectroscopía de reflectancia en infrarrojo cercano; evaluación de forrajes; análisis proximal; rye grass italiano; *Lolium multiflorum* Lam; calibración

ABSTRACT

The aim of this study was to generate calibration equations to predict the nutritional chemical composition of the Italian rye grass (RG) (*Lolium multiflorum* Lam) by near infrared spectroscopy (NIRS). A total of 75 samples of RG of different harvesting weeks were collected from the IVITA Research Center in Huancayo (Peru). Spectrum capture was performed using NIRS and the chemical analysis was done for reference of the following components: crude protein (CP), ether extract (EE), total ash (CZ), crude fibre (CF) and neutral detergent fibre (NDF). A calibration and validation model by partial least squares (PLS) was developed and the correlation coefficient (R), coefficient of determination (R^2), root mean square error of calibration (RMSEC), root mean square error of prediction (RMSEP), ratio range with error (RER) and residual predictive deviation (RPD) were used as statistics of accuracy and precision. Proximate analysis means were: PC = 19.02%, EE = 4.53%, CZ = 12.79%, FC = 16.50% and NDF 60.98%. High values of R^2 and low values of RMSEC and RMSEP were obtained for PC (0.96, 1.02, 1.19), EE (0.94, 0.29, 1.05), CZ (0.90, 0.57, 0.92) and NDF (0.90, 1.01, 1.25, respectively). The largest RER (22.34) and RPD (4.90) were obtained for EE. It is concluded that the calibration and validation equations obtained by NIRS enable optimal quantitative prediction of PC, EE, CZ and NDF in Italian rye grass (*Lolium multiflorum* Lam).

Key words: NIRS; near infrared spectroscopy; forage evaluation; proximate analysis; Italian rye grass; *Lolium multiflorum* Lam; calibration

INTRODUCCIÓN

En el Perú existe un limitado desarrollo en la automatización de los métodos convencionales de análisis de alimentos, de modo que se dificulta disponer de información confiable de forma rápida y eficaz sobre el valor nutricional de los pastos utilizados como alimento para el ganado.

La tecnología de espectroscopía de reflectancia en infrarrojo cercano (Near Infrared Spectroscopy, NIRS) se emplea desde la década del setenta como una técnica

alternativa a los métodos químicos y químico-biológicos tradicionales, con alto potencial para obtener estimaciones confiables y rápidas de la composición química nutricional de forrajes (Givens *et al.*, 1997; Cozzolino *et al.*, 2003; Decruyenaere, 2009; Andueza *et al.*, 2011; Decruyenaere *et al.*, 2015; Tellado *et al.*, 2015; Asekova *et al.*, 2016), así como de otros productos de muy diversa índole; entre ellos, los de industrias de alimentos, bioquímica, ambiental, farmacéutica y médica (Shenk y Westerhaus, 1994; Damberg *et al.* 2006; Magwaza *et al.*, 2016), constituyéndose una técnica no destructiva, rápida, y de gran precisión y exactitud.

La técnica está basada en la medición de la intensidad de absorción de luz en el espectro infrarrojo (700-2500 nm) de una muestra, que mediante la aplicación de técnicas de calibración multivariadas se relaciona con la composición o alguna propiedad de la misma (FAO, 2011). Ha sido estudiada para la predicción de la composición nutricional (proteína cruda y fibra cruda) de pastos y forrajes en España (García-Ciudad *et al.*, 1993), EEUU (Krähmer *et al.*, 2013), Australia (Woolnough y Foley, 2002) y Colombia (Lascano, 2002; Vásquez *et al.* 2004), entre otros.

El rye grass italiano (*Lolium multiflorum* Lam) es una gramínea perenne de rápido crecimiento, que se cultiva desde el nivel de mar hasta los 4200 msnm, lo cual condiciona una elevada demanda como alimento forrajero para el ganado (Ordoñez y Bojórquez, 2004; CARE, 2011; INEI, 2012; Bojórquez *et al.*, 2015). El objetivo de la presente investigación fue evaluar la aplicabilidad de la espectroscopía de reflectancia en infrarrojo cercano (NIRS) para la predicción químico nutricional de rye grass italiano (*Lolium multiflorum* Lam), conocimiento base para formular raciones eficientes basadas en información actualizada.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de Estudio

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Bioquímica, Nutrición y Alimentación Animal (LBNAA) de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Lima, Perú). La zona presenta una temperatura anual promedio de 22 °C y 83% de humedad relativa.

