



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

PREDICCIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA EN HECES Y CONTENIDO ILEAL DE CERDOS MEDIANTE  
ESPECTROSCOPIA DE REFLECTANCIA EN EL INFRARROJO CERCANO (NIRS).

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

PRESENTA:

RICARDO RAMOS CRUZ

TUTOR PRINCIPAL

GERARDO MARISCAL LANDÍN

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN-UNAM

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR

TÉRCIA CESÁRIA REIS SOUZA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

SERGIO GÓMEZ ROSALES

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN-UNAM

CIUDAD DE MÉXICO, DICIEMBRE 2020



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## DEDICATORIAS

A mi esposa Michelle Aranxa Vidal Aguilar por su enorme apoyo, tiempo, amor y paciencia, ya que fue quien me animaba en los momentos más difíciles de este gran trayecto, su ayuda siempre será incondicional, mi amiga y ayuda idónea. A mis dos hijos Ricardo Ramos Vidal y a Isaac Ramos Vidal.

A mis padres Juan Carlos Ramos Godínez y Patricia Cruz Jaimes por inculcarme desde niño el deseo de progresar y estudiar, por sus ánimos, así como depositar gran confianza en terminar.

A mis suegros Gregorio Vidal Lima y Lucía Aguilar de la Torre

A mis hermanos Juan Carlos, Omar, Patricia e Isabel

## AGRADECIMIENTOS

A mis profesores de las diferentes clases que me impartieron, en especial al Dr. Gerardo Mariscal Landín.

A la máxima casa de estudios la Universidad Nacional Autónoma de México por este posgrado.

A la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán

Al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología

Al Dr. Ricardo Basurto por su asesoramiento para entender y utilizar el equipo NIRS, por la revisión de los resultados y ayuda durante el proceso.

A Erick Parra por su ayuda en el escaneo de los espectros

## RESUMEN

La espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS por sus siglas en inglés) ha sido utilizada ampliamente en diferentes áreas: farmacéutica, agricultura, y nutrición animal por que puede disminuir los costos de los experimentos, reduciendo el tiempo de obtención de resultados y predecir la composición de la muestra analizada. En México no existe información y constatación de los beneficios del NIRS en muestras obtenidas de contenido ileal y de heces de cerdos para determinar la composición química de estos, por lo que el objetivo de este trabajo es realizar la calibraciones y predicciones de la composición química ya que pueden ser utilizados para experimentos posteriores de digestibilidad . Para lo cual se utilizaron 222 muestras de heces y 119 muestras de contenido ileal obtenidas de experimentos previos de digestibilidad realizados en cerdos. Se realizaron tres calibraciones, la cual nos ayuda a correlacionar el espectro de una muestra con los componentes de interés, estas fueron una para muestras de heces y dos para muestras de contenido ileal. Los constituyentes por predecir en las muestras de heces fueron materia seca (MS), proteína cruda (PC) y energía (E), para las muestras de contenido ileal fueron Proteína cruda, Treonina (Thr), Lisina (Lys) y leucina (Leu). El tratamiento matemático empleado fue el modelo estadístico de cuadrados mínimos parciales, la primera o segunda derivada y los filtros de Savitzky-Golay. Los estadísticos obtenidos para la MS (%) de muestras de heces fueron la media 93.43, la desviación estándar (DE) 2.48, el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) 0.87, el error estándar de la calibración (SEC) 0.83, error estándar de la predicción (SEP) 1.15, el error estándar de la calibración cruzada (SECV) 1.39, la proporción DE/SEP 2.16 y la proporción de la desviación de predicción (RPD) 1.78, para PC (%) media 20.05, DE 6.65,  $R^2$  0.98, SEC 0.95, SEP 1.19, SECV 1.60, SE/SEP 5.59 y RPD 4.16, y para E (kcal/kg) fue media 4444.36, DE 268.65,  $R^2$  0.94, SEC 60.80, SEP 95.30, SECV 106.31, DE/SEP 2.82 y RPD 2.53. El resultado para la primera calibración de contenido ileal fue PC (%) media 15.57, DE 2.15,  $R^2$  0.98, SEC 0.33, SEP 0.64, SECV 1.02, DE/SEP 3.34 y RPD 2.11, para el aminoácido

Thr (%PC) media 0.71, DE 0.36,  $R^2$  0.67, SEC 0.209, SEP 0.187, SECV 0.230, DE/SEP 1.94 y RPD 1.57, para Leu (%PC) media 0.85, DE 0.21,  $R^2$  0.95 SEC 0.040, SEP 0.102 SECV 0.102, DE/SEP 2.07 y RPD 2.07 y para Lys (% PC) media 0.58, DE 0.28,  $R^2$  0.93, SEC 0.077, SEP 0.143, SECV 0.217, DE/SEP 2 y RPD 1.31, la segunda calibración de contenido ileal se realizó solo para el aminoácido lisina donde los estadísticos creados por el NIRS fueron Lys (%) media 0.58, DE 0.28,  $R^2$  0.92, SEC 0.070, SEP 0.115, SECV 0.137, DE/SEP 2.48 y RPD 2.08. Los resultados con muestras de heces indican que las  $R^2$  fueron altas para PC (0.98) y E (0.94), en el caso MS fue el más bajo (0.87), la mejor robustez (DE/SEP) fue para PC seguida de E y MS y finalmente la predicción fue excelente para PC y buena para E lo que indica que pueden ser aplicables. En el caso de MS fue bajo. Los resultados para contenido ileal arrojaron altas  $R^2$  a PC, (0.97) Leu (0.95) y Lis (0.93) excepción de Thr que fue el más bajo (0.67), la robustez de la calibración (DE/SEP) fue buena para PC, Leu y Lys y el caso de Thr fue menor (1.97), la predicción (RPD) para PC y Leu fue buena pero no suficiente para predecir Lys y Thr, interesantemente al realizar la calibración solo para Lys mejoró la robustez (2.00 a 2.48), la predicción (1.31 a 2.08) y bajó una unidad porcentual el  $R^2$  (0.93 a 0.92). El uso del NIRS mejoró la rapidez de la obtención de los resultados fuertemente 3min contra 7.40min y el costo por muestra disminuyó un 83 %.

**PALABRAS CLAVE:** Espectroscopia, contenido ileal, heces, cerdos.

## ABSTRACT

Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) has been widely used in different areas: pharmaceutical, agriculture, and animal nutrition because it can reduce the costs of experiments, reducing the time to obtain results and predict the composition of the analyzed sample. In Mexico there is no information and verification of the benefits of NIRS in samples obtained from ileal content and from swine feces to determine their chemical composition, so the objective of this work is to carry out the calibrations and predictions of the chemical composition already that can be used for subsequent digestibility experiments. For which it will be used in 222 stool samples and 119 ileal content samples obtained from previous digestibility experiments carried out in swine. Three calibrations were carried out, which helps us to correlate the spectrum of a sample with the components of interest, these were one for stool samples and two for ileal content samples. The constituents to be predicted in the stool samples were dry matter (DM), crude protein (PC) and energy (E), for the ileal content samples were crude protein, Threonine (Thr), Lysine (Lys) and leucine (Leu). The mathematical treatment used was the statistical model of partial least squares, the first or second derivative and the Savitzky-Golay filters. The statistics obtained for the DM (%) of stool samples were the mean 93.43, the standard deviation (SD) 2.48, the coefficient of determination ( $R^2$ ) 0.87, the standard error of the calibration (SEC) 0.83, the standard error of the prediction (SEP) 1.15, the standard error of the cross-calibration (SECV) 1.39, the ratio SD/SEP 2.16 and the proportion of the prediction deviation (RPD) 1.78, for PC (%) mean 20.05, SD 6.65,  $R^2$  0.98, SEC 0.95, SEP 1.19, SECV 1.60, SD/SEP 5.59 and RPD 4.16, and for E (kcal/kg) combustible medium 4444.36, SD 268.65,  $R^2$  0.94, SEC 60.80, SEP 95.30, SECV 106.31, SD/SEP 2.82 and RPD 2.53. The result for the first ileal content calibration was PC (%) mean 15.57, SD 2.15,  $R^2$  0.98, SEC 0.33, SEP 0.64, SECV 1.02, SD/SEP 3.34 and RPD 2.11, for amino acid Thr (%), PC mean 0.71, SD 0.36,  $R^2$  0.67, SEC 0.209, SEP 0.187, SECV 0.230, SD/SEP 1.94 and RPD 1.57, for Leu (% PC)

mean 0.85, SD 0.21,  $R^2$  0.95 SEC 0.040, SEP 0.102 SECV 0.102, SD/SEP 2.07 and RPD 2.07 and for Lys (% PC) mean 0.58, SD 0.28,  $R^2$  0.93, SEC 0.077, SEP 0.143, SECV 0.217, SD/SEP 2 and RPD 1.31, the second ileal content calibration was performed only for the amino acid lysine where the statistics created by the NIRS were Lys (%) mean 0.58, SD 0.28,  $R^2$  0.92, SEC 0.070, SEP 0.115, SECV 0.137, SD/SEP 2.48 and RPD 2.08. The results with stool samples indicate that the  $R^2$  were high for PC (0.98) and E (0.94), in the case MS was the lowest (0.87), the best robustness (SD/SEP) was for PC followed by E and MS and finally the prediction was excellent for PC and good for E which indicates that they may be applicable. In the case of MS it was low. The results for ileal content showed high  $R^2$  to PC, (0.97) Leu (0.95) and Lis (0.93) except for Thr which was the lowest (0.67), the robustness of the calibration (SD/SEP) was good for PC, Leu and Lys and the case of Thr was lower (1.97), the prediction (RPD) for PC and Leu was good but not enough to predict Lys and Thr, interestingly when performing the calibration only for Lys the robustness improved (2.00 to 2.48), the prediction (1.31 to 2.08) and  $R^2$  dropped one percentage unit (0.93 to 0.92). The use of the NIRS improved the speed of obtaining the carbonated results 3 min against 7.40 and the cost per sample decreased by 83%.

**KEY WORDS:** Spectroscopy, ileal content, feces, swine.



## ÍNDICE GENERAL

Resumen	1
Abstract	3
Índice general	5
Índice de cuadros	6
Índice de figuras	7
1. Introducción	8
2. Revisión de la literatura	14
2.1 Fundamento del NIRS	14
2.2 Calibración y Validación	17
2.3 Factores que afectan la obtención de un espectro	19
2.4 Estadísticos	20
2.5 Uso del NIRS en la alimentación	22
2.2.1 Maíz	22
2.2.2 Trigo	23
2.2.3 Soya	24
2.6 Uso del NIRS en las heces	25
2.6.1 Materia Seca	25
2.6.2 Proteína	26
2.6.3 Energía	28
2.7 Uso del NIRS en contenido ileal	29
3. Hipótesis	31
4. Objetivos	31
5. Material y métodos	32
5.1 Animales, jaulas y obtención de muestras	32
5.2 Análisis de Laboratorio.	35
5.3 Procedimiento obtención de muestras en equipo NIRS	36
5.4 Escaneo muestras de heces	37
5.5 Escaneo muestras de contenido ileal.	38
5.6 Estadísticos	39
6. Resultados	40
6.1 Espectros	40
6.2 Heces	40
6.3 Contenido ileal.	48
6.4 Comparación NIRS y Laboratorio	53
7. Discusión	55
7.1 Espectros	55
7.2 Heces	55
7.3 Contenido ileal	62
8. Conclusiones	66
9. Anexo	68
10. Referencias	72

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Factores que afectan al obtener un espectro y la solución para resolver dichos factores

Cuadro 2. Estadísticos para evaluar los modelos de calibración del NIRS

Cuadro 3. Resumen de la utilidad del NIRS para predecir materia seca, proteína y energía en heces.

Cuadro 4 Información acerca de los ocho experimentos donde se obtuvieron las muestras de contenido fecal.

Cuadro 5. Información acerca de los cuatro experimentos donde se obtuvieron muestras de contenido ileal

Cuadro 6. Estadística descriptiva con todas las muestras de heces

Cuadro 7. Estadística descriptiva de todas las muestras de contenido ileal

Cuadro 8. Estadística descriptiva al eliminar las muestras atípicas de heces o con una distancia mayor a  $t > 2.5$

Cuadro 9. Estadística descriptiva al eliminar las muestras atípicas de contenido ileal o con una distancia mayor a  $t > 2.5$

Cuadro 10. Estadística descriptiva de los resultados de laboratorio y estadísticos del NIRS de muestras de heces

Cuadro 11. Estadística descriptiva de los resultados de laboratorio y estadísticos del NIRS de muestras de contenido ileal (primera calibración)

Cuadro 12. Estadística descriptiva de los resultados de laboratorio y estadísticos del NIRS de muestras de contenido ileal (segunda calibración).

Cuadro 13. Comparación de costos al usar el NIRS y el laboratorio para tres constituyentes.

Cuadro 14. Comparación de los tiempos para obtener resultados de tres constituyentes.

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. El espectro electromagnético.

Figura 2. Diferentes regiones del espectro electromagnético y la región del NIR con su banda de absorbancia por compuesto orgánico.

Figura 3. Diferentes modos de interacción de la materia con la radiación NIR.

Figura 4. Espectro de muestras de heces de cinco diferentes ingredientes.

Figura 5. Espectro de muestras de contenido ileal de cinco diferentes ingredientes

Figura 6. Espectro de muestras de contenido ileal y de heces de una misma dieta experimental con ingrediente Sorgo.

Figura 7. Espectro de muestras de contenido ileal y de heces de una misma dieta experimental con ingrediente Maíz.

Figura 8. Espectro de muestras de contenido ileal y de heces de una misma dieta experimental con ingrediente Soya.

Figura 9. Espectro de muestras de contenido ileal y de heces de una misma dieta experimental con ingrediente Canola.

Figura 10. Coeficiente de correlación para materia seca de valores analizados por el laboratorio y los predichos por el NIRS en muestras de heces.

Figura 11. Coeficiente de correlación para proteína cruda de valores analizados por el laboratorio y los predichos por el NIRS en muestras de heces.

Figura 12. Coeficiente de correlación para energía de valores analizados por el laboratorio y los predichos por el NIRS en muestras de heces.

Figura 13. Coeficiente de correlación para proteína cruda de valores analizados por el laboratorio y los predichos por el NIRS en muestras de contenido ileal.

Figura 14. Coeficiente de correlación para treonina de valores analizados por el laboratorio y los predichos por el NIRS en muestras de contenido ileal.

Figura 15. Coeficiente de correlación para leucina de valores analizados por el laboratorio y los predichos por el NIRS en muestras de contenido ileal.

Figura 16. Coeficiente de correlación para lisina de valores analizados por el laboratorio y los predichos por el NIRS en muestras de contenido ileal.

Figura 17. Coeficiente de correlación para lisina de valores analizados por el laboratorio y los predichos por el NIRS en muestras de contenido ileal.

## 1. INTRODUCCIÓN.

Las materias primas usadas para la formulación de dietas para cerdos son principalmente cereales y leguminosas ya que aportan Energía (E) y Proteína (P), los cereales son ricos en energía pero su contribución en aminoácidos (AA) es baja debido a dos razones: la primera es que solo contribuyen entre el 30 y el 60% del requerimiento total de aminoácidos y la segunda es que son deficitarios en lisina, un aminoácido esencial y el primer AA limitante (Boisen *et al.*, 2000), por otro lado la pasta de soya es rica en aminoácidos, particularmente en lisina, por lo que la inclusión de estas materias primas hace que las dietas sean completas y que cubran los requerimientos tanto de E, P y AA. Sin embargo, es importante entender que la cantidad y disponibilidad de la E, P y AA difieren entre los ingredientes por la composición química de estos (Choct, 1997) y por la variación existente dentro de los mismos ingredientes (NRC, 2012; Stein *et al.*, 2016), esta variación se origina por dos razones, la primera es de origen intrínseco y se atribuye a la genética (Capper, 1988), el área geográfica de cultivo (García-Rebollar *et al.*, 2016), el tiempo de la cosecha y su almacenamiento (Angelovič M *et al.*, 2018); la segunda es de origen extrínseco puede ser atribuida a los diferentes procedimientos analíticos entre diferentes laboratorios (FAO 2004), por ejemplo debido a la variación del maíz amarillo como fuente de energía se puede encontrar un amplio rango en el valor de nutriente como se muestran a continuación: Materia Seca (MS) 81.3 – 95.54%, Proteína Cruda (PC) 5.45 – 11.03%, Fibra Cruda (FC) 0.15 – 3.81%, Extracto Etéreo (EE) 1.14 – 5.82%, Almidón 48.72 - 76.38%, Lisina 0.13 - 0.37%, Energía Bruta (EB) 3675 – 4191 kcal y Energía Digestible (ED) 3118 – 3784 kcal, en el caso de la ED puede existir una diferencia de 666 kcal (20%) teniendo un impacto en el comportamiento productivo de los cerdos (NRC, 2012); esta variación existente hace que la precisión en la formulación sea un reto y es necesaria entenderla o de lo contrario podemos dar un aporte mayor o menor del requerimiento, impactando negativamente la economía y el ambiente (excreción de nutrientes) así como el comportamiento productivo, por un incremento del consumo. Por otro lado,

la digestibilidad de la E y AA de la materia prima es afectada por la composición química de los ingredientes (Choct, 1997) y la maduración del tracto gastro intestinal (Pluske *et al.*, 1997 y Reis de Souza *et al.*, 2012), estos factores y la calidad de la materia prima también ocasionan variación; esto se puede ver en el caso de la pasta de soya donde se registran valores mínimo y máximo de 2.89 – 3.53% del aporte total de Lisina, con un porcentaje de digestibilidad del 78.60 – 99.30%, que resultan en un contenido de aminoácido digestible que varía del 1.88 al 3.51% lo que provoca un impacto en el consumo y económico mencionados anteriormente (NRC, 2012).

Para controlar esta variación y reducir problemas, el analizar la composición química de los alimentos ha sido empleado en la investigación por más de 150 años gracias a Henneberg y Stohmann en el año 1859 en Weende, Alemania crearon y desarrollaron el análisis químico proximal. A través de los años se han estandarizado los métodos analíticos (ej. PC) para los laboratorios, un ejemplo es la International Association of Official Analytical Chemists International (Asociación de Químicos Analíticos Oficiales AOAC), el resultado es que se puede determinar la composición química de la materia prima y su aporte energético en cualquier laboratorio siempre y cuando el personal sea capacitado, conozca los procedimientos y el laboratorio tenga un constante control de calidad. El analizar muestras ha ayudado a crear más información para el área de la ciencia animal y también en el área de nutrición a la hora de formular con precisión.

El análisis químico proximal se convirtió en una herramienta poderosa que introdujo mayor conocimiento y revolucionó la nutrición animal, por ejemplo, analizar la composición química de ingredientes (Molina, *et al.*, 2009) o dietas (Noblet y Pérez, 1993) permitió crear ecuaciones para predecir la energía digestible (ED), metabolizable (EM) o neta (EN) (Noblet *et al.*, 1994). Los métodos en el laboratorio también han sido utilizados para determinar la digestibilidad de la energía en (Noblet y Pérez 1993), de la proteína (Adeola, 2001, Mariscal *et al.*, 2014a), y biodisponibilidad de minerales como fósforo (Almeida y Stein 2010) calcio (González y Stein 2014, González *et al.*, 2015)

o minerales traza (Arredondo *et al.*, 2019). La implementación de técnicas ha ayudado a obtener mejores muestras así como de zonas específicas con animales vivos, por ejemplo las cánulas a nivel ileal han permitido obtener muestras de contenido ileal (Reis de Souza *et al.*, 2000), estas muestras pueden ser analizadas en el laboratorio para medir la digestibilidad de nutrientes antes de ser fermentadas en el intestino grueso, por lo que se puede conocer la digestibilidad de los aminoácidos (Adeola, 2001; Stein *et al.*, 2007) incluso entender que una parte de la fibra afecta la pérdida endógena ileal de aminoácidos (Mariscal *et al.*, 2017b), otras técnicas se han realizado *in vitro* (Boisen y Fernández, 1995; Sol *et al.*, 2017) o incluso por técnicas de sacrificio de animales (Donkoh *et al.*, 1994), todas estas técnicas generan muestras que pueden ser llevadas al laboratorio y analizarlas por diferentes métodos. Otras técnicas alternativas para toma de muestra y análisis en el laboratorio han sido propuesta y utilizadas (Świąch, 2017).