El LBNAA cuenta con un equipo de NIRS, Antaris II FT-NIR Analyzer THERMO™ (longitud de onda de 400 a 2500), que analiza materias primas líquidas y sólidas. El equipo cuenta con una computa-

dora y cápsulas de cuarzo de 8 cm de diámetro para escaneo de muestras secas y molidas. El equipo se encuentra bajo condiciones de 54% de humedad relativa y 18 °C de temperatura ambiental. El manejo de la base de datos de los espectros se realiza mediante el software TQ Analyst™.

Muestras

Se trabajó con 75 muestras representativas de rye grass italiano (*Lolium multiflorum* Lam), variedades Tama y Winter Star, con un rango apropiado de características nutricionales de interés, obtenidas en forma experimental mediante muestreo aleatorio estratificado con 4, 6, 9, 12 y 18 semanas de corte. Las muestras correspondieron a cosechas realizadas entre febrero y julio de 2015, y tomadas a 5 cm del suelo (Pereira *et al.*, 2012), en lotes experimentales de la estación experimental del Centro de Investigación IVITA en El Mantaro (Junín, Perú), a 3320 msnm.

Las muestras se utilizaron para la calibración y validación externa del NIRS. Las muestras fueron colocadas en bolsas de papel kraft y llevadas a estufa convencional a una temperatura de 60 °C por 48 h. Luego se llevaron al LBNAA para ser molidas (molino Thomas Wiley™) y pasadas por malla de 1 mm. Se almacenaron en bolsas de plástico, tipo ziploc, hasta su análisis espectral y químico proximal.

Análisis Proximal

El análisis químico proximal de las muestras se realizó en el LBNAA, según el protocolo de la AOAC (1990) para las variables nutricionales de proteína cruda (AOAC 976.05), extracto etéreo (AOAC 920.39), fibra cruda (AOAC 978.10) y cenizas totales (AOAC). En el caso de la fibra detergente neutro (FDN), se siguió el protocolo de Van Soest *et al.* (1991). Los análisis se realizaron por duplicado y se reportaron como porcentaje en base seca.

Metodología NIRS

Registro de los espectros

Se obtuvieron los espectros de absorción mediante escaneo NIRS (400-2500 nm, intervalo 2 nm) en modo de reflectancia de las 75 muestras. Los datos se guardaron como el logaritmo (1/R) (donde R=reflectancia). Para la calibración, se seleccionaron 50 espectros representativos mediante muestreo aleatorio (Alomar y Fuchslocher, 1998). La validación externa se realizó usando los 25 espectros restantes. El rango espectral de las bandas de absorción NIRS de los constituyentes nutricionales de rye grass italiano se encuentra entre 1100 y 2400 nm (Wehling, 2008).

Desarrollo de la calibración NIRS y análisis de regresión

El tratamiento matemático para la calibración y validación fue mediante cuadrados mínimos parciales (PLS) Derivada 1, según Marten (1983). La ecuación básica de calibración (Vásquez *et al.*, 2004) está dada por $Y = a + b_1 X_1 + b_2 X_2 + \dots + b_n X_n$, donde, Y = componente a ser calibrado, $X_1 X_2 \dots X_n$ = n variables espectrales independientes, $b_1 b_2 \dots b_n$ = n coeficientes de regresión, y a = el intercepto.

Para la verificación se utilizó un análisis de regresión para establecer la exactitud de los valores obtenidos mediante método químico de referencia de proteína cruda (PC), extracto etéreo (EE), cenizas totales (CZ), fibra cruda (FC) y fibra detergente neutro (FDN) con las ecuaciones del NIRS.

Se realizó estadística descriptiva, determinando la media, desviación estándar, valor máximo y mínimo, y el coeficiente de variación de los parámetros químico nutricionales del pasto.