Todo el conocimiento y avance que se ha logrado en la nutrición porcina descrito en los párrafos anteriores es gracias a que no solo se determina la concentración del nutriente en el alimento sino también en las muestras de contenido ileal y fecal ya que contiene información del nutriente no digerido y que puede ser determinado y analizado para obtener resultados numéricos. Estas herramientas son aceptadas e implementadas en muchos centros de investigación, sin embargo, a medida que el experimento requiere de muestras con implementación de técnicas más precisas (cánulas), el costo del experimento se incrementa. Existen tomas de muestras invasivas al animal; además se requieren de instalaciones, equipos especializados y personal capacitado en los métodos oficiales estandarizados. Los métodos pueden ser intensivos, laboriosos y el obtener los resultados consume tiempo. Por tal razón es necesario contar con nuevas herramientas que sean precisas, fáciles de implementar, reproducibles, rápidas y que puedan disminuir los costos.

Una herramienta analítica que ha sido aplicada en la nutrición animal para reducir costos, por ser rápida, no invasiva y de precisión (Reeves, 2000; Ramaswamy *et al.*, 2016) ha sido el uso del

espectrofotómetro de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS por sus siglas en inglés). El infrarrojo cercano (IRC) se localiza en el espectro magnético en medio de la luz visible y del infrarrojo mediano, la longitud de onda abarca de los 780 a los 2500 nm y el número de ondas es de 4000 a 12800. El principio de su funcionamiento consiste en dirigir un haz de luz, el cual incide sobre la materia y la hace vibrar, la energía del haz de luz es absorbida ocasionando que los compuestos unidos a los átomos de hidrógeno vibren y la energía sea reflejada al NIRS resultando en un espectro, estos espectros son analizados a través de métodos matemáticos con la finalidad de predecir aquello que se esté evaluando. La aplicación del NIRS en la nutrición animal ha tenido resultados alentadores y aplicables (Givens y Deaville, 1999), esto se debe por su rapidez y precisión para predecir de los ingredientes, la composición química, (Ramírez *et al.*, 2005; Owens *et al.*, 2009), contenido de aminoácidos esenciales (Fontaine *et al.*, 2001; 2002), concentración de proteína (Rosales *et al.* 2011), cantidad de aceite y almidón (Osborne *et al.*, 1993) porcentaje de xilanos y betaglucanos (Templeton *et al.*, 2009), incluso digestibilidad (Pujol *et al.*, 2007). Esta tecnología no se limita solo a ingredientes, sino también se ha implementado en heces (Chen *et al.*, 2013). Las heces son el residuo excretado del alimento después de pasar por todo el Tracto gastrointestinal (TGI), indicando la digestibilidad del alimento, lo que ha llevado a determinar la digestibilidad de los nutrientes a través de las heces por su facilidad de colecta y por no ser invasiva (Dixon y Coates, 2009).

De manera específica, en la alimentación del cerdo, el uso del NIRS ha sido poco utilizado para predecir la composición química en muestras de heces. Solo dos fuentes de energía (cereales) han sido analizados con el NIRS para predecir su valor nutritivo y aporte de ED, es el caso de la cebada (McCann *et al.*, 2006; Zijlstra *et al.*, 2011) y del maíz ED, EM (Li *et al.*, 2016; Ferreira *et al.*, 2018) estos dos últimos trabajos en cerdos en crecimiento. Una ventaja del NIRS es la generación del coeficiente de determinación ( $R^2$ ) que indica la relación lineal de los análisis obtenidos por el

laboratorio y los predichos por el NIRS, a través de la integración de ecuaciones, (Li *et al.*, 2016). Para generar ecuaciones más precisas ( $R^2$  cercano a 1) es necesario que el tamaño de las muestras para realizar la calibración represente la mayor variación de los ingredientes a evaluar o de lo contrario la predicción no será robusta (McCann *et al.*, 2006).

Las propiedades físicas de las muestras para analizar utilizando el NIRS pueden ser fresca o seca demostrando la versatilidad de este equipo, pueden ser ingredientes, dietas, heces o contenido ileal, esto hace que sea posible predecir la composición de las muestras mencionadas anteriormente lo que ha causado que las muestras de heces sean utilizadas para predecir materia seca y orgánica (Mouazen *et al.*, 2005), proteína cruda (Bastianelli *et al.*, 2015), nitrógeno (Ye *et al.*, 2005), contenido de carbohidratos (Sorensen *et al.*, 2007), fibra cruda, fibra detergente ácida y fibra detergente neutra (Schiborra *et al.*, 2015) y la correlación de elementos minerales como fósforo (Ye *et al.*, 2005), calcio (Saeys 2005a) y minerales traza (Yang *et al.*, 2006). Bastianelli *et al.*, (2015) usaron 200 muestras (146 para calibración y 50 validación, 4 eliminadas) de un solo experimento para predecir el contenido de nitrógeno y obtuvieron un valor alto para la proporción de la desviación de predicción (RPD) de 2.44 pero con una  $R^2$  para validación cruzada de 0.85. Por otro lado, los resultados de Schiborra *et al.*, (2015) muestran que con 200 muestras de heces de cinco distintos experimentos predijeron la materia orgánica, proteína cruda, fibra cruda, fibra detergente ácida y neutra adecuadamente, obtuvieron predicciones bajas para materia orgánica (RPD 1.9) y para proteína (RPD 2), en los casos de fibra el valor de RPD arriba de 3 es un valor excelente para predecir el contenido de fibra.

La predicción a través del NIRS del contenido de energía bruta en heces, así como el contenido de proteína y aminoácidos en contenido ileal de cerdos no existe información disponible.



Es importante contar con un gran número de muestras para generar curvas de calibración si deseamos predecir varios constituyentes de una muestra (Mark, 1991), con la finalidad de tener una adecuada capacidad para predecir utilizando el NIRS. La implementación del NIRS para predecir materia seca, energía, proteína y aminoácidos obtenida de muestras como heces y contenido ileal, no se ha efectuado en México y no existen curvas de calibración para que sean desafiadas al hacer la validación de estas, es por ello la necesidad de crear curvas de calibración para poder predecir constituyentes como materia seca, energía, proteína, y aminoácidos a partir de muestras de heces y contenidos ileales, obtenidos de cerdos. El objetivo de este trabajo es generar el conocimiento y las curvas de calibración a través de NIRS para muestras de heces y contenido ileal para predecir su composición y reducir los costos en los experimentos realizando en cerdos.

## 2. REVISIÓN DE LA LITERATURA

### 2.1 Fundamento del NIRS

El espectro electromagnético indica la distribución de la energía en conjunto de ondas electromagnéticas, las ondas pueden distribuirse en longitudes largas con menor frecuencia y energía (ej. ondas de radio) o ser longitudes más cortas con mayor frecuencia y energía (ej. rayos gamma) (Figura 1). El espectro electromagnético está dividido por regiones de acuerdo con el número y longitud de las ondas emitidas, la región del infrarrojo se localiza entre la luz visible y las microondas. El Infrarrojo se divide en tres segmentos: 1) Infrarrojo cercano (IRC) que abarca longitudes de ondas de 780 a 2,500nm y 12,800 a 400cm<sup>-1</sup> número de ondas, 2) Infrarrojo medio (IRM) con longitudes de onda de 2,500 a 5x10<sup>6</sup>nm y 4,000 a 200cm<sup>-1</sup> en número de ondas y 3) Infrarrojo lejano (IRL) con longitudes de onda 5x10<sup>6</sup> a 10x10<sup>6</sup>nm en y 200 a 10cm<sup>-1</sup> número de ondas.

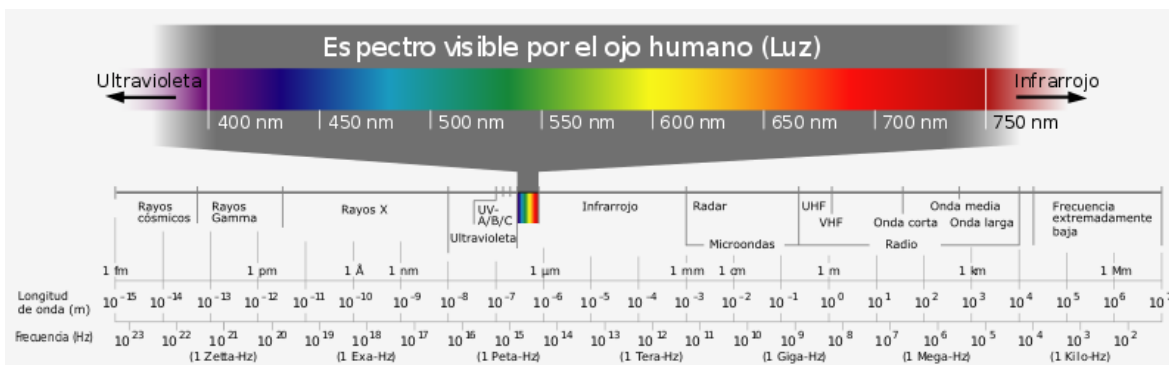


Figura 1. El espectro electromagnético. Frank, H. (2006). Electromagnetic spectrum.svg. Recuperado de [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Electromagnetic\\_spectrum-es.svg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Electromagnetic_spectrum-es.svg).

La radiación emitida por las diferentes regiones del infrarrojo puede alterar la materia, por ejemplo, la radiación emitida por el IRL que incide sobre la materia puede modificar los átomos y cambiar su

estructura incluso la membrana celular (Sheppard *et al.*, 2008). El uso del IRL se ha enfocado por la alta radiación emitida para procesos de secado con la finalidad de reducir la humedad de granos y alimentos (Wilson 2016; Nimmola *et al.*, 2007) y como técnica para descontaminar la superficie de alimentos (Tanaka, 2007). Por otro lado, la característica de la radiación emitida por el IRC es que no modifica la estructura de la materia, sólo produce vibración de sus átomos, por ello su amplio uso en las diversas áreas de la industria y producción animal (Givens y Deaville, 1999; Osborne, 2006).

La liberación de energía emitida por el NIRS en forma de radiación incide sobre la materia lo que ocasiona que los átomos de los enlaces orgánicos sean excitados y vibren al absorber la energía emitida, posteriormente esa energía que está siendo absorbida por la materia, ocasiona un incremento de energía y esa energía es reflejada al NIRS y cuantificada por detectores. Los átomos más ligeros como el H y los más pesados C, N y O se encuentran formando grupos funcionales como C-H, N-H y O-H, estos grupos funcionales absorben la energía emitida y es reflejada al NIRS creando bandas de absorción que se deben a las combinaciones de tonos y sobretonos (Figura 2). La proporción y cantidad de estos grupos funcionales encontradas en las muestras hacen que la muestra sea diferente y única, esta característica mencionada hace que al escanear las muestras y generar espectros estos sean únicos al ser generados por el NIRS, además son específicos por los enlaces con hidrógeno encontrados en las muestras.

El uso del NIRS nos ayuda a predecir con precisión en las muestras su composición química, esta predicción se puede obtener de dos formas: 1) La primera es de forma directa por la composición química de la muestra por ejemplo la materia seca, humedad, nitrógeno y carbonos son detectados porque los grupos funcionales como C-H, N-H y O-H absorben energía. 2) De manera indirecta cuando los constituyentes no pueden ser espectralmente activos, por ejemplo, los minerales no

pueden ser predichos directamente, por lo que el uso de la correlación en función de la composición química puede ser utilizado y aplicado (Burns *et al.*, 1992).

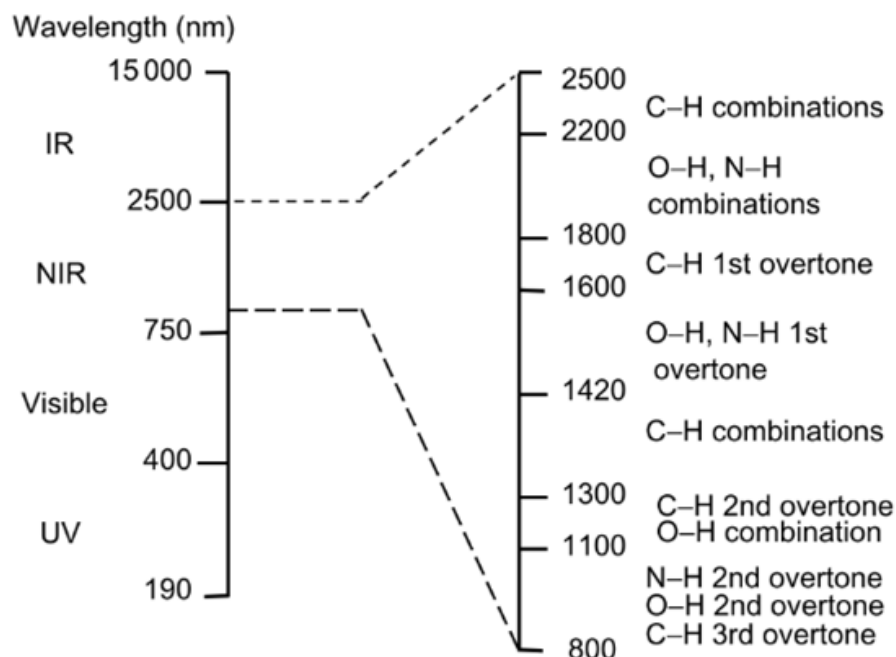


Figura 2. Diferentes regiones del espectro electromagnético y la región del NIR con su banda de absorción por compuesto orgánico. Osborne G. (2006). Near-infrared Spectroscopy in Food Analysis.

Existen tres modos de coleccionar los espectros los cuales se muestran en la Figura 3 (Osborne, 2006).

1.- Transmitancia: La luz emitida pasa a través de una muestra clara o transparente y la energía es absorbida por los enlaces orgánicos llegando a un detector para crear un espectro, este modo de crear el espectro es más utilizado para muestras líquidas como agua, alcohol, leche entre otros.

2.- Reflectancia: La luz emitida llega a la muestra ocasionando las siguientes reacciones: 1) reflejada en la pared celular de la muestra, 2) ser absorbida por la muestra y reflejada en forma especular (la luz no regresa al mismo punto de donde fue liberada) o difusa (la luz regresa al mismo punto donde fue liberada) o 3) ser absorbida por la muestra. Los detectores se localizan en la misma posición de donde se emite la luz. Este modo de colecta del espectro es el más utilizado en la agricultura y en nutrición animal.

3.- Transflectancia: Este modo es una combinación de los dos modos anteriormente descritos ya que la luz liberada puede atravesar la muestra (transmitancia) y a la vez es reflejada por la muestra.

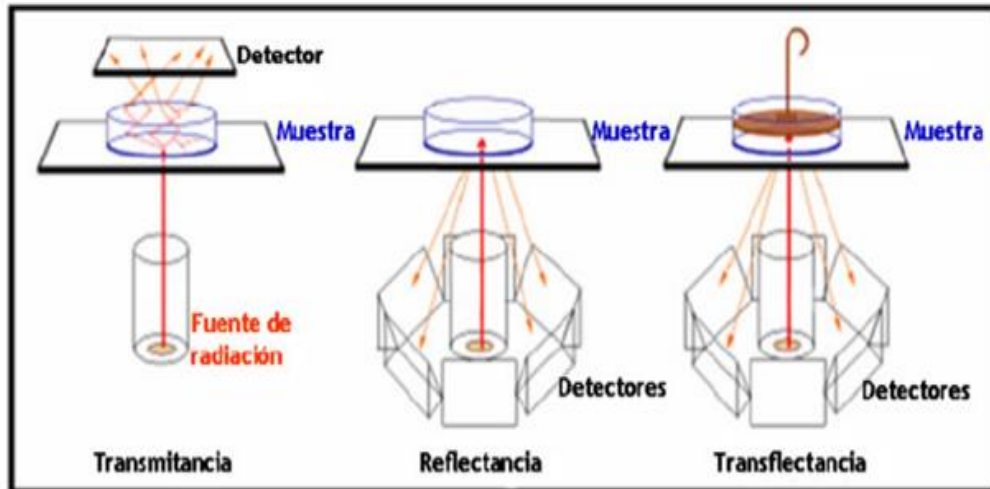


Figura 3. Diferentes modos de interacción de la materia con la radiación NIR. Peinado (2005).

## 2.2 Calibración y Validación

Antes de usar el NIRS como una herramienta para predecir, es necesario crear curvas de calibración para cada tipo de muestra que se desee analizar. Este proceso puede ser definido como la conversión de la información espectral de la absorción en los valores obtenidos con los métodos de referencia en el laboratorio (Shenk y Westerhaus 1994). El objetivo de desarrollar la calibración es para encontrar una relación entre la información espectral y el analito de interés (Reeves, 2000). Obtener un modelo aplicable de predicción está influenciado por una adecuada calibración, el primer paso es definir cuantos constituyentes de las muestras se desea predecir para ver el tamaño de la muestra ya que a mayor número de constituyentes aumentará en número la cantidad de muestras requeridas o de lo contrario los resultados no serán los esperados (Mark, 1991). El modelo de calibración requiere mediciones de espectros de muestras de una población que incluye todas las variaciones en la predicción futura (Cao, 2013), el origen de esta variación en el caso de pastizales

puede ser la zona de cultivo, el tipo de riego, el uso de fertilizantes y el tipo de suelo. Esto lo demuestran experimentos como el de Zijlstra *et al.*, (2011) con una cantidad mínima de 25 muestras tuvieron una buena predicción para predecir solamente la energía digestible de la cebada debido a que tuvieron el número adecuado para explicar la variación, por otro lado, Owens *et al.*, (2009) utilizaron de 309 a 319 muestras para predecir 7 diferentes constituyentes. La calibración puede realizarse por el tipo de población ya sea cerrada o abierta.

Poblaciones cerradas o específicas. Esto se refiere cuando tenemos el total de las muestras de nuestro interés para escanear. Si el número de muestras a escanear es demasiado grande y no pueden ser escaneadas el mismo día se debe tener en cuenta que factores como la humedad del cuarto de trabajo durante el día, cambiar el personal para escanear o escanear las muestras de mayor calidad afectan al generar los espectros. Para escoger del total las muestras más representativas para generar la calibración los métodos utilizados son: del total de las muestras por azar escoger y escanearlas, el método más completo y utilizado es escanear todas las muestras y una vez ya escaneadas escoger aquellas muestras que puedan ser las más representativas de acuerdo con los resultados generados por el laboratorio. Independientemente de cuál sea la elección entre estos tres diferentes métodos, es importante tener un conjunto de muestras que no sean escaneadas con la finalidad que puedan ser utilizadas para validar que la calibración realizada es adecuada.

Poblaciones abiertas. La diferencia radica en que no tenemos el total de todas las muestras y que éstas se van obteniendo durante el tiempo. Este uso puede ser práctico ya que es utilizado para predecir la composición en base de espectros creados con otras muestras. La limitante radica en que solo puede predecir aquellas muestras de cierto lugar, cierta temporada o de lo contrario caerá en errores. El actualizar y agrandar la base de datos espectrales puede ser una herramienta para no caer en esos errores.

### 2.3 Factores que afectan la obtención de un espectro.

Para ambos tipos de calibración es importante no caer en el error de que el uso del NIRS eliminará la necesidad de determinar la composición de las muestras a través de análisis del laboratorio (Barton, 1989). Como se mencionó previamente, existen factores que pueden afectar la obtención de los espectros resultando en una calibración fallida o engañosa. El poder conocer y controlar estos factores ayudará a reducir la variación. En el cuadro 1 se muestran los principales factores que afectan en la obtención de espectros confiables, así como el efecto que estos tienen. En el mismo cuadro se muestran las posibles soluciones para cada factor. Williams y Thompson (1978) y Fernández *et al.*, (2009) concluyeron que las características fisicoquímicas de las muestras (tamaño de partícula, temperatura, y humedad) afectan la calibración y predicción del NIRS.

Factor	Efecto Espectral	Solución
Tamaño de partícula	Cambios basales	Pre-tratamiento matemático espectral
Temperatura	Cambio del pico espectral	Incluir diferentes temperaturas en la calibración
Muestras homogéneas	Muestras no representativas	Moler más finamente o dejarla escanear más tiempo
Diferente espectro utilizado	Cambio en los picos y en la absorbancia	Volver a desarrollar la calibración o transferencia de calibración
Espectrómetro reparado u otro diferente	Cambio en los picos y en la absorbancia	Volver a desarrollar la calibración o transferencia de calibración
Constituyentes fuera del rango	Calibración inapropiada	Añadir una muestra con mayor rango de valores
Diferentes muestras	Calibración inapropiada	Añadir muestras antiguas o desarrollar nueva calibración
Falla de la luz del instrumento	Determinación inexacta	Ajustar o reparar instrumento, usar la luz constantemente en todo momento

Adaptado de Reeves, 2000.

Cuadro 1. Factores que afectan al obtener un espectro y la solución para resolver dichos factores

## 2.4 Estadísticos.

Realizar la calibración es el primer paso, sin embargo, ésta tiene que ser evaluada por medio de estadísticos (Cuadro 2), los cuales nos indican la utilidad y aplicación de la calibración, su robustez, el error de predicción y de calibración. Todos estos estadísticos son generados tomando como base los estadísticos descriptivos de las muestras analizadas en el laboratorio.

Coefficiente de determinación ( $R^2$ ). Estadístico ampliamente utilizado para la evaluación de los modelos generados por el NIRS; es la proporción de la variabilidad explicada por la ecuación de regresión (Westerhaus, 1989). Este mide la relación lineal entre los resultados obtenidos en el laboratorio por métodos estandarizados y los resultados predichos por el NIRS, valores bajos de un  $R^2$  son a menudo una indicación de que los datos de laboratorio son imprecisos (Westerhaus, 1989).

Desviación estándar (DE). Es la desviación o alejamiento existente de las muestras a la media de la población.

Error estándar de la predicción (EEP o SEP por sus siglas en inglés). Indica la desviación que tendrá para la predicción de uno o varios constituyentes de su media que se esté evaluando. Indicador del funcionamiento de la ecuación en muestras desconocidas de una misma población (Westerhaus, 1989).

Error estándar de la calibración (EEC o SEC este último por sus siglas en inglés). Describe que tan bien se ajustaron las muestras de calibración, cuanto mayor sea el EEC mejor será el ajuste (Westerhaus, 1989). Los errores aleatorios de las muestras se encuentran aquí.

Error estándar de la validación cruzada (EEVC o SECV). Nos mide la calidad de la predicción de los modelos.



La proporción entre la desviación y el error estándar de la validación cruzada (RPD por sus siglas en inglés). Un estadístico fuertemente utilizado para indicar el poder de la predicción y su aplicación en los constituyentes que se estén midiendo, este valor se obtiene al dividir la desviación estándar de las muestras analizadas en el laboratorio entre el error estándar de la validación cruzada generado por el NIRS (Chang *et al.*, 2001, Malley *et al.*, 2004, Pirie *et al.*, 2005).

La proporción entre la desviación y el error estándar de la predicción (DE/EEP). Esta proporción se obtiene al dividir la desviación estándar entre el error estándar de predicción y nos indica la calidad y robustez de nuestra calibración en el NIRS. Un número inferior a 2 nos indica una inadecuada calibración (Montes *et al.*, 2006).

Estadísticos del NIRS	Chang <i>et al.</i> , 2001.		Pirie <i>et al.</i> , 2005		Malley <i>et al.</i> , 2004	
	RPD	R <sup>2</sup>	RPD		RPD	R <sup>2</sup>
Excelente	>2	>0.90	>2	Excelente	> 4	> 0.95
Aceptable	1.4 a 2	>0.80	1.4 a 2	Suficiente	3-4	0.90-0.95
No aceptable	<1.4	>0.80	<1.4	Moderadamente satisfactorio	2.25-3	0.80-0.90
				Moderadamente útil	1.75-2.25	0.70-0.80
				Poco confiable	>1.75	<0.70

Cuadro 2. Estadísticos para evaluar los modelos de calibración del NIRS.

Otros autores han clasificado las calibraciones en función del R<sup>2</sup> o el RPD. Williams (2003, citado por Saeys *et al.*, 2004) propone siete niveles para clasificar la calibración en función del R<sup>2</sup> donde R<sup>2</sup> <0.25 no es utilizable, R<sup>2</sup> de 0.26 a 0.49 la correlación es muy pobre y es necesario investigar las razones, valores de 0.50 a 0.64 es aceptable debido que más del 50% de la variable Y es explicada

por la variable X, de 0.66 a 0.81 la predicción es aproximada y como herramienta detectora, de 0.083 a 0.90 es utilizable para la mayoría de las aplicaciones incluso la investigación, de 0.92 a 0.96 es utilizable para la mayoría de las aplicaciones incluso el área de control de calidad y por encima de 0.98 la calibración es utilizable para todas las áreas. El  $R^2$  nos indica la calidad de la calibración de los resultados generados por el NIRS obtenidos por el laboratorio con los resultados generados por el NIRS, sin embargo, este valor no demuestra que tan confiable es nuestra predicción.

Por otro lado, Saeys *et al.*, (2004) realizaron cinco niveles para RPD, lo cual indicó que un valor de RPD <1.5 la calibración no es utilizable, de 1.5 a 2 indica la posibilidad de distinguir entre valores altos y bajos, los valores entre 2 y 2.5 permiten hacer predicciones cuantitativas aproximadas, en el caso de valores entre 2.5 y 3 la predicción es buena y valores superiores a >3 la predicción es excelente.

## 2.5 Uso del NIRS en la alimentación

En la naturaleza existe un fenómeno llamado: variación. La variación indica una diferencia dentro del mismo criterio. Tal variación se encuentra dentro de una misma variedad de granos, así como entre diferentes granos. Esta variación es inherente de cada materia prima y es originada por factores intrínsecos, tales como: genética (Yang *et al* 2012), condiciones ambientales (Kindred *et al* 2008 y Rotundo y Westgate 2009), zona geográfica (Grieshop *et al.*, 2001 y García-Rebollar *et al* 2016) etc. Esta variación también es afectada por factores extrínsecos, originada por el tipo de procesamiento de la muestra, por ejemplo, Pedersen *et al*, (2014) evaluaron 138 granos secos de destilería con solubles (DDGS) de tres cereales diferentes: maíz, trigo y una mezcla de cereales que fueron procesados en 24 plantas diferentes de bioetanol, obtuvieron variación entre las plantas productoras de bioetanol debido a los diferentes métodos de extracción. Esta variación tiene un

impacto en la salud y comportamiento productivo del animal (Guzmán *et al.*, 2016 y Ivarsson y Neil 2018).

### 2.2.1 Maíz.

El uso de NIRS como herramienta para predecir el valor nutrimental del maíz ha sido empleado en los últimos años. Rosales *et al.*, (2011) utilizaron 276 muestras para predecir proteína, 756 para treonina y 424 para lisina. Las  $R^2$  fueron  $<0.63$  para treonina y lisina y no existió correlación de estos aminoácidos con proteína. El RPD para proteína 3.79, y lisina 3.34 fueron excelentes y treonina 2.61 bueno. Fontaine *et al.*, (2002) evaluaron 258 muestras para predecir proteína y aminoácidos, teniendo valores de RPD altos (mayores a 4) para proteína, treonina y para metionina, lisina, triptófano, cisteína obtuvieron valores menores a 2.5. Montes *et al.*, (2006) con un gran número de muestras (2449 calibración y 1084 validación) lograron una excelente calibración para materia seca DE/EEP de 5.4, para la proteína (445 muestras calibración y 50 validación) fue de 3 y para almidón (220 calibración y 25 validación) de 1.8. Una ventaja del NIRS es su versatilidad ya que se puede trabajar con maíz molido (Zhonghai *et al.*, 2015), maíz entero (Tallada *et al.*, 2009) o salvado de maíz (Templeton *et al.*, 2009).

### 2.2.2 Trigo

El primer reporte de uso del NIRS se realizó para predecir lisina en el trigo (Rubenthaler y Bruinsma, 1979), obteniendo una  $R^2$  de 0.96 con 77 muestras. Fontaine *et al.*, (2002) analizó 213 muestras para predecir proteína y aminoácidos; los valores de RPD para lisina y triptófano fueron de 2.5 y 2, para metionina o cisteína mayores de 3 y para treonina y leucina de 4.5 y 6 respectivamente. Garnsworthy *et al.*, (2000) evaluaron 160 muestras de trigo para predecir materia seca, proteína cruda, cenizas, almidón, aceite y energía bruta, sus  $R^2$  fueron 0.94, 0.90, 0.97, 0.78, 0.98 y 0.51 respectivamente y el valor de RPD fue de 2.92, 2.79, 4.06, 1.93, 1.70 y 1.36 respectivamente

mostrando que pueden tener una fuerte relación los datos analizados en el laboratorio y los generados por el NIRS (excepto para energía bruta) pero con predicciones insuficientes para almidón aceite y energía bruta. Owens *et al.*, (2009) investigaron si el efecto de secar las muestras o no antes de ser escaneadas afectaba la calibración y no encontraron diferencia para N, FDN y EB, con 272 muestras secas obtuvieron una  $R^2$  de 0.98 y un RPD de 7.69, excelente, para FDN la  $R^2$  fue de 0.60 y el RPD de 1.41 y para EB la  $R^2$  fue de 0.81 y el RPD de 2.11. Al incrementar el número de muestras a 313 incrementaron los valores para N obteniendo una  $R^2$  de 0.99 y un RPD de 10.98; para FDN la  $R^2$  fue de 0.61 y el RPD de 1.54 y para EB la  $R^2$  fue de 0.87 y el RPD de 2.72 demostraron que la robustez de la calibración afecta en la predicción.

### 2.2.3 Soya

Fontaine *et al.*, (2001) trabajaron 206 muestras obteniendo un RPD de 2.5 para cisteína y metionina, y para lisina, treonina y triptófano fue de 3.5, 5 y 4.5 respectivamente, siendo valores excelentes para predecir. Kovalenko *et al.*, (2006) determinaron la composición de 18 aminoácidos en la soya utilizando 5 diferentes equipos NIRS y 3 métodos de regresión, aunque los resultados fueron diferentes en las 15 combinaciones posibles, estos resultados demostraron que los aminoácidos leucina, arginina, lisina, histidina, tirosina, fenilalanina, glicina, asparagina, alanina y prolina tuvieron los mejores RPD y treonina y cisteína los menores. Por otro lado, otro estudio que demuestra el alcance del NIRS para predecir la proporción de ácidos grasos encontrados en el aceite de soya fue realizado por Karn *et al.*, (2017), quienes utilizaron 687 muestras de aceite y los ácidos grasos estudiados fueron el palmítico, esteárico, oleico, linoleico y linolénico, sus  $R^2$  fueron de 0.80, 0.95, 0.98, 0.98 y 0.92 respectivamente y los valores de RPD fueron 1.57, 3.34, 5.53, 4.85, 1.69 respectivamente. Estos resultados demuestran que la calibración fue magnífica para esteárico, oleico y linoleico y poco confiable para palmítico y linolénico. Por la repetitividad y exactitud este

método (NIRS) ha sido introducido por la Asociación Americana de Químicos de Cereales (AACC) para medir el contenido de proteína, aceite y humedad en los granos intactos de soya.

El NIRS ha sido aplicado en pasta de girasol, chicharos, harina de pescado y de carne (Williams *et al.*, 1985, Fontaine *et al.*, 2001 y Wang *et al.*, 2013), diferentes cereales (Bruno Soares *et al.*, 1998, Fontaine, 2002), como rápido detector de aflatoxinas y hongos en cereales (Fernández-Ibáñez *et al.*, 2008, Tao *et al.*, 2018), y también para calidad de alimento (Stuth *et al.*, 2003).

## 2.6 Uso del NIRS en las heces.

El alimento que el cerdo ingiere tiene que fluir a lo largo del tracto digestivo donde las secreciones endógenas del animal (ej. enzimas, ácido clorhídrico) realizan la digestión con la finalidad de exponer a los sustratos y que estos puedan ser absorbidos en el intestino delgado, aquellos sustratos que no pueden ser digeridos, pasan al intestino grueso donde se fermentan. Los residuos que no fueron absorbidos ni aprovechados por el animal deben ser excretados como heces. Por lo tanto, las heces pueden ser utilizadas ya que ellas contienen información de la porción del alimento que no fue digerido y al sacar la diferencia del total podemos obtener la digestión del alimento. Esta herramienta ha sido utilizada y es llamada, digestibilidad aparente del alimento en el tracto total.

Para estimar esta última, es necesario determinar tanto en el alimento y en las heces su composición, para ello la necesidad de utilizar los métodos de laboratorio que nos brinden la información deseada es de suma importancia. Estos procedimientos consumen tiempo, incrementan los costos y suelen ser laboriosos, el NIRS ha sido utilizado para predecir la materia seca, proteína y energía de las heces, en el Cuadro 3 se resumen trabajos para predecir estos constituyentes.

### 2.6.1 Materia Seca.

Se ha estudiado la materia seca en heces y el mayor constituyente que altera su predicción es el agua, en la región del NIRS, los picos anchos alrededor de 1450 – 1900 nm resultan de la absorción de energía por los enlaces O-H del agua (Saeys *et al* 2005b), por lo tanto, el mayor contenido de agua o humedad en la muestra tendrá un efecto sobre los espectros. La mayor investigación y trabajos publicados son en rumiantes y los trabajos encontrados para cerdos han sido en estiércol semilíquido. El método empleado en la obtención de los espectros con este tipo de heces ha sido el de transmitancia. El trabajo realizado por Saeys *et al* (2005b) con cuatro diferentes muestras de heces (heces líquidas a heces semisólidas), mostró que en las muestras líquidas aumentó la absorción en todas las regiones del espectro y las muestras con menor humedad (mayor contenido de materia seca) dieron como resultados picos de agua más pronunciados en la región comprendida entre los 1450 y los 1900 nm, estos autores concluyeron que el uso de la transmitancia incrementó 36 unidades porcentuales el valor de RPD (con reflectancia 1.99 vs transmitancia 2.71), el mismo tipo de respuesta se observó en los valores de  $R^2_c$  incrementándose 14 unidades porcentuales (reflectancia 0.75 vs transmitancia 0.86). La humedad afecta mucho la predicción de los constituyentes y en los coeficientes. Por ejemplo, Steyaert *et al.*, (2012) con 174 muestras obtuvieron un RPD de 1.13 y una  $R^2_c$  de 0.29 indicando que esta calibración para predecir no podía ser utilizada. Landau *et al.*, (2004) con 83 muestras de igual forma obtuvieron un RPD bajo (1.97) y aunque su  $R^2_c$  fue de 0.83 no tuvo una buena calibración para este constituyente. Sørensen *et al.*, (2007) ha sido uno de los pocos trabajos con una excelente calibración, ya que obtuvieron un RPD de 6.20 y  $R^2_c$  de 0.97, otro trabajo con buenos resultados fue el realizado por Saeys *et al* (2005a) con un RPD de 3.22 y una  $R^2_c$  de 0.91 concluyendo que el NIRS es una herramienta útil para predecir la materia seca en las heces.

### 2.6.2 Proteína

Medir la cantidad de proteína ingerida, así como la excretada en las heces ha sido una metodología importante en los experimentos para medir su digestibilidad. Predecir el contenido de nitrógeno o proteína a partir de muestras de heces ha sido ampliamente examinado, obteniendo calibraciones que sean útiles y con muy buena capacidad de predicción. Lyons *et al.*, (1992) realizaron uno de los primeros estudios en el que analizaron muestras de heces de vacas lactantes y vacías (54 utilizadas en la calibración y 18 en la validación) obteniendo una  $R^2$  de 0.63, siendo un valor muy bajo para utilizarla, en este trabajo no se determinó su RPD. Reeves *et al.*, (2001) obtuvieron una  $R^2$  de 0.88 al trabajar con 207 muestras en heces de aves y una  $R^2$  de 0.83 con 124 muestras. En 2001, Smith y colaboradores reportaron valores inferiores a 2 de RPD, DE/EEP 1.92, un valor moderadamente alto de  $R^2_c$ , 0.88 y un valor alto de  $R^2_v$  0.99. Boval *et al.*, en (2004) utilizaron 86 muestras de heces de grandes rumiantes y obtuvieron una alta capacidad de predicción, reportando un valor alto de RPD 4.56 y para las  $R^2_c$  de 0.98 y  $R^2_v$  de 0.95. Landau *et al.* (2004) con heces de 143 pequeños rumiantes obtuvieron un RPD de 5.47 y con una alta  $R^2_c$  0.98. Ye *et al.*, 2005 colectaron heces de distintas especies: gallinas ponedoras 111 muestras, pollos de engorda 95 muestras, heces de cerdos frescas 88 y secas 39 y de ganado lechero 72 muestras. En todas las calibraciones de heces para las distintas especies obtuvieron un RPD superior a 3, concluyeron que fueron excelentes para predecir, en el caso de  $R^2_c$  el rango fue de 0.87-0.91.

Las características físicas de las muestras son de suma importancia para determinar el tipo de método que debe emplearse para obtener el espectro deseado, Saeys *et al.*, (2005b) escanearon 194 muestras de heces semilíquidas por dos métodos siendo estos el de reflectancia y de transmitancia, todas las muestras fueron escaneadas el mismo día para evitar algún error, los resultados indicaron que el método de transmitancia dio una mejor predicción obteniendo valores para RPD de 3.48 comparado al valor de 2.99 obtenido con el método de reflectancia, de igual

manera mejoró la  $R^2_c$  de 0.89 a 0.92., estos altos valores de  $R^2_c$  también los reportaron Sørensen *et al.*, (2007) alcanzando el valor de 0.94 y para el caso de DE/EEP fue de 4.3.

Li *et al.*, 2007 también observaron que el tipo de análisis multivariado influye en los resultados, ya que utilizando dos diferentes métodos multivariados (procedimiento múltiple por pasos y los cuadrados mínimos parciales) obtuvieron una mejor  $R^2_c$  para cuadrados mínimos parciales de 0.95 contra 0.93. Glasser *et al.* (2008), y Landau *et al.* (2008) obtuvieron valores altos de  $R^2_c$  0.93-0.96 y 0.84-0.94 respectivamente. Los primeros autores reportaron un RPD de 2.63 y 4.33 para dos diferentes muestras; por parte de Landau *et al.*, (2008) sus RPD fueron de 2.23 y 3.56. Xing *et al.*, (2008) realizaron una calibración útil y con buena capacidad de predicción DE/EEP 2.88 y RPD 3.26 respectivamente, el valor de  $R^2_c$ , fue de 0.92 y para  $R^2_{cv}$  de 0.91. Muchos de estos trabajos han sido aplicados en las especies de aves, rumiantes y fauna silvestre (Steyaert *et al.*, 2012), en muchos de los experimentos anteriormente descritos las muestras en el caso de los cerdos han sido semilíquidas con la finalidad de estandarizar el excremento como fertilizante. Pocos estudios en el área de cerdos han sido publicados y han sido recientes. Bastianelli *et al.*, 2015, Schiborra *et al.*, 2015 y Nirea *et al.*, 2018 con heces secas para predecir nitrógeno y proteína. Bastianelli *et al.*, 2015 con 196 muestras (150 de calibración y 46 de validación) de una sola dieta experimental reportaron una baja predicción, valor de RPD de 2.44 y su utilidad (DE/EEP) con un valor de 1.69 fue también bajo. Sus coeficientes de  $R^2_c$ ,  $R^2_v$  y  $R^2_{cv}$  fueron 0.88, 0.60 y 0.85 respectivamente. Schiborra *et al.*, 2015 con 200 muestras obtuvieron un valor de RPD de 1.97 con una capacidad de predicción baja, la  $R^2_c$ , fue de 0.84 y la  $R^2_{cv}$  fue de 0.74. Nirea *et al.*, 2018 con un mayor número de dietas de (cuatro diferentes dietas) obtuvieron un RPD casi excelente (2.96), la utilidad de la calibración (DE/EEP) fue muy buena 3.11; finalmente las  $R^2_c$ ,  $R^2_v$  y  $R^2_{cv}$  fueron de 0.89.