Como parámetro de exactitud para la evaluación del modelo de calibración y estimar su capacidad predictiva, se utilizó el co-

eficiente de correlación (R), el coeficiente de determinación [R^2 , Ec. (1)], RMSEC [Ec. (2)]: error de predicción en calibración para el conjunto de calibración; RMSEP [Ec. (3)]: error de predicción en validación externa para el conjunto de validación; RPD [Ec. (4)]: relación entre la desviación estándar del método químico de referencia y el error de predicción encontrado en el modelo NIRS; y RER [Ec. (5)]: proporción de rango de datos con el error de predicción (Cozzolino, 2002; Magwaza *et al.*, 2016).

$$(1) R^2 = 1 - \frac{\sum (Y_{cal} - Y_{mean})^2}{\sum (Y_{cal} - Y_{act})^2}$$

$$(2) RMSEC = \sqrt{\sum (Y_{cal} - Y_{act})^2 / n}$$

$$(3) RMSEP = \sqrt{\sum (Y_{pred} - Y_{act})^2 / n}$$

$$(4) RPD = SD / RMSEP$$

$$(5) RPD = \text{rango} / RMSEP$$

donde n = número de espectro; Y_{act} = valor actual; Y_{mean} = valor promedio; Y_{cal} = valor calculado; Y_{pred} = valor de predicción del atributo; y SD = desviación estándar de los valores referenciales.

Según Vymazal (2008), el modelo debe tener alto R y R^2 , bajo RMSEC y RMSEP, RPD superior a 3 y RER superior a 10.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis Proximal

Los resultados de los análisis de laboratorio para los colectivos de calibración y validación externa se presentan en los cuadros 1 y 2, respectivamente. En ambos casos, los valores de PC, EE, CZ, FC y FDN presentaron un amplio rango de variabilidad, favorable para el desarrollo de ecuaciones de calibración NIRS. Asimismo, reflejan la variación en el contenido de nutrientes según la edad de crecimiento del pasto.

Cuadro 1. Análisis químico proximal y fibra detergente neutro - FDN (%) de rye grass italiano (*Lolium multiflorum* Lam) y variación de la población para la calibración del NIRS de cada constituyente (n=50 muestras)

Componente	Proteína cruda	Extracto etéreo	Cenizas totales	Fibra cruda	FDN
Rango	8.53 - 24.19	1.00 - 6.70	8.10 - 15.78	14.30 - 21.72	52.0 - 66.5
Promedio	19.02	4.53	12.79	16.50	60.98
Desviación estándar	5.03	1.20	1.94	2.49	3.09
Coefficiente de variación	0.26	0.26	0.15	0.15	0.05
Varianza	25.26	1.43	3.75	6.20	9.55

Cuadro 2. Análisis químico proximal y fibra detergente neutro - FDN (%) de rye grass italiano (*Lolium multiflorum* Lam) y variación de la población para la validación de cada constituyente (n=25 muestras)

Componente	Proteína cruda	Extracto etéreo	Cenizas totales	Fibra cruda	FDN
Rango	8.51- 24.31	1.00- 7.48	8.11- 14.75	13.98- 20.97	52.6- 65.2
Promedio	19.72	4.45	12.41	15.83	60.34
Desviación estándar	4.64	1.42	1.79	1.96	3.42
Coefficiente de variación	0.23	0.32	0.14	0.12	0.05
Varianza	21.57	2.02	3.19	3.86	11.71

La PC presentó un valor de 19.02% en el colectivo de calibración y de 19.72% en el colectivo de validación externa, valores por encima del promedio dado por Laforé *et al.* (1999) de 9.60% y de 14.7% reportado por Flores *et al.* (2013) para rye grass italiano cultivado en el valle del Mantaro, Huancayo-Perú y en la zona costera de Galicia, España,

respectivamente. Por otro lado, similar al 18.8% hallado por Posada *et al.* (2013) en Medellín, Colombia, a 2750 msnm.

El promedio en EE fue de 4.53% en el colectivo de calibración y de 4.45% en el de validación externa. Estos valores fueron superiores al 2.61 reportado por Villalobos y

Sánchez (2010) en rye grass (*Lolium multiflorum* Lam), cultivado en zonas altas de Costa Rica, pero similar al 4.7% hallado por Posada *et al.* (2013) en rye grass italiano.

El valor de las CZ fue de 12.79 y 12.41% en los colectivos calibración y validación, respectivamente, mayor al 9.96% obtenido por Villalobos y Sánchez (2010) en rye grass. Asimismo, el promedio de FC fue de 16.50% en colectivo de calibración y 15.83% en colectivo de validación externa; superiores a lo hallado por Villalobos y Sánchez (2010) en rye grass (15.40%); pero inferiores a lo reportado por Posada *et al.* (2013) en rye grass italiano (23.90%). Los resultados de FDN tuvieron un promedio de 60.98% y 60.34% en los colectivos calibración y validación y fueron superiores al 51% hallado por Laforé *et al.* (1999), al 49.76% de Villalobos y Sánchez (2010) y al 40.8% hallado por Posada *et al.* (2013).