### 2.6.3 Energía



Los coeficientes de digestibilidad de la energía se obtienen al medir las calorías consumidas en el alimento y restándole de las calorías excretadas en las heces. La determinación de la energía bruta del alimento y heces se obtiene usando una bomba calorimétrica. Smith *et al.*, (2001) determinaron la energía bruta de 143 muestras de heces en aves obteniendo una  $R^2_c$  y una  $R^2_v$  de 0.86 y 0.88 respectivamente indicando que pueden ser utilizables pero su RPD y DE/EEP fueron muy bajos 1.88 y 1.61 respectivamente. Por otro lado, Bastianelli *et al.*, (2007) con 200 muestras obtuvieron la  $R^2_c$  0.99 y el RPD de 8.93 obteniendo una excelente predicción. De la Roza *et al.*, (2015) evaluaron en el NIRS 220 muestras de heces de aves y cerdos (80 de calibración y 15 de validación para aves y 100 de calibración y 25 de validación para cerdos) para predecir la energía bruta y mostraron valores buenos de  $R^2$  0.94 para aves y 0.97 para cerdos y de RPD 2.65 y 3.51 aves y cerdos respectivamente. Ellos observaron que la calibración de heces de aves no puede predecir la composición de las heces en cerdos porque en las muestras de heces de cerdos existió mayor absorción espectral que en las heces de las aves y existe un contenido mayor de energía en heces de cerdos que en heces de aves. Dixon y Coates (2009) también concluyeron que una calibración en el NIRS de una especie no puede ser utilizada para predecir la composición de heces de otra. Sin embargo, en el mismo estudio De la Roza *et al.*, (2015) no mencionaron cuantas muestras fueron eliminadas y cuantas fueron utilizadas para la calibración en ambas especies. En un trabajo reciente Nirea *et al.*, (2018) escanearon 198 muestras (158 para calibración y 40 para validación) de heces de cerdos obtenidas en cuatro experimentos y reportaron altas relaciones de  $R^2_c$ ,  $R^2_v$  y  $R^2_{cv}$  0.92, 0.90 y 0.91 respectivamente; un RPD de 3.14 y una DE/EEP de 3.38 lo cual indica una buena capacidad de predicción para energía bruta.

## 2.7 Uso del NIRS en contenido ileal.

En la presente revisión no se encontró ningún trabajo donde utilizaran el NIRS para predecir la composición del contenido ileal. Existe escasa información de estudio en los que se haya

determinado la digestibilidad ileal de dietas experimentales, algunos trabajos fueron realizados hace tiempo, por ejemplo, Harrison *et al.*, 1991 reportaron al utilizar el NIRS para predecir Lisina que el  $R^2_c$  fue 0.75 para cerdos y 0.77 en aves, concluyeron que el número de muestras afecto estos bajos valores. Van Kempen y Simmins (1997) utilizaron el NIRS para predecir la digestibilidad de aminoácidos de dietas simples como soya, trigo, harina de pescado, de carne y subproducto de pollo donde obtuvieron valores para  $R^2_c$  de 0.62, 0.55, 0.72, 0.88 y 0.70 respectivamente, estos autores también trataron de predecir otros aminoácidos como: metionina, aminoácidos azufrados y treonina con resultados que indican que el NIRS puede ser una herramienta con resultados rápidos, pero interpretarlos con cautela.

	No. de muestras	SECV	SEC	RPD	SEP	$R^2_c$	Especie	Referencia
<b>Materia seca</b>								
	194	21.15		1.99		0.75	Cerdos	Saeyns et al., 2005b
	194	15.52		2.71		0.86	Cerdos	Saeyns et al., 2005b
				6.20		0.97	Cerdos y Vacas lecheras	Sorensen et al., 2006
	172	1.18		1.13		0.29	Osos	Steyaert et al., 2012
<b>Energía</b>								
	200	33.43	0.11	8.93		0.99	Pollos	Bastianelli et al., 2007
		46.37	30.26	3.51	53.59	0.97	Cerdos	De la Roza et al., 2015
	198	2.6	1.20	3.14	1.3	0.92	Cerdos	Nirea et al., 2019
<b>Nitrógeno</b>								
	207					0.88	Pollos	Reeves 2001
	124					0.83	Pollos	Reeves 2001
		0.19		2.00	0.19	0.88	Pollos	Smith et al., 2001
	111			4.87	0.23	0.92	Pollos	Ye et al., 2005
	95			3.32	0.13	0.80	Pollos	Ye et al., 2005
	72			4.28	0.11	0.88	Vacas lecheras	Ye et al., 2005
				4.58	0.02	0.91	Cerdos	Ye et al., 2005
	88			3.49	0.01	0.83	Cerdos	Ye et al., 2005
						0.94	Cerdos y Vacas lecheras	Sorensen et al., 2006
	194	1.05		3.48		0.92	Cerdos	Saeyns et al., 2005b
	194	1.22		2.99		0.89	Cerdos	Saeyns et al., 2005b
	91	1.00	1.08	3.26	1.13	0.92	Pollos	Xing et al., 2008
	172	1.54		3.45		0.91	Osos	Steyaert et al., 2012
	196	0.09	0.08	2.44	0.13	0.88	Cerdos	Bastianelli et al., 2015
<b>Proteína</b>								
	357	1.30	1.19	2.23		0.84	Cabras	Landau et al 2008
	132	0.90	0.80	3.56		0.94	Cabras	Landau et al 2008
	78	10.20	7.90	2.25		0.80	Vacas lecheras	Decruyenaere et al 2012
	132	6.00	5.00	4.33		0.96	ganado	Landau et al 2016
	200	15.03	11.84	1.97		0.84	Cerdos	Schiborra et al 2017
	198	18.80	18.10	2.96	17.90	0.89	Cerdos	Nirea et al 2018

Cuadro 3. Resumen de la utilidad del NIRS para predecir materia seca, proteína y energía en heces.

### 3. HIPÓTESIS.

La calibración realizada al utilizar el NIRS podrá predecir en heces de cerdos el contenido de materia seca, proteína cruda y energía y en la digesta ileal de cerdos predecirá el contenido de proteína, lisina, leucina y treonina.

### 4. OBJETIVOS

Crear la calibración para materia seca, proteína y energía para predecir su contenido en muestras de heces.

Crear la calibración para proteína, energía y aminoácidos para predecir su contenido en muestras de contenido ileal.

## 5. MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en el Centro Nacional de Investigación en Fisiología Animal (CENID-Fisiología), en Ajuchitlán Querétaro. Las muestras de heces y contenido ileal se obtuvieron de experimentos previos realizados entre los años de 2012 a 2018, en los cuales se determinó la digestibilidad fecal e ileal de materia seca (MS), energía (E) y proteína cruda (PC), y la digestibilidad ileal de los aminoácidos (AA). Todos los experimentos se realizaron en el CENID de Fisiología, los detalles están descritos en el Cuadro 4. Todos los experimentos se realizaron de acuerdo con los principios rectores internacionales para investigación biomédica con animales (CIOMS 1985) y la Norma Oficial Mexicana para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio (Diario Oficial de la Federación 2001 Norma Oficial Mexicana -NOM-062-ZOO-1999).

### 5.1 Animales, Jaulas y obtención de muestras.

En los Cuadros 4 y 5 se muestra un resumen de las características de los experimentos de donde se obtuvieron las muestras: número de muestras utilizadas, genotipo, peso de los animales, número de dietas experimentales, características de las dietas experimentales. En el Cuadro 4 se muestra la información para las muestras de heces generadas de experimentos de digestibilidad fecal y en el Cuadro 5 se registra la información para las muestras de contenido ileal generadas de los experimentos donde se midió la digestibilidad ileal.

Todos los cerdos fueron alojados en jaulas metabólicas individuales equipadas con comedores semiautomáticos, bebederos de chupón y charolas para la colección de heces. La temperatura fue controlada de  $19\pm 2^\circ$  con un extractor y el uso de las ventanas. Para más información de las jaulas metabólicas ver Anexo 1.

	Exp 1	Exp 2	Exp 3	Exp 4	Exp 5	Exp 6	Exp7	Exp 8
Tipo de experimento	Digestibilidad	Digestibilidad	Digestibilidad	Digestibilidad	Digestibilidad	Digestibilidad	Digestibilidad	Digestibilidad
N	51	20	50	23	32	32	10	10
Estirpe	Fertilis 20 x Gperformance (Genetiporc®)	Fertilis 20 x Gperformance (Genetiporc®)	Fertilis 20 x Gperformance (Genetiporc®)	Fertilis 20 x Gperformance (Genetiporc®)	Fertilis 20 x Gperformance (Genetiporc®)	Fertilis 20 x Gperformance (Genetiporc®)	Fertilis 20 x Gperformance (Genetiporc®)	Fertilis 20 x Gperformance (Genetiporc®)
peso, kg	35±2.5	36±1.6	34±2.2	35±2.1	25±1.5	37±4.5	55±6	37±3.1
Sexo	Machos	Machos	Machos	Machos	Machos	Machos	Machos	Machos
No de dieta	11	4	10	5	8	2	1	1
Composición de la dieta	1.- Caseína, 2.- Maíz con enzima, 3.- Maíz sin enzima, 4.- Sorgo con enzima, 5.- Sorgo sin enzima, 6.- Trigo con enzima, 7.- Trigo sin enzima, 8.- PS con enzima, 9.- PS sin enzima, 10.- Canola con enzima y 11.- Canola sin enzima	1.- Ajonjolí con enzima, 2.- Ajonjolí sin enzima, 3.- Pasta de Soya sin enzima y 4.- Pasta de Soya con enzima.	Exp. Enzimas	1.- Caseína, 2.- Cartamo, 3.- Cartamo, 4.- Cartamo y 5.- Cartamo	Exp. Digestibilidad	1 sorgo-Maíz,- Soya y Canola y 2 Sorgo-Maíz,- Soya y Canola con enzima	Sorgo-Soya	Sorgo-Canola
Tipo de alimentación	Restringido2.5 veces su requerimiento de EM de mantenimiento	Restringido2.5 veces su requerimiento de EM de mantenimiento	Restringido2.5 veces su requerimiento de EM de mantenimiento	Restringido2.5 veces su requerimiento de EM de mantenimiento	Restringido2.5 veces su requerimiento de EM de mantenimiento	Restringido2.5 veces su requerimiento de EM de mantenimiento	Restringido2.5 veces su requerimiento de EM de mantenimiento	Restringido2.5 veces su requerimiento de EM de mantenimiento

Cuadro 4. Información acerca de los ocho experimentos donde se obtuvieron las muestras de contenido fecal

	Exp 1	Exp 2	Exp 3	Exp 4
Tipo de experimento	Digestibilidad	Digestibilidad	Digestibilidad	Digestibilidad
<i>n</i>	24	51	24	21
Estirpe	Fertilis 20 x Gperformance (Genetiporc®)	Fertilis 20 x Gperformance (Genetiporc®)	Fertilis 21 x Gperformance (Genetiporc®)	Fertilis25xGP8(PIC®)
peso, kg	34±2.1	35±2.5	23.9±2.16	25±0.60
sexo	Machos castrados	Machos castrados	Machos castrados	Machos castrados
No de dieta	4	11	4	4
Composición de la dieta	1.- canola 2.- sorgo(75%) - canola (25%), 3.- sorgo (25%) - canola (75%), 4.- sorgo (50%) - canola (50%).	1.- caseína, 2.- Maíz con enzima, 3.- Maíz sin enzima, 4.- Sorgo con enzima, 5.- Sorgo sin enzima, 6.- Trigo con enzima, 7.- Trigo sin enzima, 8.- PS con enzima, 9.- PS sin enzima, 10.- Canola con enzima y 11.- Canola sin enzima	1.- PS y sorgo 2.- PS y sorgo 3.- PS y maíz 4.- PS y AM	1.- sorgo (BT-BK), 2.- sorgo (BT-AK), 3.- Sorgo (AT-BK) y 4.- Sorgo (AT-AK)
Tipo de alimentación	Restringido 2.5 veces su requerimiento de EM de mantenimiento	Restringido 2.5 veces su requerimiento de EM de mantenimiento	Restringido 2.5 veces su requerimiento de EM de mantenimiento	Restringido 2.5 veces su requerimiento de EM de mantenimiento

PS: Pasta de Soya, AM: Almidón de maíz

AT: Alto en taninos AK: Alto en Kafirinas

BT: Bajo en taninos BK: Bajo en Kafirinas

Cuadro 5. Información acerca de los cuatro experimentos donde se obtuvieron muestras de contenido ileal.

## 5.2 Análisis de laboratorio

Los análisis químicos para la determinación de MS, PC, E y AA de las muestras de heces y contenido ileal se realizaron en el Laboratorio del CENID-Fisiología.

Las muestras de contenido ileal fueron liofilizadas y el excremento secado a 55°C durante 48 horas.

El contenido ileal liofilizado y las heces secas se molieron en un molino de laboratorio a través de una malla de 0.5mm (Arthur H. Thomas Co. Philadelphia, PA, USA). Los análisis para determinar MS y PC en las muestras se realizaron de acuerdo con los métodos oficiales 934.01 y 976.05 del AOAC (AOAC 2000) respectivamente; como marcadores de digestibilidad se usaron óxido de cromo, el cual se analizó de acuerdo con la metodología de Fenton y Fenton (1979) y el óxido de titanio analizado según Myers et al., (2004). Para determinar AA la proteína se separó según el método 994.12 (AOAC 2000), el cual consiste en hidrolizar las muestras a 110 °C durante 24 h en HCl 6 mol/L, los análisis de AA se realizaron usando el método descrito por Henderson *et al.*, (2000) en un HPLC (1100 HPLC Hewlett Packard). Los análisis de E se realizaron en una bomba calorimétrica adiabática (1281, Parr, Moline, IL). Para ver la metodología de las técnicas en el laboratorio ver Anexo 2 La estadística descriptiva de estas muestras para heces encuentra en el Cuadro 6 y la del contenido ileal en el Cuadro 7.

Variable.	Observaciones.	Media.	Desv. Est.	Rango (min-max).
Materia Seca, %	222	93.4	2.4	77.6 - 97.5
Proteína, % MS	222	20.0	6.6	4.5 - 34.7
Energía, kcal/kg	222	4445.4	268.7	3469.4 - 5323.9

Cuadro 6. Estadística descriptiva con todas las muestras de heces.

Variable.	Observaciones.	Media.	Desv. Est.	Rango (min-max).
Proteína, %	119	15.5	2.15	9.8 – 23.3
Treonina, %	119	0.71	0.36	0.22 – 2.13
Leucina, %	119	0.85	0.21	0.21 – 1.31
Lisina, %	119	0.58	0.28	0.09 – 1.82

Cuadro 7. Estadística descriptiva de todas las muestras de contenido ileal.

### 5.3 Procedimiento obtención de muestras en equipo NIRS

Todas las muestras (heces y contenido ileal) antes de ser escaneadas se encontraban en contenedores de plástico localizados en un almacén a una temperatura promedio de 23°C. La temperatura promedio en el área de escaneo donde se localiza el NIRS fue en promedio de 25°C. Las muestras se colocaron en una copa de cuarzo y se escanearon usando espectrofotómetro FT-IR Nicolet 6700 (Thermo Fisher Scientific, Inc), la generación de espectros fue a través del programa OMNIC. Los espectros se obtuvieron dentro la región del infrarrojo cercano (IC) (1000-2500 nm) y la absorbancia de los datos se expresaron como el logaritmo del recíproco de R “(log 1/R)” donde  $R$ = Reflectancia. Al generar un espectro este se enumeró de acuerdo con el número de experimento que le correspondía para tener un control e identificar dicho espectro. Los espectros generados se guardaron para crear una base de datos. A los espectros generados se les agregaron los valores obtenidos en el laboratorio, el tratamiento matemático empleado fue el modelo estadístico de cuadrados mínimos parciales, la primera o segunda derivada y los filtros de Savitzky-Golay con el Software TQ Analyst v8. Las variables introducidas en el TQ Analyst v8 fueron: la composición de la



materia seca, proteína, energía y aminoácidos. Una vez introducidas las variables y la formación de los espectros, se vació la información de los resultados obtenidos previamente de cada muestra en el laboratorio del CENID-Fisiología. La calibración se realizó con 2/3 de las muestras y la validación con 1/3 ya fuera para muestra de heces o contenido ileal. La mejor predicción fue en función del coeficiente de determinación ( $R^2$ ), error estándar de la predicción (SEP), error estándar de la calibración cruzada (SECV), la proporción de la desviación estándar entre SEP (DE/SEP) y la desviación estándar entre el error estándar de la calibración cruzada (RPD). Las muestras “outlier” se consideraron aquellas mayores a 2.5 DE y éstas fueron eliminadas.

#### 5.4 Escaneo muestras de heces

Se obtuvieron 222 muestras de heces de experimentos previos. Los espectros se designaron al azar para crear la calibración y validación. El número de espectros asignados para realizar la calibración fue de 148 (2/3) y para la validación fue de 74 (1/3) del total de las muestras de heces, el modelo estadístico utilizado fue el cuadrado mínimo parcial (CMP). Se usó el tratamiento matemático 1-4-11-5, el primer número representa el grado de la derivada, el segundo el ancho del intervalo sobre el cual se calcula la derivada, el tercero el nivel de suavidad y el cuarto el nivel del orden de la polinomial. Se trabajó en la región 6086.78 – 4057.91  $\text{cm}^{-1}$  de número de onda. El total de observaciones eliminadas fueron 20 quedando 129 para calibración y 73 muestras para validación. Las 20 muestras que fueron eliminadas se debió a que el valor medido y el predicho de la muestra difería más de 2.5 veces entre sí ( $t > 2.5$ ) y también aquellas muestras con un espectro fuera de la población de espectros (distancia Mahalanobis  $GH > 3$ ). En el Cuadro 8 se muestra la estadística descriptiva de las observaciones que se usaron para la calibración, validación y realizar la predicción.

Variable.	Observaciones.	Media.	Desv. Est.	Rango (min-max)
Materia Seca, %.	202	93.63	2.15	85.83 - 97.50
Proteína, % de MS.	202	19.53	6.48	4.50 - 29.20
Energía, kcal/kg.	202	4446.9	253.42	3684.2 – 4966.0
20 muestras fueron eliminadas				

Cuadro 8. Estadística descriptiva al eliminar las muestras atípicas de heces o con una distancia mayor a  $t > 2.5$ .

#### 5.5 Escaneo muestras de contenido ileal.

Se obtuvieron 119 muestras de experimentos de digestibilidad ileal. Las variables para las muestras de contenido ileal fueron proteína cruda, aminoácidos: treonina, leucina y lisina. Los espectros se generaron en la región del infrarrojo cercano  $6085 - 4005 \text{ cm}^{-1}$ , posteriormente al azar se asignaron 2/3 del total de las muestras para generar la calibración y para desafiar nuestra calibración se usó la validación la cual se elaboró con 1/3 del total de las muestras. El análisis matemático que se utilizó fue el cuadrado mínimo parcial (CMP). El tratamiento matemático fue 1-4-13-6, el significado del número fue descrito en el párrafo anterior. El total de observaciones eliminadas representaron el 7.56% del total de muestras. En el Cuadro 9 se presenta la estadística descriptiva de las observaciones que se usaron para la calibración, validación y para realizar la predicción.

Variable.	Observaciones.	Media.	Desv. Est.	Rango (min-max).
Proteína, %	110	15.6	1.96	11.1 – 20.8
Treonina, %	110	0.73	0.36	0.32 – 2.13
Leucina, %	110	0.87	0.19	0.33 – 1.31
Lisina, %	110	0.58	0.27	0.17 – 1.82

Cuadro 9. Estadística descriptiva al eliminar las muestras atípicas de contenido ileal o con una distancia mayor a  $t > 2.5$ .

#### 5.6 Estadísticos

Determinar la aplicación de nuestro modelo fue en función a tres estadísticos: el coeficiente de correlación  $R^2$  el cual indica la relación lineal calculada de los análisis del laboratorio y los predichos por el NIRS, el segundo fue la proporción entre la desviación estándar (DE) y el error estándar de calibración cruzada (EECV) abreviándolo (RPD), este estadístico indica la utilidad de la calibración realizada y por último la proporción entre la DE y el error estándar de la predicción (EEP) indicando la robustez de la calibración realizada.

## 6. RESULTADOS

### 6.1 Espectros

Se generaron 222 espectros de muestras de heces de cerdos y 110 espectros de muestras de contenido ileal. Todos los espectros fueron escaneados en la región 1000 a 2500 ( $10000$  a  $4000\text{ cm}^{-1}$ ) la cual corresponde al Infrarrojo cercano. En la Figura 4 y 5 se muestra los espectros de muestras de heces y contenido ileal respectivamente provenientes del mismo experimento donde se determinó la digestibilidad fecal y aparente de ingredientes por separado, estos espectros reflejan una diferencia de acuerdo con el ingrediente utilizado con mayor absorción en ingredientes provenientes de cereales (sorgo, maíz y trigo) y al final las fuentes proteína (canola y soya).

Del total de espectros y muestras escaneadas, solo existieron dos experimentos donde se pudo dar un seguimiento ya que se determinó la digestibilidad fecal e ileal, en las Figura 6 a 9 se muestra como los espectros de heces en la región 2200-2500nm ( $4500$ - $4000\text{ cm}^{-1}$ ) son superiores que los del contenido ileal, pero en la región 1000-2200 ( $10000$ - $4500\text{ cm}^{-1}$ ) fueron superiores los espectros en las muestras del contenido ileal.

### 6.2 Heces

De las 222 muestras se eliminaron 20 muestras resultando 202 muestras para la ecuación de calibración, la eliminación de estas muestras fue por “outlier” o que tuvieron una distancia mayor a la  $t > 2.5$ . El rango para analizar los espectros en el NIRS se utilizó solo la región de  $4057$ - $6086\text{ cm}^{-1}$  (longitud de onda) y el tratamiento matemático para las heces fue 1-4-11-5, el resumen de los estadísticos generados por el NIRS se encuentra en el Cuadro 10.

Materia seca. La media y desviación estándar para la materia seca fueron de 93.44 y 2.48 respectivamente con valores mínimos de 77.69 y máximos de 97.50. El coeficiente de correlación

para materia seca fue 0.93 con una  $R^2$  de 0.87 (Figura 10), los errores estándar de predicción (SEP), calibración (SEC) y validación cruzada (SECV) fueron 1.15, 0.82 y 1.39 respectivamente. Su RPD fue de 1.78 y DE/EEP de 2.15.

Proteína. Su media y desviación estándar fueron de 20.04 y 6.66 respectivamente, mostrando valores mínimos de 4.50 y máximos de 34.75. Su coeficiente de correlación fue de 0.98 con una  $R^2$  de 0.97 (Figura 11). El valor obtenido para SEP fue 1.19, para SEC 0.95, y para SECV 1.60. Los estadísticos para RPD y DE/EEP fueron muy superiores a 4, obteniendo valores de 5.79 y 5.59 respectivamente.

Energía. La media fue de 4445.43, y una desviación estándar de 268.78; el valor mínimo fue de 3469.40 y el máximo de 5323.90. El coeficiente de correlación fue alto 0.96 así como la  $R^2$  0.93 (Figura 12). Los resultados para los errores fueron para SEP 95.3, SEC 60.8 y SECV 106.31. Los resultados obtenidos para RPD fueron de 2.52 y para DE/EEP 2.82.

Parámetro	Desviación Estándar	Media	$R^2$	SEC	SEP	SECV	DE/SEP	RPD
MS %	2.48	93.43	0.87	0.83	1.15	1.39	2.16	1.78
Proteína, % de MS	6.65	20.05	0.98	0.95	1.19	1.60	5.59	4.16
Energía, kcal/kg MS	268.65	4444.36	0.94	60.80	95.30	106.31	2.82	2.53

Cuadro 10. Estadística descriptiva de los resultados de laboratorio y estadísticos del NIRS de muestras de heces.

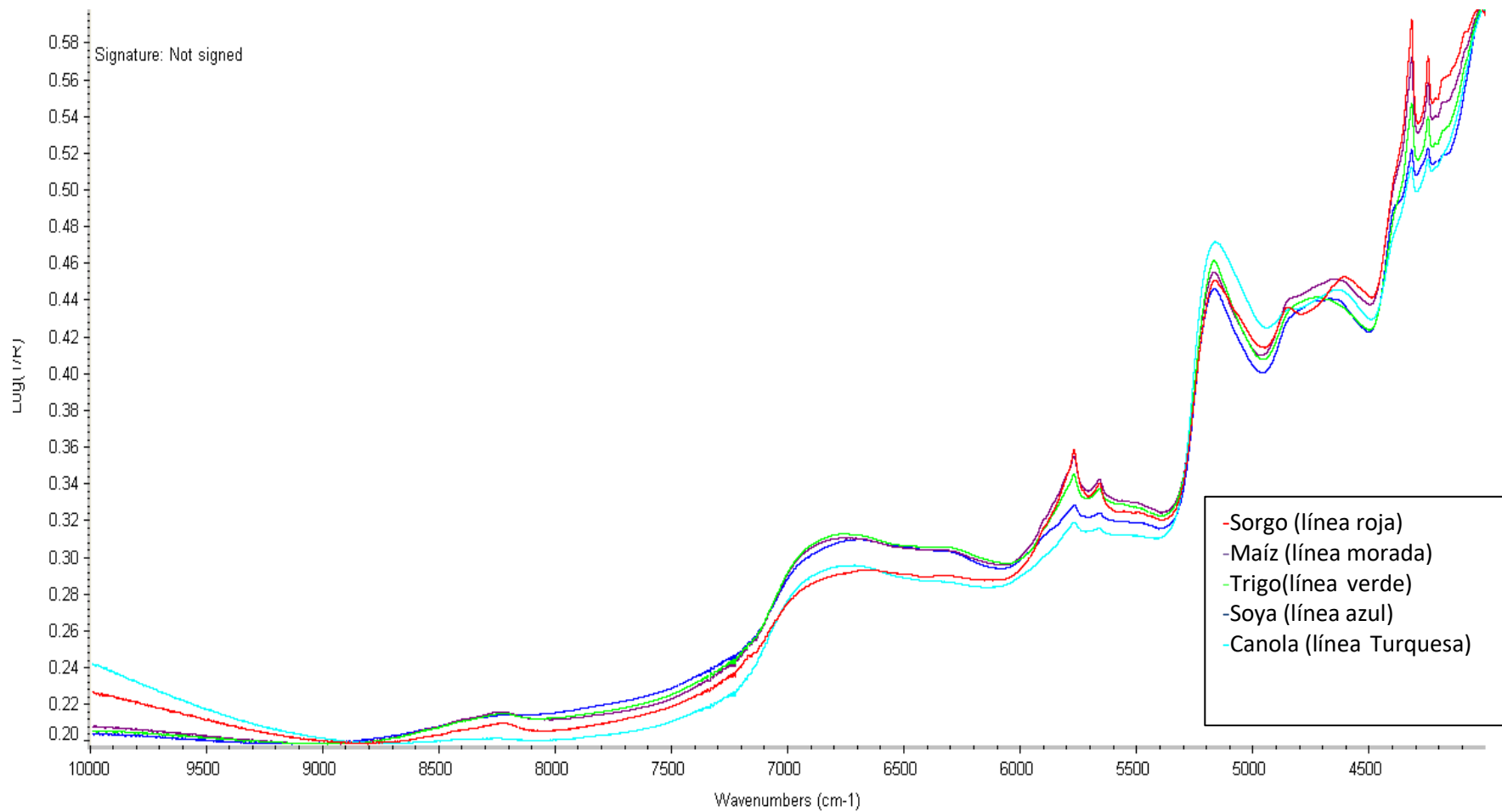


Figura 4. Espectro de muestras de heces de cinco diferentes ingredientes.

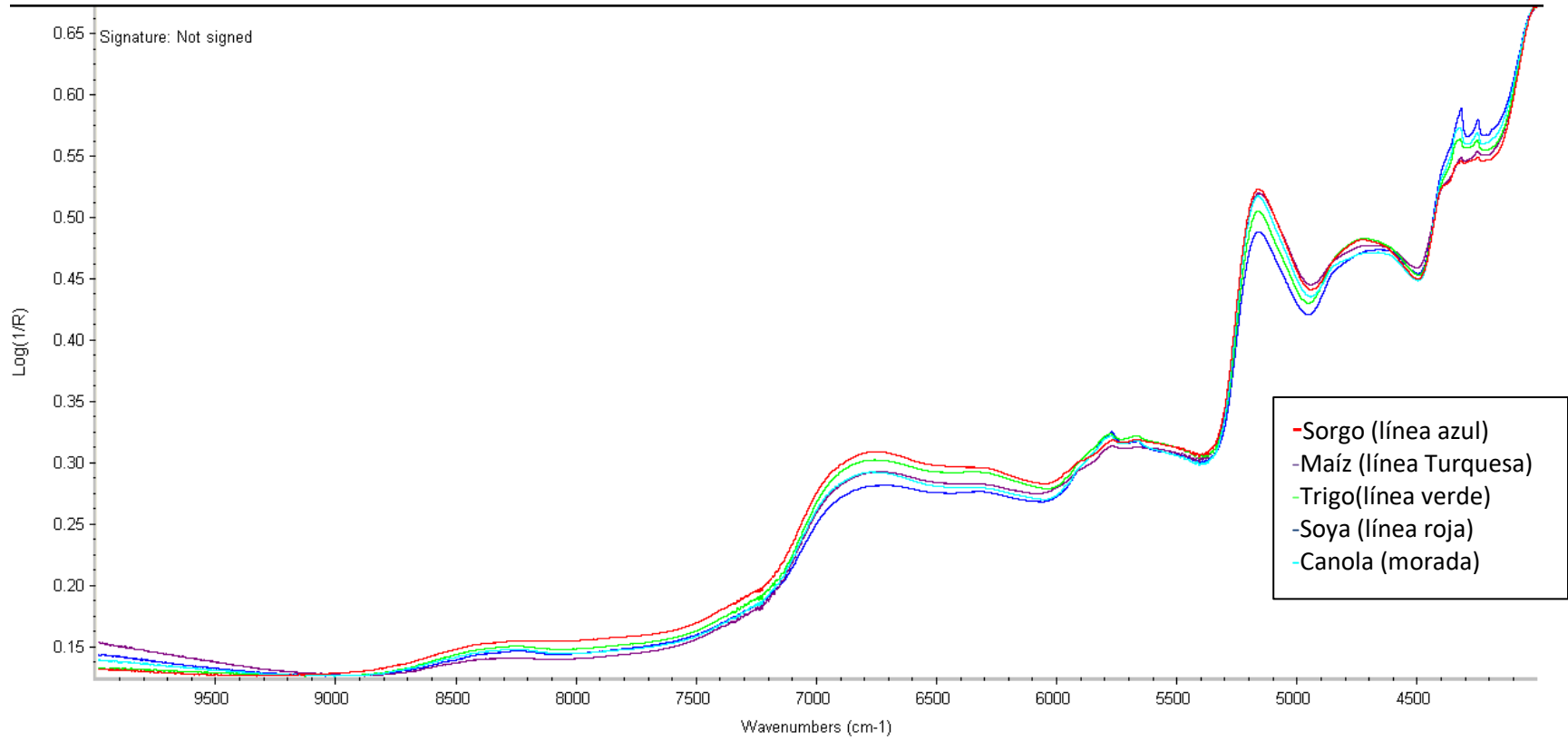


Figura 5. Espectro de contenido ileal de cinco diferentes ingredientes.

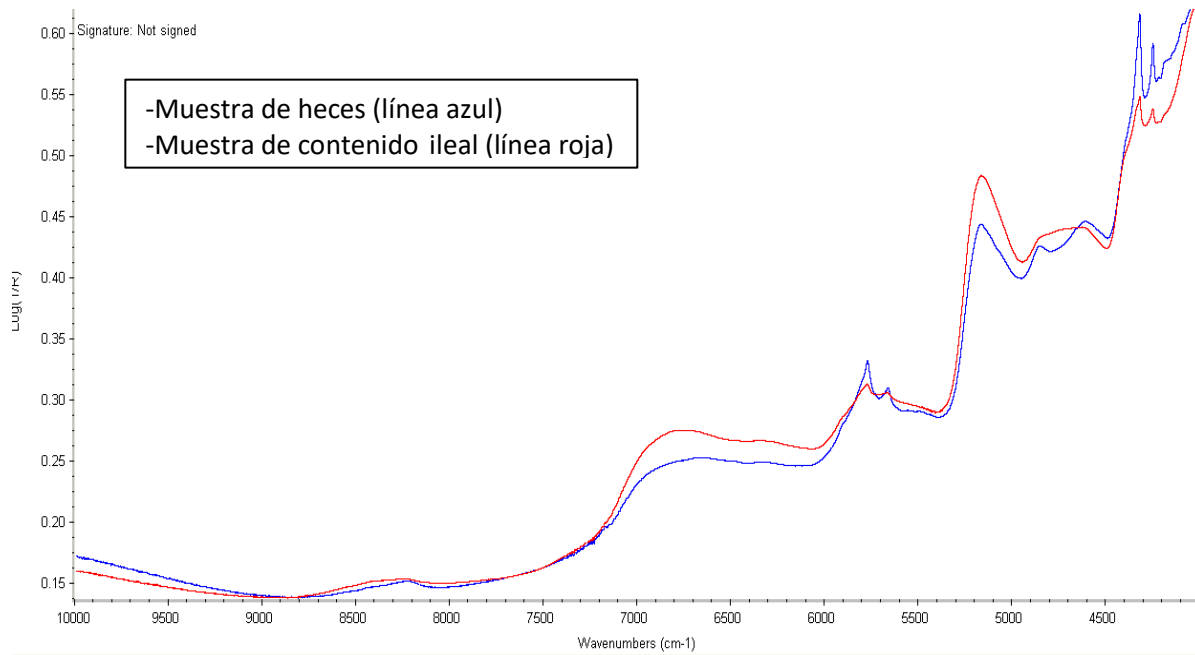


Figura 6 . Espectro de muestras de contenido ileal y de heces de una misma dieta experimental ingrediente Sorgo.



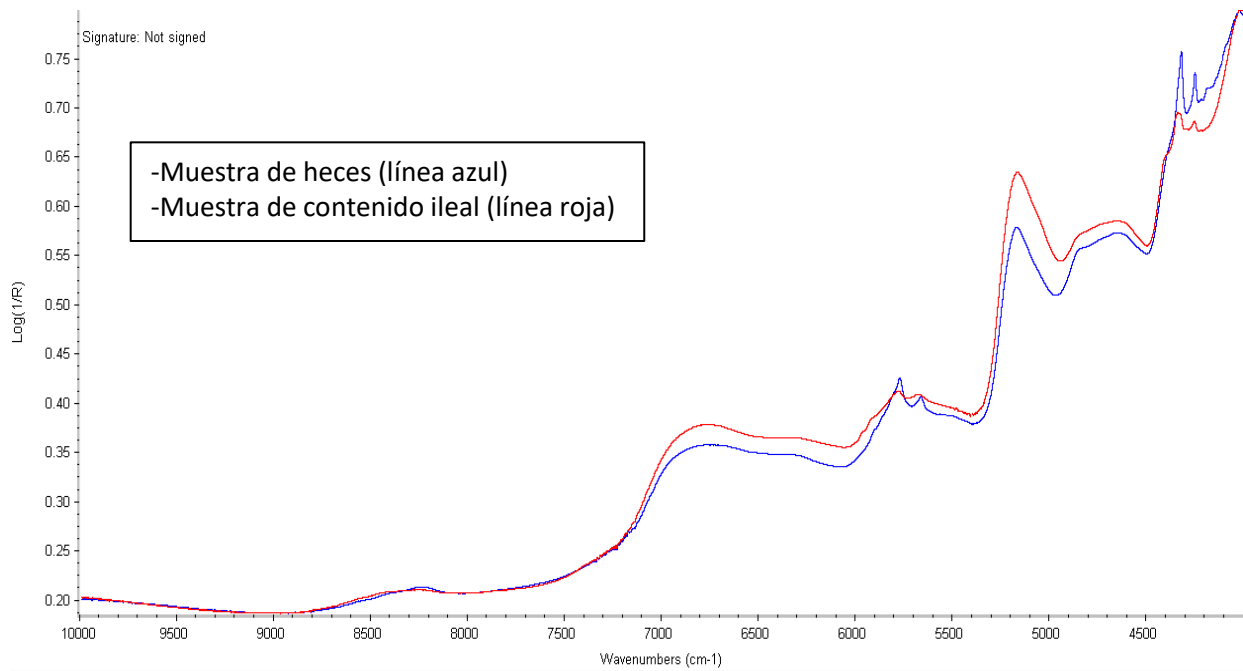


Figura 7. Espectro de muestras de contenido ileal y de heces de una misma dieta experimental con ingrediente Maíz.

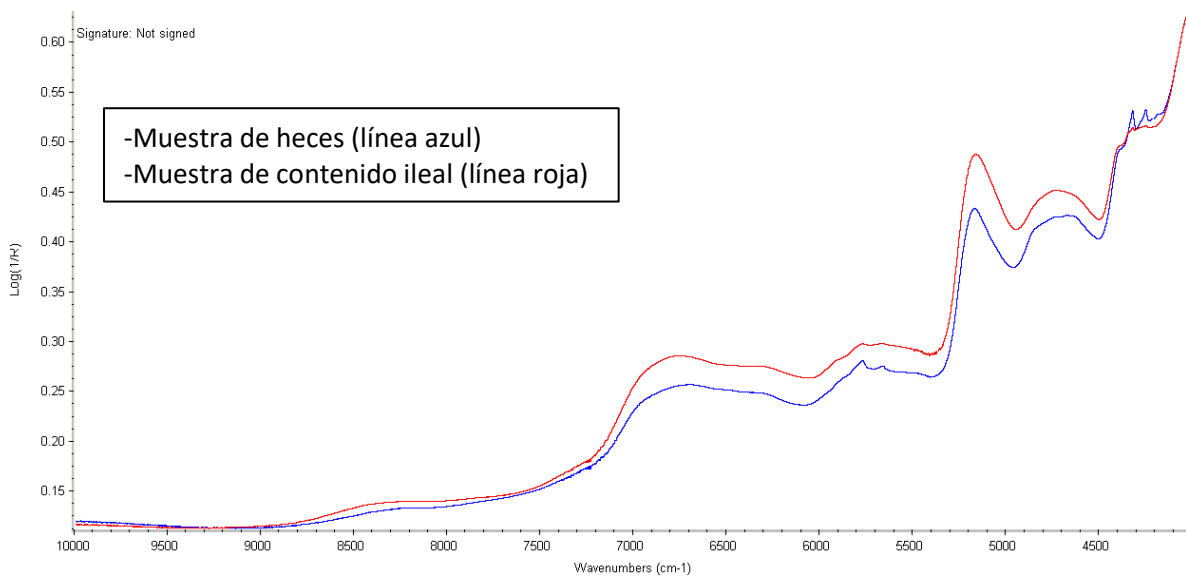


Figura 8. Espectro de muestras de contenido ileal y de heces de una misma dieta experimental ingrediente Soya.