Los resultados encontrados reflejan la amplia variación existente en la composición nutricional del rye grass italiano cultivado bajo las condiciones climáticas y características del suelo del valle del Mantaro a 3300 msnm; factores que tienen gran influencia en la composición nutritiva y calidad de los pastos en esta región (Bojórquez *et al.*, 2015).

Calibración y Validación Externa

La Figura 1 muestra el conjunto de datos espectrales del colectivo de muestras utilizadas en el trabajo. Se observa algunas irregularidades en un determinado número de muestras en la región de sobretonos de longitud de onda 2050 a 2150, pero conservando su característico «paralelismo» con relación al colectivo global, lo que permite garantizar la exactitud de predicción del contenido nutricional en el rango de calibración.

En el Cuadro 3 se muestran los estadísticos determinados por las mejores ecuaciones de calibración y validación externa de las muestras para los constituyentes PC, EE, CZ, FC y FDN. Para R y R² se tuvo

en cuenta el criterio de Shenk *et al.* (1992) y Andrés *et al.* (2005), quienes señalan que valores de 0.50-0.69, 0.70-0.89 y >0.90 indican una calibración ineficaz, regular, y buena, respectivamente, considerando si el modelo discrimina muestras de alto y bajo contenido en el parámetro analizado.

Los resultados de calibración muestran valores altos de R y R² (>0.90) para la mayoría de constituyentes; sin embargo, se halló un valor de R²=0.81 para el constituyente FC, lo que indicaría una calibración regular para este parámetro. Cozzolino (2002), analizando insumos para animales mediante NIRS, reportó valores de R² de 0.98 para PC, 0.93 para FC y 0.92 para CZ; en tanto que Keim *et al.* (2015) obtuvieron valores de R² de 0.99 para PC y 0.95 para FDN en un estudio de determinación de estos constituyentes en pasturas incubadas en rumen.

Los valores de RMSEC para los constituyentes de rye grass italiano fueron bajos, observándose los mejores resultados para los constituyentes EE (0.29) y CZ (0.57). Asekova *et al.* (2016) obtuvieron valores de 0.608 y 0.387 de RMSEC para PC y EE, respectivamente, en granos de soya. Asimismo, Magwaza *et al.* (2016) reportaron valores de 0.26 (R²=0.98) para 104 variedades de camote; Vásquez *et al.* (2004) reportaron valores de 0.26 (R²=0.99) para PC, 0.09 (R²=0.93) para EE; 0.21 (R²=0.99) para CZ y 0.69 (R²=0.95) para FDN, en 70 muestras de 18 variedades de pasto guinea en Colombia. Estos reportes presentan valores R² similares a los obtenidos en el presente estudio para rye grass italiano. Por otro lado, Castro *et al.* (2001) reportaron valores de RMSEC de 0.63 (R²=0.98) para PC y 1.97 (R²=0.94) para FDN al analizar espectros de rye grass inglés, dácilo y praderas mixtas.

Los resultados del modelo de validación externa, indicados en el Cuadro 3, muestran altos coeficientes de correlación (R), 0.97 y 0.93, y regulares coeficientes de determinación (R²), 0.94 y 0.86, para los constituyentes PC y FDN, respectivamente. El valor más

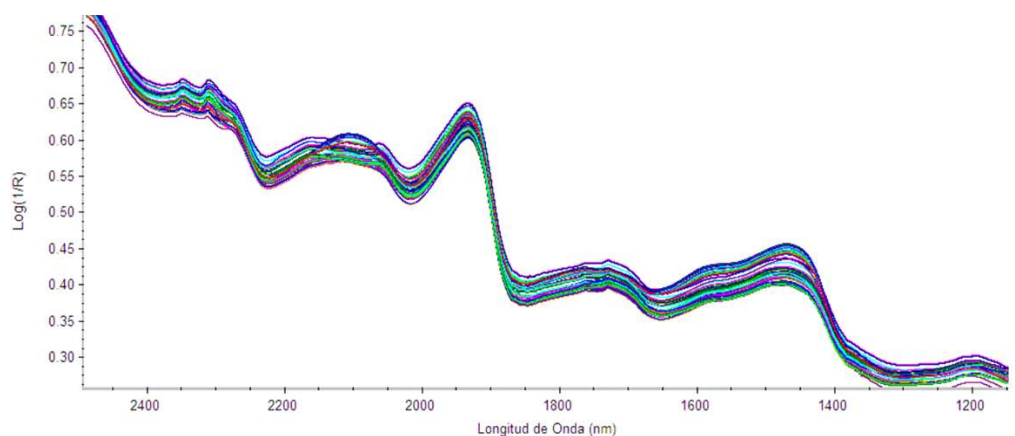


Figura 1. Espectro NIRS en Log 1/R y longitud de onda de las muestras de rye grass italiano (*Lolium multiflorum* Lam) (n=75 muestras). Laboratorio de Bioquímica, Nutrición y Alimentación Animal (LBNAA), Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima

Cuadro 3. Estadísticos de calibración y validación de las ecuaciones obtenidas para la determinación de análisis proximal y fibra detergente neutro (FDN) de Rye grass italiano (*Lolium multiflorum* Lam)

Constituyente	Calibración				Validación			
	n	R	R ²	RMSEC ^a	n	R	R ²	RMSEP ^b
Proteína cruda	50	0.98	0.96	1.02	25	0.97	0.94	1.19
Extracto etéreo	50	0.97	0.94	0.29	25	0.84	0.71	1.05
Cenizas totales	50	0.95	0.90	0.57	25	0.86	0.74	0.92
Fibra cruda	50	0.90	0.81	1.07	25	0.84	0.71	1.13
FDN	50	0.95	0.90	1.01	25	0.93	0.86	1.25

R: Coeficiente de correlación; R²: Coeficiente de determinación

^a Raíz cuadrada media del error de calibración

^b Raíz cuadrada media del error de predicción

bajo de RMSEP se muestra en el constituyente CZ (0.92) y el valor más alto en FDN (1.25).

El estadístico RPD (*Residual Predictive Deviation*), también utilizado para evaluación de ecuaciones NIRS en relación a precisión y exactitud, mide la relación entre la desviación estándar (SD) del análisis químico y el RMSEP del constituyente. Si esta

relación es menor a 3, las ecuaciones obtenidas tienen un bajo poder de predicción (Murray, 1993). En el Cuadro 4 se presentan los resultados de RPD superiores a 3 en los constituyentes PC, EE, CZ y FDN, obteniéndose el mayor valor para EE (4.90), seguido de PC (4.55). El constituyente FC resultó con un RPD inferior a 3, lo que significaría que la calibración obtenida con el tratamiento matemático empleado en este estu-

Cuadro 4. Estadísticos estimadores de la calidad de la calibración para análisis proximal y fibra detergente neutro de rye grass italiano (*Lolium multiflorum* Lam)

Constituyente	Estadístico ¹		
	TM (a,b,c)	RER	RPD
Proteína cruda	1,5,5	15.49	4.55
Extracto etéreo	1,5,5	22.34	4.90
Cenizas totales	1,5,5	11.65	3.14
Fibra cruda	1,5,5	6.53	1.83
Fibra detergente neutro (FDN)	1,5,5	12.47	3.39

¹ TM: Tratamiento matemático (a: Derivada; b: Gap; c: Smooth). RER: *Range Error Ratio* (Proporción de rango de datos con el error). RPD: *Residual Predictive Deviation* (Proporción de la desviación con el error)