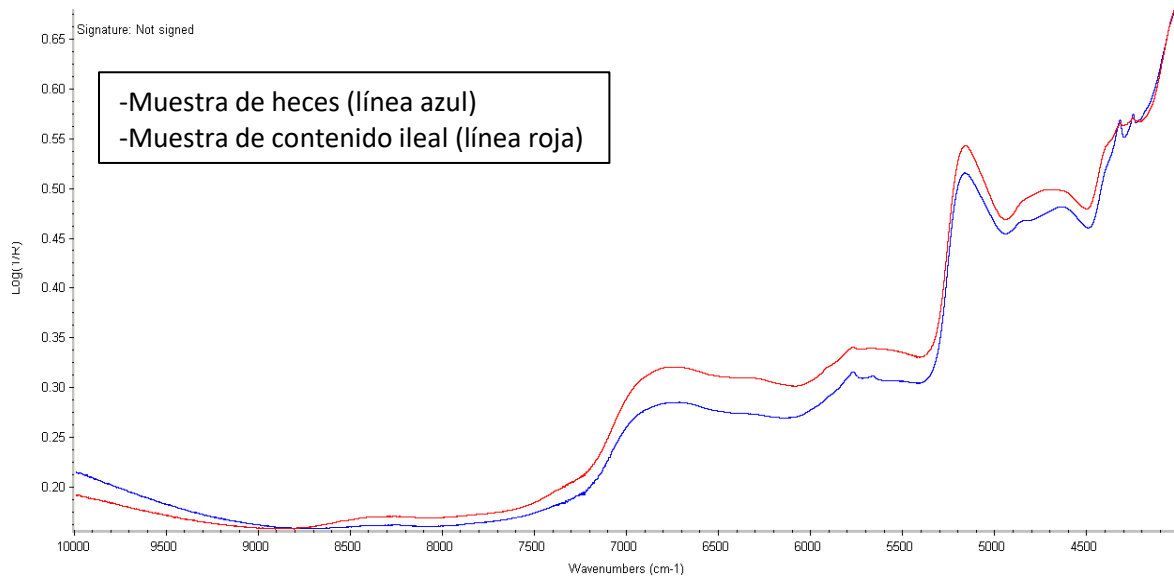


Figura 9. Espectro de muestras de contenido ileal y de heces de una misma dieta experimental ingrediente Canola.

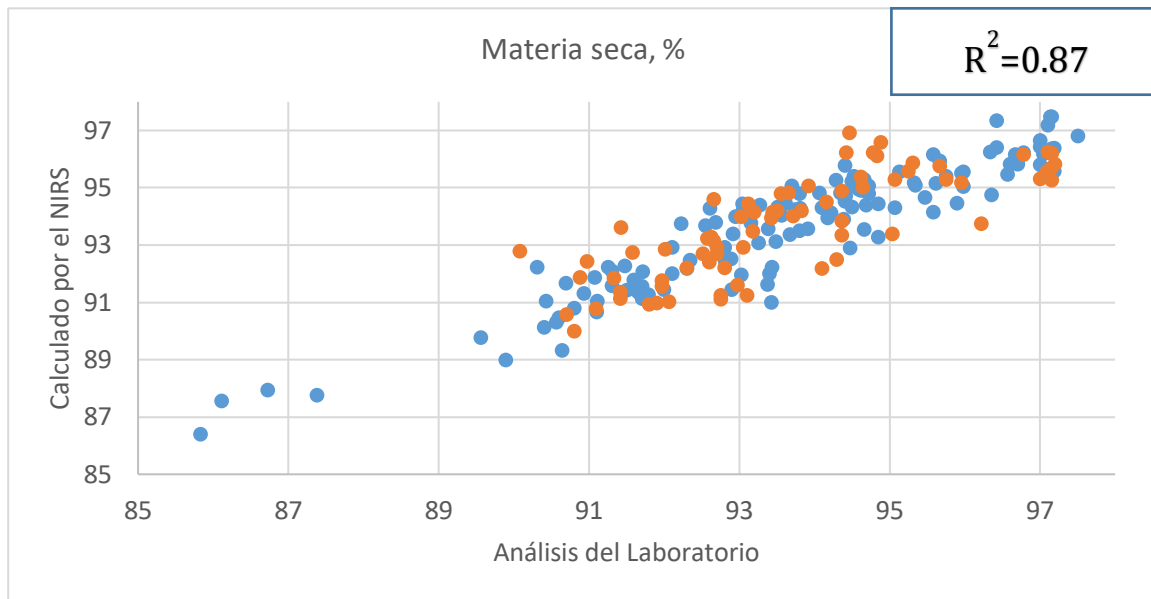


Figura 10. Coeficiente de correlación para materia seca de valores analizados por el laboratorio y los predichos por el NIRS en muestras de heces.

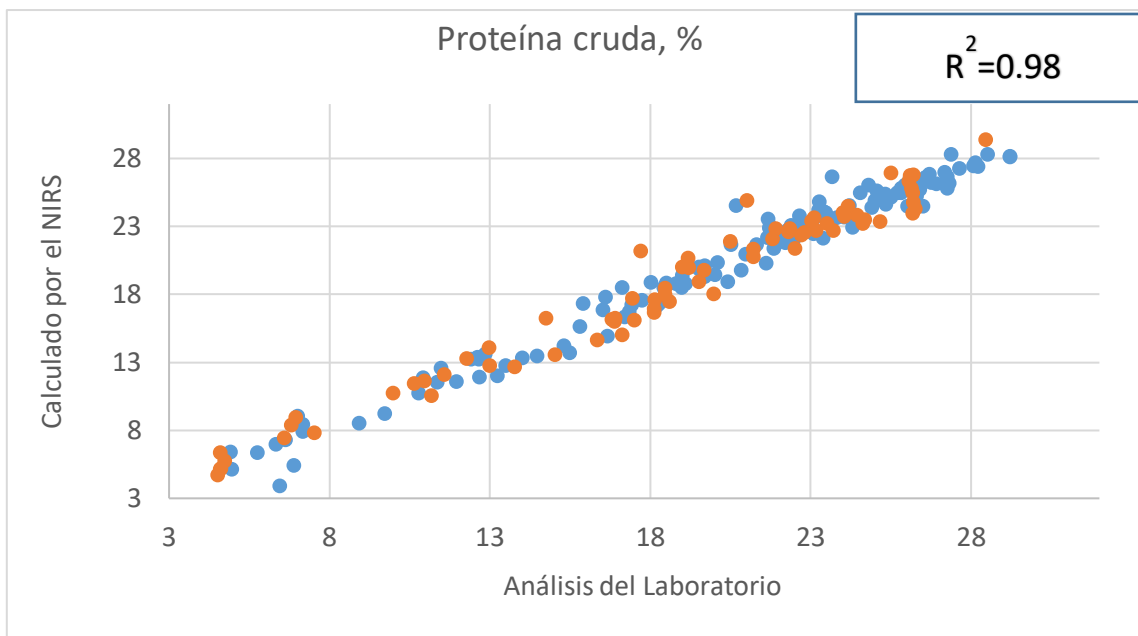


Figura 11. Coeficiente de correlación para proteína cruda de valores analizados por el laboratorio y los predichos por el NIRS en muestras de heces.

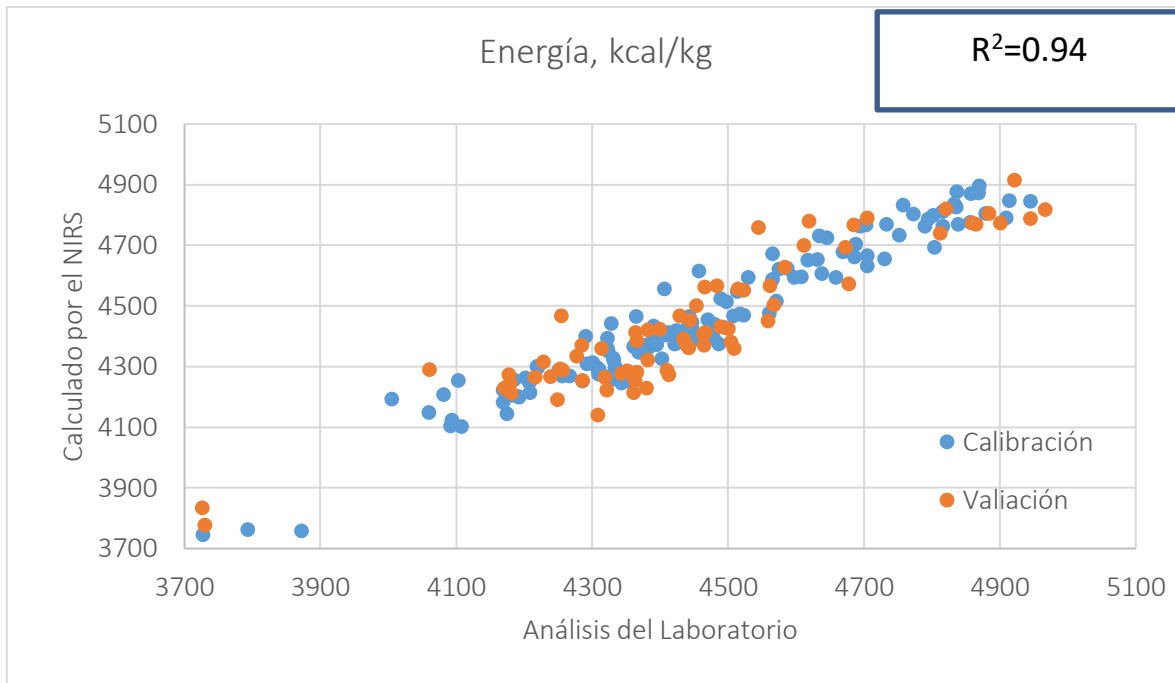


Figura 12. Coeficiente de correlación para energía de valores analizados por el laboratorio y los predichos por el NIRS en muestras de heces.

### 6.3 Contenido ileal

Se realizaron dos calibraciones, en las dos calibraciones se contó con 119 muestras de las cuales se eliminaron 9, la eliminación de estas muestras fue por "outlier" o que tuvieron una distancia mayor a la  $t > 2.5$ , resultando en 110 muestras. El modelo que generó los mejores resultados fue al utilizar los cuadrados mínimos parciales y en la región de  $6085 - 4005 \text{ cm}^{-1}$  (longitud de onda), el resumen de los estadísticos generados por el NIRS para la calibración primera se encuentra en el Cuadro 11 y la segunda calibración se encuentra en el Cuadro 12.

Proteína. La media y la desviación estándar para proteína fueron de 15.57 y 2.15 respectivamente con valores mínimos de 9.8 y máximos de 23.3. El coeficiente de correlación para proteína fue de 0.98 con una  $R^2$  de 0.98 (Figura 13), los errores estándar para predicción (SEP), calibración (SEC) y

validación cruzada (SECV) fueron 0.64, 0.33 y 1.02 respectivamente. Su RPD fue de 2.11 y DE/EEP de 3.34.

Treonina. La media y la desviación estándar para treonina fueron de 0.71 y 0.36 respectivamente con valores mínimos de 0.22 y máximos de 2.13. El coeficiente de correlación para treonina fue 0.82 y un  $R^2$  de 0.67 (Figura 14), los errores estándar para predicción (SEP), calibración (SEC) y validación cruzada (SECV) fueron 0.187, 0.209 y 0.230 respectivamente. Su RPD fue de 1.57 y DE/EEP de 1.57.

Leucina. La media fue de 0.85, y la desviación estándar de 0.21, el valor mínimo fue de 0.21 y el máximo de 1.31. El coeficiente de correlación fue alto 0.976 así como la  $R^2$  0.95 (Figura 15). Los resultados para los errores fueron para SEP 0.102, SEC 0.040 y SECV 0.123. Los resultados obtenidos para RPD fueron de 2.07 y para DE/EEP fue de 1.70.

Lisina. La media fue de 0.58, desviación estándar de 0.29, el valor mínimo fue de 0.09 y el máximo de 1.82. El coeficiente de correlación fue alto 0.965 así como la  $R^2$  0.93 (Figura 16). Los resultados para los errores fueron para SEP 0.143, SEC 0.077 y SECV 0.217. Los resultados obtenidos para RPD fueron de 1.31 y para DE/EEP fue de 2.00.

La segunda calibración se realizó con el mismo procedimiento y estadísticos como se describe en el párrafo anterior, pero solo se utilizó lisina. Los resultados demuestran una mejora en los estadísticos de SE/SEP y RPD y una disminución mínima (un punto porcentual) para la  $R^2$ . La media, desviación estándar, y los valores mínimos y máximos fueron los mismos descritos en el párrafo anterior. El coeficiente de correlación fue alto 0.958 así como la  $R^2$  0.92 (Figura 17). Los resultados para los errores fueron para SEP 0.115, SEC 0.070 y SECV 0.137. El resultado obtenido para RPD fue de 2.48 y para DE/EEP fue de 2.08 (Cuadro 12).

Parámetro	Desviación Estándar	Media	R <sup>2</sup>	SEC	SEP	SECV	DE/SEP	RPD
Proteína, %	2.15	15.57	0.97	0.33	0.64	1.02	3.34	2.11
Treonina, %	0.36	0.71	0.67	0.209	0.187	0.230	1.94	1.57
Leucina, %	0.21	0.85	0.95	0.040	0.102	0.123	2.07	1.70
Lisina, %	0.29	0.58	0.93	0.077	0.143	0.217	2.00	1.31

Cuadro 11. Estadística descriptiva de los resultados de laboratorio y estadísticos del NIRS de muestras de contenido ileal (primera calibración).

Parámetro	Desviación Estándar	Media	R <sup>2</sup>	SEC	SEP	SECV	DE/SEP	RPD
Lisina, %	0.29	0.58	0.92	0.070	0.115	0.137	2.48	2.08

Cuadro 12. Estadística descriptiva de los resultados de laboratorio y estadísticos del NIRS de muestras de contenido ileal (segunda calibración).

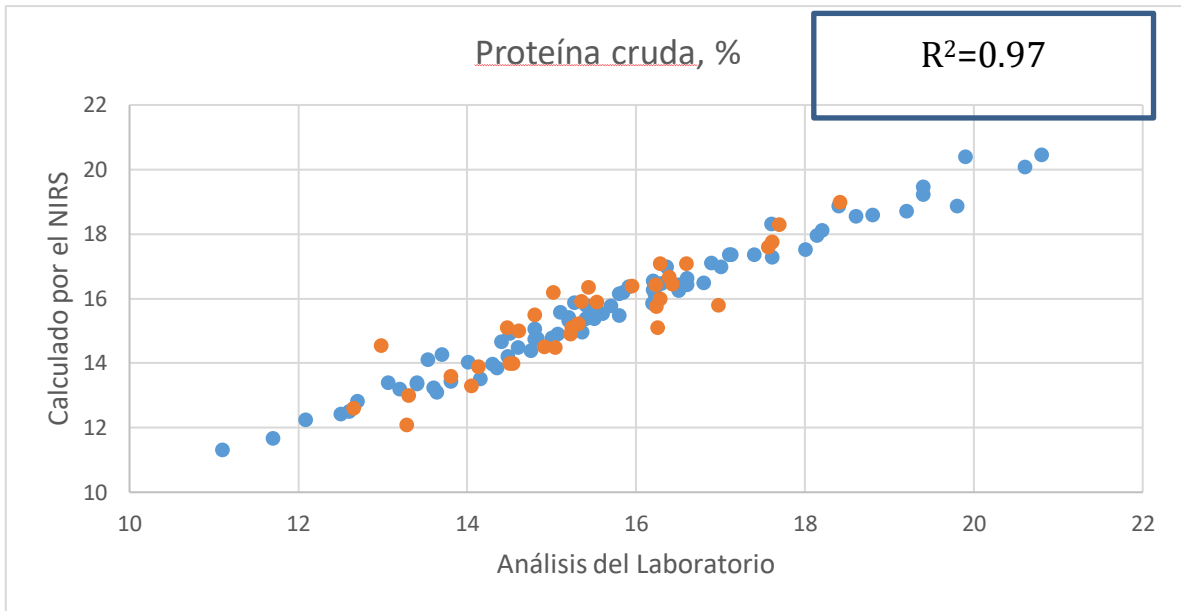


Figura 13. Coeficiente de correlación para proteína cruda de valores analizados por el laboratorio y los predichos por el NIRS en muestras de contenido ileal.

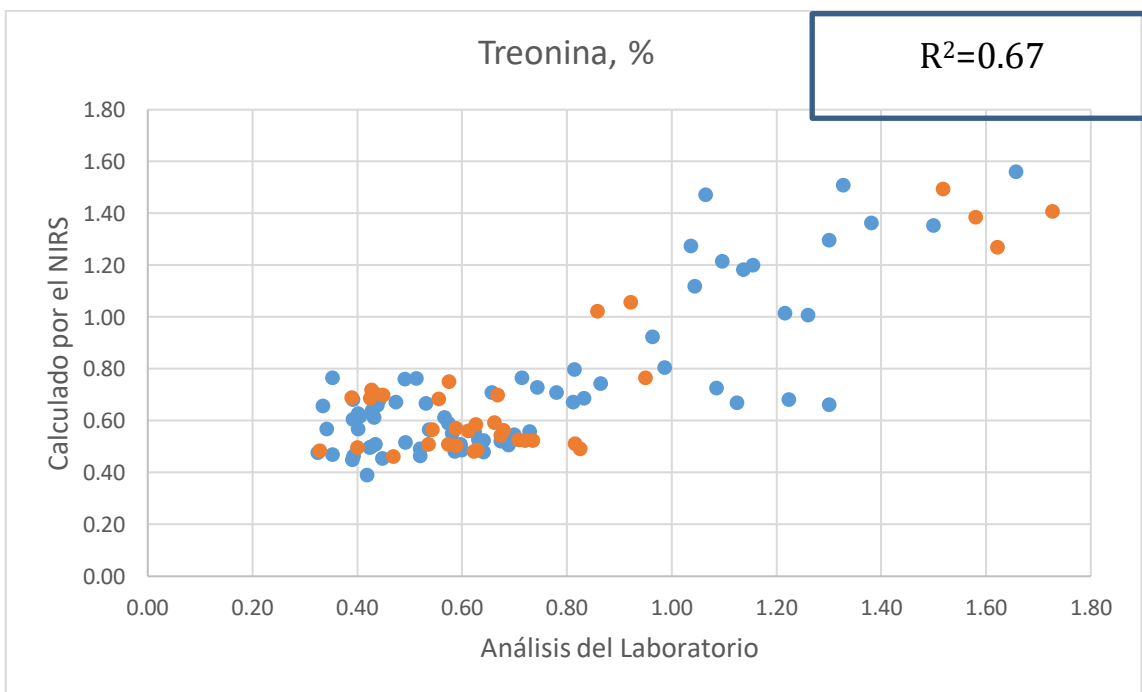


Figura 14. Coeficiente de correlación para treonina de valores analizados por el laboratorio y los predichos por el NIRS en muestras de contenido ileal

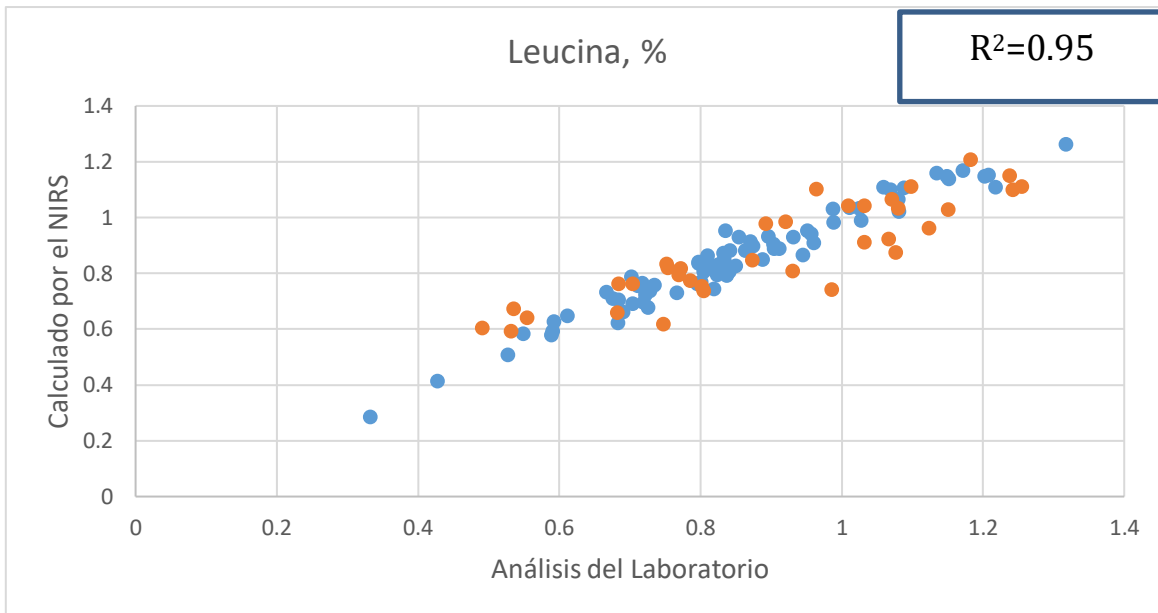


Figura 15. Coeficiente de correlación para leucina de valores analizados por el laboratorio y los predichos por el NIRS en muestras de contenido ileal.

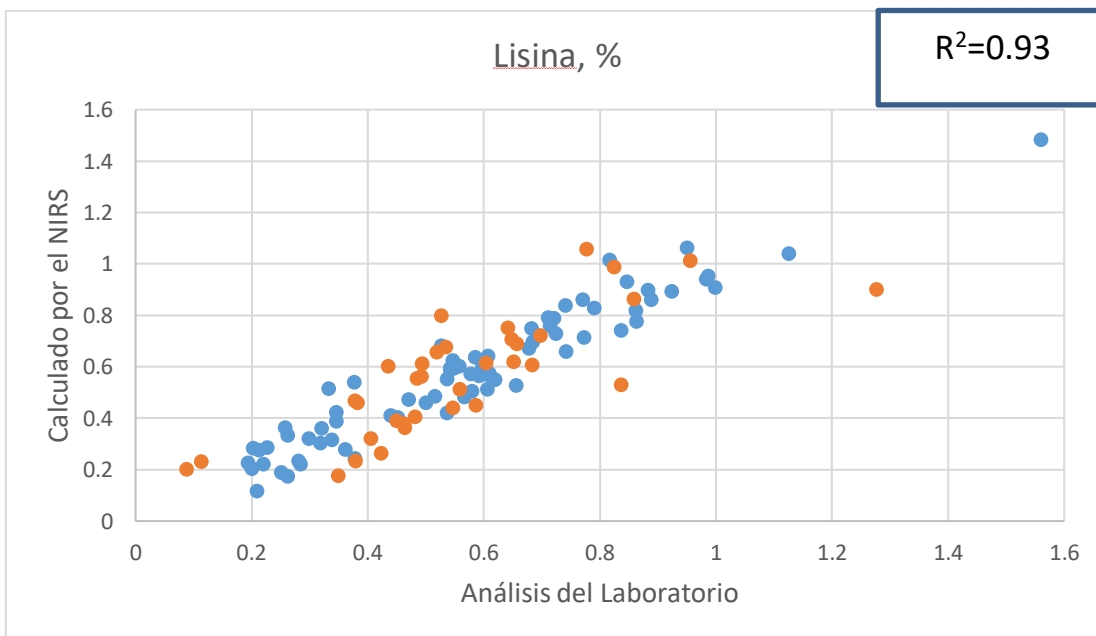


Figura 16. Coeficiente de correlación para lisina de valores analizados por el laboratorio y los predichos por el NIRS en muestras de contenido ileal (primera calibración).



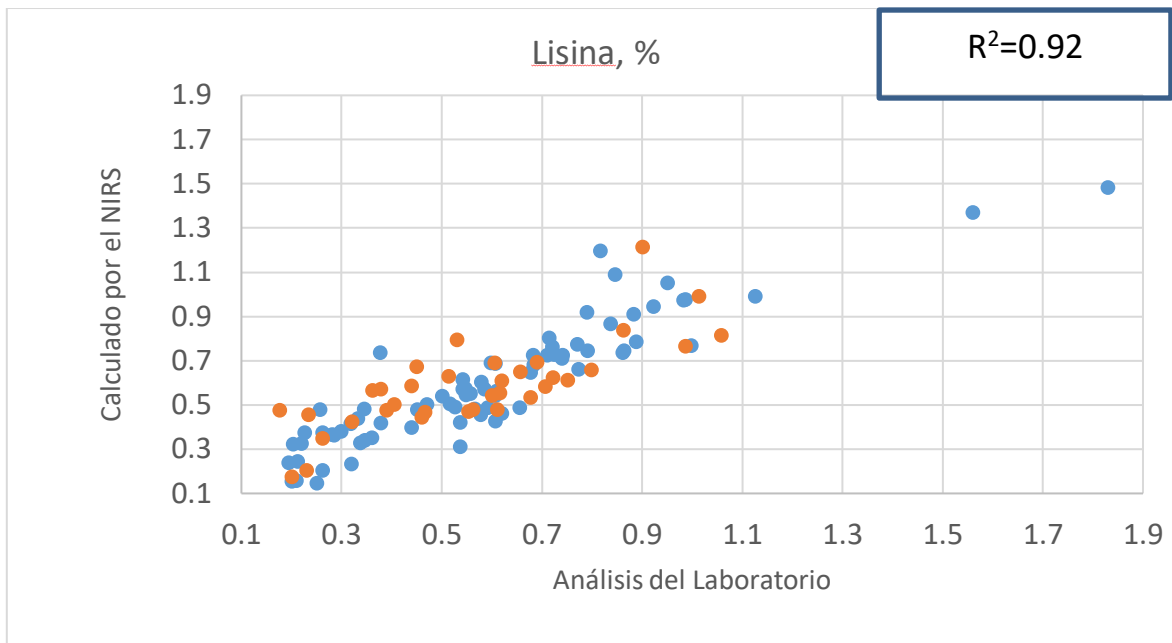


Figura 17. Coeficiente de correlación para lisina de valores analizados por el laboratorio y los predichos por el NIRS en muestras de contenido ileal (segunda calibración).

#### 6.4 Comparación NIRS y laboratorio

La determinación de materia seca es la determinación menos cara 60 pesos, el costo de la determinación de energía y proteína se estimó en 270 pesos por nutriente. El costo para los tres constituyentes fue de 200 pesos al emplear el NIRS. El utilizar el NIRS para predecir los tres constituyentes redujo un 66.66% el costo total. En el Cuadro 13 se resume el costo por muestra con su repetición.

Se escanearon un total de 341 muestras en el NIRS, el tiempo de escaneo por muestra fue de 3 a 4 minutos con la característica que se escanea 70 veces esa misma muestra y con el propósito de predecir tres constituyentes. En el caso de los análisis de laboratorio la determinación de la materia seca requiere de al menos 3 horas (método rápido) o hasta 18 horas (método lento); el tiempo

empleado en la determinación de la energía con su repetición fue de 40 minutos y para la proteína fue de 4 horas, en las dos últimas técnicas se está tomando en consideración la preparación de la pastilla para determinar energía y el tiempo para preparar los reactivos en el caso de proteína, en el Cuadro 14 se muestran los resultados.

Costo por muestra (con su repetición).		
	NIRS.	Laboratorio
Materia Seca		60
Energía		270
Proteína		270
<b>Total</b>	<b>200</b>	<b>600</b>

Cuadro 13. Comparación de costos al usar el NIRS y el laboratorio para tres constituyentes.

Tiempo por muestra (con su repetición).			
	NIRS.		Laboratorio
Materia Seca		3 horas	18 horas
Energía		40 min	40 min
Proteína		4 horas	4 horas
<b>Total</b>	<b>3 min</b>	<b>7:40 min</b>	<b>22:40 min</b>

Cuadro 14. Comparación de tiempos de proceso para obtener resultados de tres constituyentes

## 7. DISCUSIÓN

### 7.1 Espectros

La obtención de los espectros generados para la longitud de onda fue correcta, Basurto et al., (2012) adjunta información de Wehlin (1998) donde él organizó los constituyentes y los compuestos químicos que absorben la luz en relación de la longitud de onda, los resultados del presente estudio estuvieron de acuerdo con esa clasificación. La composición o el arreglo de enlaces químicos de una muestra hacen que sean diferentes los espectros y por lo tanto únicos, esto se aprecia muy bien en las Figuras 4 y 5 mostrando diferente absorbancia para cada ingrediente no importando que se trate de muestras de heces o de contenido ileal, esta diferencia se debe a la estructuración y arreglo de los enlaces de cada muestra (Tester et al., 2004). En la región 1450nm y 1900nm correspondiente a los enlaces químicos de O-H (Saeys et al., 2005b), las presentes mediciones se obtuvieron estos mismos resultados, interesantemente se observaron mayores picos en estas regiones para muestras de contenido ileal que en heces, al revisar el comportamiento de los análisis del laboratorio se observó que las muestras de contenido ileal tuvieron mayor humedad y por ello mayores picos en esta región que las muestras de heces. Las muestras de heces y contenido ileal fueron escaneadas para generar los espectros con el método de reflectancia. Saeys et al (2005b) mostró cómo las características de las muestras (gaseoso, líquido o seco) tienen un efecto importante al generar los espectros y por ende los resultados, ellos mostraron que el método por reflectancia fue el mejor para las muestras, por lo tanto, nuestro método fue el adecuado y concuerda con otros trabajos (Schiborra et al., 2015, Bastianelli et al., 2015 De la Roza., 2015 Nirea et al., 2018)

### 7.2 Heces

En los últimos años el uso del NIRS se ha incrementado con la finalidad de predecir la composición, digestibilidad e incluso metabolización de ingredientes enfocado a la nutrición porcina, sin embargo,

al realizar la revisión de literatura para el presente estudio sólo se hallaron 5 publicaciones relacionadas a este tema, todos esos trabajos no tienen más de cinco años de haberse publicado. Los resultados del presente trabajo para predecir la composición química en las heces fueron superiores o iguales de los trabajos publicados por: Schiborra et al., (2015), Bastianelli et al., (2015) De la Roza., (2015) Nirea et al., (2018) y Hu et al., (2019); además con los resultados del presente estudio se comprueba que la predicción MS, PC y E al utilizar el NIRS es una herramienta que los centros de investigación pueden utilizar con la finalidad de abaratar costos de los experimentos e incrementar el desarrollo del conocimiento.

En este trabajo para realizar la calibración, validación y predicción se utilizaron muestras de heces provenientes de 8 diferentes experimentos con diferentes dietas experimentales, la diversidad de las materias primas utilizadas en las dietas ocasionó que existiera una mayor variación en la base de datos, como sucedió en los rangos de los nutrientes como la proteína y energía (Cuadro 6), por tanto, es el primer estudio que contiene una gran cantidad de dietas experimentales y este factor ocasionó gran variación. Algo de importancia es que todos los ingredientes y dietas que se utilizaron en las diferentes dietas experimentales son ampliamente utilizados en la producción porcina.

#### Materia seca

La composición de las muestras es afectada según el órgano en que se colectan (ileal o fecal) debido al proceso de digestión y de fermentación al que se someten a través del tracto gastrointestinal, Mariscal et al., (2014b) obtuvieron una mayor digestibilidad de la materia seca al comparar la digestibilidad aparente del tracto total (88.6%) y la digestibilidad ileal aparente (87.7%) al usar una dieta maíz-soya, en ambos casos para obtener estos resultados se determinó la cantidad de materia seca tanto en alimento, heces y contenido ileal, en el caso de las heces y contenido ileal se registraron valores más altos de materia seca en heces, ya que aunque gran parte de agua es

absorbida en el intestino delgado (60%), la cantidad restante es absorbida en el intestino grueso (Argenzio 2004), en el presente estudio las muestras con mayor materia seca fueron provenientes de heces y con menor cantidad las de contenido ileal, por otra parte esta mejora casi de 1% en la materia seca es debido a los procesos fermentativos que ocurren en el intestino grueso (Bach Knudsen et al., 2012), la composición de las muestras en heces es mayor que a nivel ileal aparente. Otro factor que altera la materia seca y la composición en heces es el tipo de fibra (Jha y Berrocoso 2015, 2016).

El contenido de materia seca es afectado por la cantidad de humedad dentro de la muestra. El contenido de humedad tiene un impacto directo a la hora de generar un espectro, ya que el agua incrementa la absorción de la luz produciendo una mayor absorción en todo el espectro, por otro lado, las partículas sólidas hacen que la luz sea reflejada disminuyendo la absorción y generan mayores picos, por ejemplo, la región 1450 nm y 1900 nm corresponde a los enlaces químicos de O-H, por lo tanto, muestras más sólidas ocasionan picos más pronunciados en estas regiones, estos picos se presentaron en el presente estudio. El escanear las muestras en el NIRS depende de sus características físicas, en este estudio se utilizó la reflectancia para la materia seca ya que el tipo de nuestras muestras eran sólidas, y el modo de escanear así fue el más adecuado y concuerda con otros trabajos (Saeys et al., 2004). Aunque la MS es de suma importancia para ajustar los nutrientes excretados y determinar la digestibilidad, no encontramos ningún trabajo para predecir la materia seca, este es el primer estudio en el que se predice la MS.

Para medir qué tan exacto fue la calibración se utilizó  $R^2_c$  el cual fue de 0.87, este resultado indica que la calibración puede utilizarse en otros estudios de acuerdo con la clasificación de Williams (2003), en el caso del error la calibración fue de 8.3 g/kg MS. Por otro lado, el error de predicción fue de 11.5 g/kg y se obtuvo un RPD de 1.78, de acuerdo con Saeys et al., (2004) este valor indica que es posible realizar una aproximación cuantitativa de la materia seca en muestras de heces. Los

valores relativamente bajos de predicción obtenidos para la materia seca comparados con los valores de proteína y energía se debe a: Primero, como se mencionó, las muestras que escaneamos fueron de experimentos que previamente se habían analizado para determinar la digestibilidad, por lo que las muestras más viejas estaban almacenadas por seis años, aunque estas muestras estaban almacenadas y cerradas en botes de plástico, seguían siendo susceptibles a que absorbieran la humedad del medio ambiente. Recientemente Akakpo et al., (2020) evaluaron el tipo de empaquetado y lugar de almacenamiento de granos por 120 días para ver si esto afectaba la composición nutrimental, estos autores concluyen que la duración de almacenamiento y el tipo de empaquetado provocó una pérdida en el contenido de materia seca. La materia seca es muy susceptible a la temperatura ambiental y puede alterar su composición, este segundo factor está ligado al primero, ya se utilizaron las temperaturas y condiciones que se registraron años atrás al momento que se realizaron los experimentos, por otra parte, el NIRS lee las muestras y registra las características al momento del día que son escaneadas, y al hacer la revisión de espectro por espectro en la región para los enlace O-H se observaron cambios, por ejemplo hubo muestras que el análisis del laboratorio indicaba mayor contenido de materia seca pero en su espectro presentaban mayores picos de O-H (mayor humedad). Garnsworthy et al., (2000) evaluaron 156 muestras de grano de trigo con la finalidad de predecir su valor nutricional y características físicas, lo que realizaron fue comparar si existía un cambio al utilizar los valores obtenidos al momento que se realizó el experimento comparándolos con los valores obtenidos al momento de ser escaneados en el NIRS, ellos observaron principalmente para materia seca, que al utilizar los valores obtenidos en experimentos previos (4 años atrás) obtuvieron un  $R^2_c$  muy bajo 0.51 y un error mayor, y al analizar las muestras y utilizar el contenido de materia seca antes de ser escaneadas en el NIRS, se incrementó el  $R^2_c$  a 0.94 y disminuyó el error, estos cambios no siguieron el mismo comportamiento en la proteína. Saeys et al., 2004 también confirmaron esto al escanear muestras y no volver a

analizar y utilizar los valores recientes, afecta los resultados generados por el NIRS. Una solución a dicho problema es reanalizar las muestras que se desee predecir (materia seca) si fueren muestras almacenadas y al finalizar los recientes análisis de laboratorio escanearlos en el NIRS para tener mejores predicciones (Reeves 2001). El tercer y último factor es la diferencia de la variación de los análisis determinados por el laboratorio para materia seca, que fue menor (2.48% o 24.8g/kg) comparada con proteína (6.65% o 66.5g/kg) o para el caso de energía (269kcal/kg MS), esta desviación tan cerrada para materia seca hace que al absorber humedad salgan rápido de esta variación por lo que si suman los dos factores descritos anteriormente junto con este último factor de error, la predicción aumenta y puede afectar los resultados.

## Energía

Evaluar la energía bruta de las heces ayuda a medir la digestibilidad de ésta, ya que en las heces existe contenido calórico que puede ser analizado, sin embargo, existen muy pocos trabajos donde determinan la energía bruta en las heces a través de NIRS. La predicción de energía se logra gracias a los enlaces orgánicos de C-H presentes en las muestras y el NIRS tiene la capacidad de absorber en longitud de onda (1100, 1600, 1700-1800, 2000 y 2200-2400nm) dichos enlaces, generando espectros y predicciones confiables (García-Sánchez et al., 2017). En el presente trabajo la región en la que se observaron picos para estos enlaces fueron 1695-1785nm ( $5900-5600\text{cm}^{-1}$ ) y 2325-2439nm ( $4300-4100\text{cm}^{-1}$ ), estos picos están de acuerdo con Wehlin (1998). Por su parte, en un experimento (Cintya Lujan 2014) en el que determinó la digestibilidad fecal e ileal tanto de cereales y oleaginosas los mayores picos de absorbancia correspondientes a los cereales, por ejemplo el mayor pico espectral y valor de energía fue para el sorgo con 4733 kcal/kg MS, seguido de maíz con 4684 kcal/kg MS, trigo 4248 kcal/kg MS, soya 4179 kcal/kg MS y finalmente Canola 3729 kcal/kg MS, este mismo orden también se reflejó en los espectro del presente estudio (Figura 4). Los picos de absorción de energía (C-H) encontrados en heces fueron superiores a los de contenido ileal. El

contenido de energía en una muestra es aportado por carbohidratos, lípidos y proteína y esta energía es generada por la oxidación de compuestos orgánicos (Kil et al., 2013 y Velayuhan et al., 2015). Se sabe que los sustratos que no pueden ser digeridos son fermentados en el intestino grueso o excretados en las heces, las pérdidas endógenas, partes de fibra, el tiempo de retención por el animal o productos microbianos (De Lange et al., 1989), concluyen que existen muchos factores que afectan los valores de energía en el intestino grueso y por lo tanto incrementan los valores de energía, por ello hay mayores picos en los espectros a partir de muestras de heces que a nivel ileal. Los resultados obtenidos en el presente estudio para la calibración fueron excelentes, el  $R^2_c$  fue de 0.94, el cual indica que la calibración es excelente y se puede utilizar (Williams 2003). Los resultados del presente estudio estuvieron de acuerdo con lo reportado por De la Roza et al (2015) y Nirea et al., (2018) obteniendo 0.94 y 0.92 respectivamente. Por otro lado, para la predicción de la energía se obtuvo un RPD de 2.52, este resultado indica que es posible hacer predicciones cuantitativas.