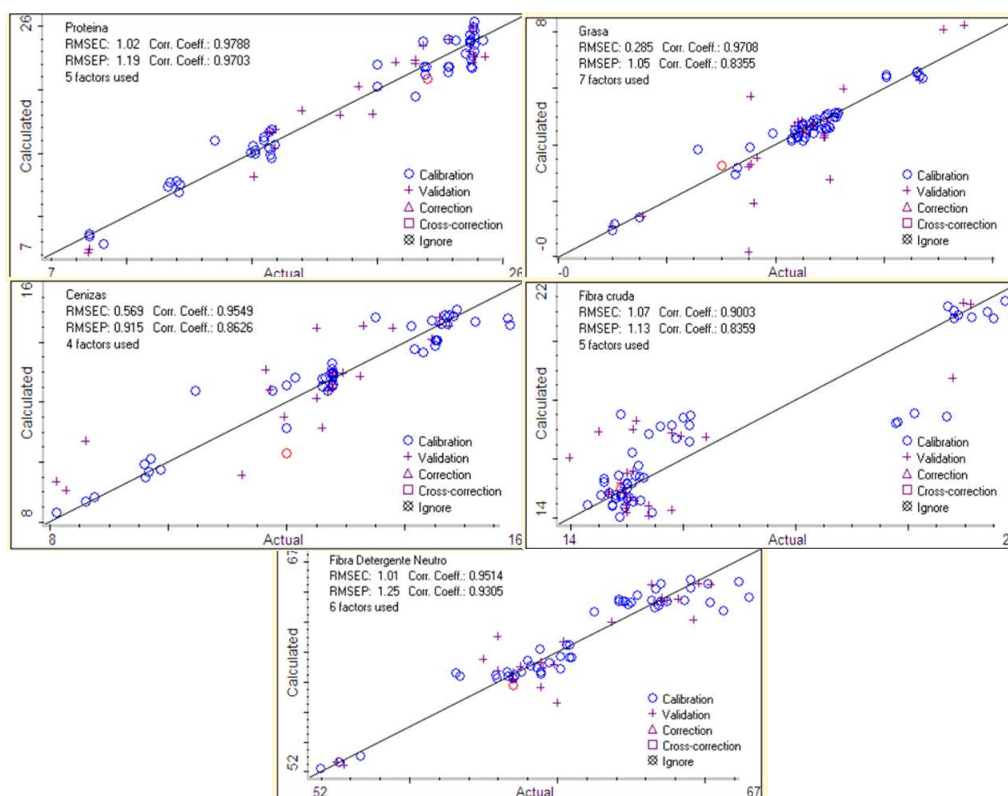


Figura 2. Curvas de calibración y validación obtenidas para los constituyentes proteína cruda, extracto etéreo, cenizas totales, fibra cruda y fibra detergente neutro

dio no estaría prediciendo valores químicos proximales correctos, que sería consecuencia de la variabilidad natural del material biológico experimental.

Williams (2001) señala que resultados del RPD >3 permiten el uso de la calibración obtenida para clasificación y evaluación de muestras en laboratorio. El estadístico RER (*Range Error Ratio*) se emplea para evaluar el rendimiento del modelo de calibración de tal forma que si $RER \geq 4$, la calibración es aceptable para análisis cualitativo de muestras; si $RER \geq 10$, la calibración es aceptable para control de calidad; y si $RER \geq 15$, la calibración es óptima para cuantificación (AACC, 2016). De la correlación entre la señal espectral del barrido y el método químico (calibración) se obtuvo el modelo matemático estadístico. La totalidad de ecuaciones fueron desarrolladas con la primera derivada, una distancia entre los puntos de longitudes de onda (Gap) igual a 5 y una eliminación de ruido (Smoth) Savitzky-Golay de 5 en el orden polinomial 3.

En la Figura 2 se observa una alta correlación y tendencia lineal entre los valores calculados mediante NIRS (calculated) y químico proximal del LBNA (actual) en los colectivos de calibración y validación para los constituyentes PC, EE, CZ, FC y FDN.

La exactitud de las predicciones NIRS dependerá de la precisión con que se realicen los análisis químicos y los tratamientos matemáticos. Los altos valores obtenidos de RPD (>3) y RER (>10) indican una capacidad de predicción alta para el contenido de PC, EE, CZ y FDN en muestras de rye grass italiano (*Lolium multiflorum* Lam) mediante la técnica NIRS.

CONCLUSIONES

- Las ecuaciones de calibración y validación NIRS obtenidas permiten una óptima predicción cuantitativa de proteína

cruda, extracto etéreo, cenizas totales, fibra cruda y fibra detergente neutro en rye grass italiano (*Lolium multiflorum* Lam).

- Para el constituyente fibra cruda, la calibración NIRS obtenida muestra una baja predicción cuantitativa.
- El análisis proximal de rye grass italiano (*Lolium multiflorum* Lam) presentó valores promedio de 19.02% de proteína cruda, 4.53% para extracto etéreo, 12.79% para cenizas, 16.50% para fibra cruda y 60.98% para fibra detergente neutro.

LITERATURA CITADA

1. **Alomar D, Fuchslocher R. 1998.** Fundamentos de la espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) como método de análisis de forraje. *Agro Sur* 26(1): 88-104.
2. **Andrés L, Murray I, Calleja A, Giráldez FJ. 2005.** Review: nutritive evaluation of forages by near infrared reflectance spectroscopy. *J Near Infrared Spec* 13: 301-311. doi: 10.1255/jnirs.561
3. **Asekova S, Han S, Choi H, Park S, Shin D, Kwon C, Shannon J, Lee J. 2016.** Determination of forage quality by near-infrared reflectance spectroscopy in soybean. *Turk J Agric For* 40: 45-52. doi: 10.3906/tar-1407-33
4. **Andueza D, Picard F, Jestin M, Andrieu J, Baumont R. 2011.** NIRS prediction of the feed value of temperate forages: efficacy of four calibration strategies. *Animal* 5: 1002-1013. doi: 10.1017/S1751731110002697
5. **[AOAC] Association of Official Analytical Chemists. 1990.** Official methods of analysis. 15th ed. Vol 1. Arlington, USA: AOAC. 746 p.
6. **Bojórquez CL, Rojas JD, Ordóñez JH. 2015.** Pastos cultivados en el valle del Mantaro. Lima: Fondo Editorial UNMSM. 147 p.

7. **CARE Ancash-Perú. 2011.** Cultivando pastos asociados: sistematización de la experiencia. Proyecto de Cadenas Productivas Alli Allpa. Lima: Fondo Mिनero Antamina. 35 p.
8. **Castro P, Fernández B, Valladares J. 2001.** Análisis de pastos mediante NIRS. En: XLV Reunión Científica de la SEEP). España: SEEP.
9. **Cozzolino D, Fassio A, Gimenez A. 2003.** The use of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to predict the composition of whole maize plants. *J Sci Food Agric* 81: 142-146.
10. **Cozzolino D. 2002.** Uso de espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) para análisis de alimentos para animales. *Agrociencia* 6: 25-32.
11. **Damberg R, Cozzolino D, Cynkar W, Janik L, Gishen M. 2006.** The determination of red grape quality parameters using the Local algorithm. *J Near Infrared Spectrosc* 14: 71-79.
12. **Decruyenaere V, Planchon V, Dardenne P, Stilmant D. 2015.** Prediction error and repeatability of near infrared reflectance spectroscopy applied to faeces samples in order to predict voluntary intake and digestibility of forages by ruminants. *Anim Feed Sci Tech* 205: 49-59.
13. **Decruyenaere V, Lecomte P, Demarquilly C, Aufrere J, Dardenne P, Stilmant D, Buldgen A. 2009.** Evaluation of green forage intake and digestibility in ruminants using near infrared reflectance spectroscopy (NIRS): developing a global calibration. *Anim Feed Sci Tech* 148: 138-156. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2008.03.007
14. **[FAO] Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2011.** Quality assurance for animal feed analysis laboratories. *FAO Animal Production and Health Manual* 4. Rome: FAO. 178 p.
15. **Flores G, Díaz N, Díaz M, Valladares J, Pereira S, Fernández BL, Resch C, et al. 2013.** Evaluación de métodos de laboratorio para la predicción de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de ensilajes de hierba y planta entera de maíz. *Pastos* 43(1): 5-99.
16. **García-Ciudad A, García-Criado B, Pérez-Corona M, Vázquez de Aldana B, Ruano-Ramos A. 1993.** Application of near-infrared reflectance spectroscopy to chemical analysis of heterogeneous and botanically complex grassland samples. *J Sci Food Agric* 63: 419-426. doi: 10.1002/jsfa.2740630407
17. **Givens DI, De Boever J, Deavie E. 1997.** The principles, practices and some future applications of near infrared spectroscopy for predicting the nutritive value of foods for animals and humans. *Nutr Res Rev* 10: 83-114. doi: 10.1079/NRR19970006
18. **[INEI] Instituto Nacional de Estadística e Informática. 2012.** IV Censo Nacional Agropecuario: Resultados Definitivos. Lima, Perú: INEI-Ministerio de Agricultura y Riego. 62 p.
19. **Keim A, Charles B, Alomar A. 2015.** Prediction of crude protein and neutral detergent fibre concentration in residues of *in situ* ruminal degradation of pasture samples by near-infrared spectroscopy (NIRS). *Anim Prod Sci* 56: 1504-1511. doi: 10.1071/AN14822
20. **Krähmer A, Gudi G, Weiher N, Gierus M, Schütze W, Schulz H. 2013.** Characterization and quantification of secondary metabolite profiles in leaves of red and white clover species by NIR and ATR-IR spectroscopy. *Vib Spectrosc* 68: 96-103. doi: 10.1016/j.vibspec.-2013.05.012
21. **Laforé M, San Martín F, Custodio R, Arbaiza T, Carcelén F. 1999.** Diagnóstico alimenticio y composición químico nutricional de los principales insumos de uso pecuario del valle del Mantaro. *Rev Inv Vet Peru* 10: 74-78. doi: 10.15381/rivep.v10i2.6760
22. **Lascano CE. 2002.** Caracterización de pasturas para maximizar la producción animal. *Arch Latinoam Prod Anim* 10: 126-132.

23. **Magwaza L, Messo Naidoo S, Laurie S, Laing M, Shimelis H. 2016.** Development of NIRS models for rapid quantification of protein content in sweetpotato [*Ipomoea batatas* (L.) LAM.]. *Food Scie Tech* 72: 63-70. doi: 10.1016/j.lwt.2016.04.032
24. **Marten G, Halgerson J, Cherney J. 1983.** Quality prediction of small grain forages by near infrared reflectance spectroscopy. *Crop Sci* 23: 94-101. doi: 10.2135/cropsci1983.-0011183X-002300010027x
25. **Murray I. 1993.** Forage analysis by near infrared reflectance spectroscopy. In: Davies A, Baker R, Grant S, Laidlaw A (eds). *Sward measurement handbook*, 2nd ed. UK: British Grassland Soc. p 285-312.
26. **Ordoñez J, Bojórquez C. 2004.** Establecimiento del *Lolium multiflorum* con cinco densidades sobre pasturas degradadas como una alternativa a la siembra de cultivos agrícolas. *Rev Inv Vet Perú* 15: 87-91. doi: 10.15381/rivep.v15i2.1569
27. **Posada S, Cerón J, Arenas J, Hamedt J, Alvarez A. 2013.** Evaluación del establecimiento de ryegrass (*Lolium* sp) en potreros de kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) usando la metodología de cero labranza. *Ces Med Vet Zootec* 8(1): 23-32.
28. **Pereira S, Valladares J, Flores G, Díaz N, Fernández B, Resch C, Gonzales A, et al. 2012.** Rendimiento y valor nutritivo de nuevas leguminosas anuales como cultivo de invierno en rotaciones forrajeras intensivas en Galicia. *Pastos* 42(1): 29-50.
29. **Shenk J, Westerhaus M. 1994.** The application of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to forage analysis. In: Fahey GC, Collins M, Mertens DR, Moser LE (eds). *Forage quality, evaluation and utilization*. Madison, Wisconsin, USA: American Society of Agronomy. p 406-446.
30. **Shenk J, Workman J, Westerhaus M. 1992.** Application of NIR spectroscopy to agricultural products. In: Burns DA, Ciurczak EW (eds). *Handbook of near-infrared analysis*. New York, USA: CRC Press. p 383-431.
31. **Tellado S, Orpez R, Muñoz-Cobo J, Azorit C. 2015.** Fecal-FT-NIRS as a noninvasive tool for assessing diet quality of Mediterranean deer. *Rangeland Ecol Manage* 68: 92-99. doi: 10.1016/j.rama.2014.12.003
32. **Vásquez D, Abadía B, Arreaza L. 2004.** Aplicación de la espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) para la caracterización nutricional del pasto guinea y del grano de maíz. *Rev Corpoica* 5: 49-55.
33. **Van Soest PJ, Roberts JB, Lewis BA. 1991.** Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J Dairy Sci* 74: 3583-3597. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2
34. **Villalobos L, Sánchez J. 2010.** Evaluación agronómica y nutricional del pasto ryegrass perenne tetraploide (*Lolium perenne*) producido en lecherías de las zonas altas de Costa Rica. I. Producción de biomasa y fenología. *Agronomía Costarricense* 34(1): 31-42.
35. **Vymazal J. 2008.** Wastewater treatment, plant dynamics and management in constructed and natural wetlands. Czech Republic: Springer. 348 p.
36. **Wehling R. 2008.** La espectroscopia infrarroja. En: Nielsen S (ed). *Análisis de los alimentos*. España: Acribia. p 453-467.
37. **Williams P. 2001.** Implementation of near-infrared technology. In: Williams PC, Norris KH (eds). St. Paul, MN, USA: American Association of Cereal Chemist. p 145-169.
38. **Woolnough AP, Foley WJ. 2002.** Rapid evaluation of pasture quality for a critically endangered mammal, the northern hairy-nosed wombat (*Lasiornis krefftii*). *Wildlife Res* 29: 91-100. doi: 10.1071/WR00050