#### Proteína

La composición de las muestras es afectada por el lugar de colecta (ileal o fecal) debido al proceso de digestión y de fermentación que se someten a través del tracto gastrointestinal, existen enzimas endógenas que son secretadas en los diferentes órganos por ejemplo en el estómago se secretan Pepsinas y Quimosina (renina), en el intestino delgado Tripsina, Quimotripsina y Carboxipeptidasas tipo A y B que son secretadas por páncreas, estas enzimas actúan a diferentes pH, el objetivo es hidrolizar la proteína y producir aminoácidos que puedan ser absorbidos en el intestino delgado (Shimada 2007), además los aminoácidos que no son digeridos pasan al intestino grueso en donde las bacterias desnaturalizan la proteína utilizando los carbonos como fuente de energía, los grupos de nitrógeno son absorbidos por el intestino grueso, transportado al hígado y excretados como urea en la orina. (Holmes et al., 1974 y Wenkai 2013). Se ha reportado que gran parte de la cantidad de proteína en las heces es de origen bacteriano. Estos procesos mencionados tienen un efecto sobre



los valores de las muestras después de ser analizados y por lo tanto al generar el espectro con NIRS es posible predecir su composición, por lo que el resultado del análisis y la predicción para proteína fue mayor en heces que a nivel ileal.

La estadística descriptiva para proteína en heces de cerdos, junto con la desviación estándar y los rangos fue mayor (66.5 g/kg y 45-348 g/kg) comparada con otros trabajos, Bastianelli *et al.*, (2015) (13.7 g/kg y 159-229 g/kg), Schiborra *et al.*, (2015) (29.6 g/kg y 123-278 g/kg) y Nirea *et al.*, (2018) (55.3g/kg y 52-71g/kg), esta variación es originada por los diferentes ingredientes utilizados en los diversos experimentos, por ejemplo Bastianelli *et al.*, (2015) tuvieron una menor variación debido a que todas las muestras que se utilizaron fueron provenientes de una sola dieta experimental (Noblet *et al.*, 2013). Los resultados del presente estudio indican una mayor variación, sin embargo, esta mayor variación hace que la calibración sea robusta, esto se aprecia con el  $R^2_c$  el cual es superior a los reportados en otros trabajos (0.98 vs 0.84, 0.88 y 0.89) e indica que la calibración fue excelente y puede utilizarse. El error para la calibración fue bajo 9.5 g/kg comparado con el de otros estudios que los trabajos reportados que osciló entre 11.8 y 18.1 g/kg, a excepción del trabajo por Schiborra *et al.*, (2015) ellos tuvieron 5 g/kg, debido a que las muestras de heces provenían de una sola dieta. Los resultados para  $R^2_c$  fueron ligeramente más altos en el presente estudio, comparados con los reportados en otras especies: ganado lechero 0.96 (Landau *et al.*, 2016), borregos 0.95 (Li *et al.*, 2007) y aves 0.82 (Reeves 2001).

El tener una mayor variación de muestras, hace que la calibración sea más robusta y por lo tanto la predicción sea más precisa (Reeves, 2000), esto mismo se refleja en los resultados del presente estudio ya que el error para predicción en este trabajo fue de 11.9 g/kg más bajo que los reportados en heces de cerdos de otros estudios, por otro lado, el RPD fue de 4.15, Saeys *et al.*, (2004) indicaron que con un valor superior a 3 la predicción es cuantitativa y excelente, por lo que el presente resultado para predecir proteína es confiable. El RPD fue superior a los reportados por Bastianelli *et*

al (2015), Schiborra et al., (2015) y Nirea et al., (2018), y es el primer trabajo con un RDP mayor a 3 con muestras de heces secas. En este estudio para proteína la región para enlaces N-H fue 2080-2220nm (4800-4500cm) y 1560-1670nm (6400-6000cm), estos resultaron estuvieron de acuerdo por Wehlin (1998).

### 7.3 Contenido Ileal.

#### Proteína y aminoácidos.

Se utilizaron 110 muestras de contenido ileal que se analizaron para realizar la calibración, validación y predicción. En los cuatro experimentos el cereal que predominó fue el sorgo. Los resultados generados con muestras de contenido ileal utilizando el NIRS es difícil discutirlos ya que no encontramos ningún otro estudio relacionado al tema, siendo este el primer trabajo, aunque hoy día la formulación precisa también se aplica para los aminoácidos y es de suma importancia para no crear excesos excretados en heces e incrementar los costos (Baoshi et al., 2018), existen pocos centros de investigación con instalaciones donde puedan coleccionar y determinar los aminoácidos del contenido ileal para realizar digestibilidad ileal ya que se requiere de instalaciones y equipo especializado lo cual aumenta el costo total de los experimentos, con estos dos puntos en mente es necesario crear bases de datos y usar el NIRS para predecir la composición del contenido ileal con la finalidad de disminuir los costos; esto puede ser factible (Ramaswamy et al., 2016). Esto hace que este trabajo sea de suma importancia ya que es el primer trabajo y los resultados fueron favorables para predecir la composición del contenido ileal con la excepción de treonina. Se tuvieron 110 muestras de contenido ileal que se utilizaron para realizar la calibración, validación y predicción. En los cuatro experimentos el cereal que predominó fue el sorgo.

El modo para escanear las muestras en el NIRS depende de sus características físicas, en nuestro caso utilizamos la reflectancia para las muestras de contenido ileal ya que las muestras eran sólidas,

por lo que el modo de escaneado fue el más adecuado y concuerda con otros trabajos (Fontaine et al., 2001, 2002 y Saeys et al., 2004). Las regiones para proteína (enlaces N-H) fueron 2080-2220nm (4800-4500cm) y 1560-1670nm (6400-6000cm), estos resultaron estuvieron de acuerdo por Wehlin (1998). La calidad de calibración para la proteína fue alta  $R^2_c$  0.97, lo cual indica que puede utilizarse (Williams 2003), además el error para la calibración de 3.3g/kg MS, por el lado de la predicción obtuvimos un RPD de 2.11 pudiendo con este valor obtener aproximaciones cuantitativas de predicción (Saeys et al 2004), el error en la predicción fue de 6.4 g/kg MS.

Como se discutió, el método de colecta modifica la composición de las muestras al ser analizadas, hay dos factores que afectan la cantidad de aminoácidos de la muestra a nivel ileal, el primero es que no todos los aminoácidos de la dieta son digeridos y el segundo son las pérdidas endógenas, estas se clasifican en basales y específicas. La cantidad de los aminoácidos a nivel ileal cambian por los factores mencionados y al emplear diferentes técnicas y cálculos se puede determinar la digestibilidad ileal aparente, estandarizada o verdadera. Existen importantes revisiones donde se detallan y explica más sobre este tema (Mosenthin et al., 2000, Boisen et al., 2000, Stein et al., 2007 y Mariscal et al., 2009). La importancia de obtener muestras de contenido ileal y determinar la proteína y aminoácidos para predecir con el NIRS tiene un mayor impacto que a nivel fecal ya que la digestibilidad de proteína y aminoácidos en heces es mayor (Mariscal y Ramírez 2017a), pero gran parte es proteína microbiana o incluso pérdidas endógenas y estos aminoácidos no son benéficos para el animal, De Lange et al., (1989) demostraron como la cantidad de pérdidas endógenas es afectada por las características del alimento y también observaron mayor cantidad de proteína y aminoácidos en heces, atribuyéndola a las bacterias, por lo que en el presente estudio al utilizar muestras del contenido ileal, se demostró que las predicciones pueden ser utilizadas en próximos experimentos.

Este es el primer trabajo donde se utilizó el NIRS para predecir el contenido de aminoácidos en muestras obtenidos del íleon, y queda demostrado que en las regiones 2080-2220nm (4800-4500cm) y 1560-1670nm (6400-6000cm) el NIRS lee enlaces N-H, en el caso de Lisina y Leucina los resultados indican que la calibración puede utilizarse y la predicción permite distinguir o clasificar entre valores altos y bajos. En el caso de Treonina los resultados son desfavorables ya que los valores de calibración y predicción no dan confianza para ser utilizados, aunque es difícil discutir por qué se obtuvieron mejores predicciones para lisina y leucina, que para treonina. Una explicación podría atribuirse al efecto del experimento ya que en todos los experimentos el ingrediente a evaluar fue el sorgo, y fue el ingrediente mayoritario mezclado con proteína (Balderrama-Pérez et al., 2019), sorgo con diferentes proteínas (Cintya Lujan 2014) o en donde solo se utilizó el grano de sorgo en la dieta (Reis de Souza et al., 2019), por lo que la mayor información y contenido de aminoácidos fue principalmente de grano de sorgo, este grano es rico en taninos, se sabe que los taninos afectan la digestibilidad y concentración de treonina, tiene un efecto inhibitor de enzima proteolíticas e incrementa las pérdidas endógenas (ricos con treonina) (Mariscal et al., 2004). Las pérdidas endógenas son muy variables y hay muchos factores que entran en juego tales como el consumo de materia seca, factores nutricionales (grasa, proteína fibra) o factores anti nutricionales Stein et al., (1999), duración del experimento, uso de dietas bajas en proteína prolongadamente, uso de aminoácidos en la dieta o etapa de crecimiento (Mariscal y Reis de Souza 2006; Reis de Souza 2013) todos estos podrían crear una mayor exigencia en el número de muestras para que la predicción con el NIRS sea benéfica.

Otro factor por el cual los estadísticos para treonina fueron bajos, se puede atribuir a la poca variación porque el ingrediente mayoritario fue el sorgo, Harrison et al., (1991) y Van Kempen y Bodin (1998) obtuvieron resultados bajos al tratar de predecir los aminoácidos y su digestibilidad de una dieta específica al utilizar el NIRS y en ambos trabajos se concluyó que el número de muestras

era reducido y no abarcaban una gran variación, Harrison et al., (1991) solo tuvieron 19 muestras de harina de sangre y Van Kempen y Bodin (1998) 23 muestras de trigo; por otro lado Fontanieli et al., (2002) pudieron predecir con gran confianza la composición de aminoácidos de Treonina, Lisina y Leucina en diferentes cereales por ejemplo: trigo con 213 muestras, cebada 185 muestra y maíz 258 muestras, mostrando que el tamaño de las muestra, el origen y variación del grano permite mejorar los resultados al momento de realizar predicciones con el NIRS. Con esto en mente es necesario agregar más muestras provenientes de diferentes dietas experimentales con la finalidad de tener una mayor variación y hacerla más robusta.

Se realizó una calibración solo para lisina y mejoraron los resultados para la predicción, al utilizar el NIRS se desea predecir el mayor número de compuestos para ser más eficientes, sin embargo, se quería ver si mejoraban los resultados, y la mejora se atribuye a que las correlaciones solo eran para un solo aminoácido, Owens et al., (2009) al querer predecir más de 20 características del trigo encontraron buenas predicciones para unos cuantos, entre ellos proteína. El agregar más muestras como se mencionó anteriormente, es posible mejorar los resultados.

El presente estudio demuestra claramente que el costo y tiempo para obtener resultados son menores al utilizar el NIRS, y los resultados concuerdan con Rosales et al., (2011) quienes también mostraron que el tiempo fue menor en el NIRS (3min) contra el laboratorio (29h) para determinar proteína y aminoácidos desde la preparación de la muestra, hidrólisis de la proteína y análisis de la muestra, aquellos autores realizaron una comparación en precios y mostraron una mejora al utilizar el NIRS , sus resultados finales para  $R^2_c$  fueron de 0.93 Proteína, 0.87 Tripsina y 0.93 para Lisina y todos con capacidad alta de predicción. Sin embargo hay que tener en cuenta otros factores que no fueron agregados en el presente trabajo los cuales fueron costo total del equipo NIRS, capacitación del personal y por supuesto experimentos previos donde se obtuvieron las muestras que fueron escaneadas, con la finalidad de crear una base de datos y generar calibraciones adecuadas, puede

que todos estos factores afecten el uso del NIRS, Ramaswamy et al., (2016) realizaron un análisis económico al usar el NIRS con cálculos detallados desde la compra del equipo, muestras para crear la base de datos para la calibración y el costo por muestra, ellos concluyeron que el NIRS es una inversión y una herramienta para predecir rápidamente la composición de los ingredientes y esto les impactó al momento de formular. La adopción del NIRS como herramienta rápida de predicción es usada por institutos: Programa Global del Maíz, Centro Internacional de Mejoramiento del Maíz y Trigo (Rosales et al., 2011), CENID Fisiología, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (Ramírez et al., 2005), Departamento de Agricultura de Estados Unidos (Reeves 2000) y para algunos ingredientes en la Asociación Internacional Americana de Químicos de Cereales (International A. 2010), corroboran aquellas conclusiones.

## 8. CONCLUSIONES

Este es el primer trabajo en México y en el continente americano con resultados favorables de NIRS, donde pudimos predecir de muestras previamente escaneadas la composición química de contenido fecal e ileal en cerdos, también pueden ser aplicables en el caso de muestras de heces para proteína SEC 0.95,  $R^2$  0.98 y energía SEC 60.80,  $R^2$  0.94 y en contenido ileal para proteína SEC 0.33,  $R^2$  0.97, Lisina SEC de 0.070,  $R^2$  0.93 y Leucina SEC 0.040  $R^2$  0.95, con respecto a nuestro objetivo de predicción fueron favorables en heces para proteína, energía SEP 1.19, 95.30 y RPD 4.16, 2.53 respectivamente, en el caso de contenido ileal proteína, lisina y leucina SEP 0.64, 0.115 y 0.102 con RPD 2.11, 1.31 y 2.08. Los resultados obtenidos para MS pueden utilizarse para y aunque se obtuvo buen SEC 0.83, la predicción RPD 1.78 fue baja concluimos que la humedad absorbida en las muestras de heces almacenadas afectando los resultados.

El número de muestras de heces de cerdos obtenidas en este trabajo ha sido mayor que todos los trabajos publicados, reflejado en una mayor variación y obteniendo mejor calibración y predicción

de la composición química de muestras de heces de cerdos al utilizar el NIRS, siendo, aplicables y predecibles. Los bajos valores de MS se atribuyen a la humedad y deben previamente someterse a ser secadas.

La predicción de proteína y lisina con muestra proveniente de contenido ileal puede ser utilizadas, sin embargo, hay que recordar que el mayor número de muestras eran provenientes de dietas donde se utilizó sorgo, por lo que se debe agregar un mayor número de muestras proveniente de diferentes dietas experimentales para poder obtener una mayor variación, no existe otro trabajo ni número de muestras para contenido ileal por lo que es otra área donde se puede trabajar, pero nosotros creemos que un número mayor a 200 muestras puede ser adecuada.

El NIRS puede utilizarse como una herramienta rápida en los experimentos de digestibilidad aparente y con cautela en experimentos de digestibilidad ileal, pero será necesario seguir analizando las muestras en el laboratorio para incrementar la exactitud y seguir enriqueciendo nuestra base de datos en el NIRS.

## Anexo 1 Jaulas metabólicas, colecta muestras de heces y contenido ileal.

### Las jaulas metabólicas

Las jaulas metabólicas están construidas de hierro, cuentan con un bebedero de chupón a un costado del comedero, el comedero es móvil. Las jaulas metabólicas están adaptadas para introducir en la base una charola para la toma de orina y una rejilla para facilitar la colecta de heces y para evitar la contaminación de la orina. Las jaulas metabólicas con una superficie de 6m<sup>2</sup>

### Colecta heces

Los periodos experimentales estuvieron constituidos de 3 días de adaptación a la jaula, 5 días de adaptación a las dietas experimentales y 5 días de colecta de heces, como marcador de digestibilidad se utilizó óxido de cromo (3 g/kg) en el alimento. Las heces se recogieron al momento que estas presentaban coloración debido al marcador y se finalizó la toma de muestra cuando se presentaron nuevamente coloreadas debido al marcador en la dieta. Las heces se recogieron al momento de ofrecer alimento (dos veces al día) y se congelaron a -20°C hasta su análisis.

### Colecta contenido ileal

Los cerdos se alojaron por 3 días a las jaulas metabólicas para su adaptación, el día 4 se sometieron en ayuno, en el día 5 se implantó quirúrgicamente una cánula T en el íleon. El periodo experimental, el periodo postoperatorio duró 21 días, y el periodo experimental duró 7 días (4 días de adaptación a la dieta experimental y 3 días de colecta). La digesta ileal se colectó en bolsas de plástico (11 × 5 cm, largo × ancho) que contenían 10mL de solución de HCl 0,2 Molar para bloquear la actividad bacteriana. La digesta se colectó 0800 a 2000h después de la fijación de las bolsas a la cánula con una goma elástica, cuando se llenaron las bolsas, la digesta se transfirió a un recipiente y se congeló a -20°C hasta la liofilización. Como marcador digestible se utilizó dióxido de titanio (3 g/kg).



## Anexo 2 Técnicas del laboratorio

### Análisis de aminoácidos.

Para procesar las muestras deben de estar secas, molidas y analizadas para proteína cruda (PC), y materia seca (MS).

La cantidad a utilizar de muestra dependerá del % de N, calculado con la siguiente fórmula:  $W_s = 1000/N_s$

Donde:  $W_s$  = peso de la muestra, en mg  $N_s$  = % de nitrógeno de la muestra. El % de nitrógeno de la muestra se calcula tomando como base el resultado del % de PC (base seca). Por ejemplo: si la muestra a analizar tiene 61.2461 % PC (base seca):  $61.2461 \% PC = 9.7994 \% \text{ de nitrógeno}$  6.251 por lo tanto:  $W_s = 1000/9.7994 = 102.047$  mg de muestra.

Las muestras se pesan en una balanza analítica directamente en los viales de hidrólisis . La hidrólisis ácida se realiza adicionando 50 mL de HCl 6N/fenol y se agita manualmente durante 5 segundos. Se colocan las tapas a cada vial, engargolan los viales y se meten a la estufa a 115°C durante (24 horas). Transcurrido el tiempo se dejan enfriar por 12 horas.

Una vez atemperadas las muestras, se abren y se les adiciona 1 mL de la solución de estándar interno a cada muestra y después se filtran en papel Whatman # 54 en la campana de extracción de gases. Se toma una alícuota de 5 mL que se adiciona a un matraz redondo y se procede a evaporar en un rota-evaporador, sin llevar a sequedad. Se realizan dos lavados con agua destilada (5mL) y el último con agua HPLC (5mL). Antes de llegar a sequedad total, se retira el matraz del rota-evaporador, se adicionan aproximadamente 1-1.5 ml de agua HPLC y se vacía a un matraz aforado de 10 ml y aforar a la misma cantidad.

Se toma una alícuota de 1 mL con una jeringa de plástico. Esta operación se repite dos veces más y a la cuarta vez, se toma ½ mL y se filtra con la membrana de 0.2 m. El filtrado se recibe en un inserto contenido en un vial ámbar con tapón de rosca y guardar en refrigeración, hasta su análisis.

#### Determinación de Titanio (Myers et al, 2004)

Pesar muestras duplicadas de 0,5 g en tubos de digestión para equipo Kjeldahl de 250 ml. Añadir un catalizador de reacción que contenga 3,5 g de Sulfato de Potasio y 0,4 g de Sulfato de Cobre en cada tubo.

Agregar 13 ml de Ácido Sulfúrico en cada tubo y digerir la muestra a 420°C durante 2 horas. Retirar del fuego y dejar enfriar durante 30 minutos. Agregar 10 ml Agua oxigenada al 30% en cada tubo y dejar enfriar durante 30 minutos

Lleve el peso total del líquido a 100 g con agua destilada. Filtrar a través de papel de filtro Whatman No. 541 para eliminar cualquier precipitado.

Medir la absorbancia a 410 nm. Calibrar el espectrofotómetro con estándares de trabajo, preparados agregando 0, 2, 4, 6, 8 y 10 mg de TiO<sub>2</sub> a tubos en blanco que se preparan como se describe anteriormente. Utilice el estándar de 0 mg para poner a cero el instrumento.

#### Determinación de Cromo (Fenton y Fenton, 1979)

Pesar muestras que contengan entre 20-60 mg de Óxido de Cromo en vasos de precipitados de 30 ml, incinerarlas en una mufla a 450°C. Después de enfriar, añadir a cada muestra 15,0 ml de una mezcla de digestión (10 g de molibdato de sodio dihidratado disuelto en 500 ml de una mezcla 150: 150: 200 de agua destilada-ácido sulfúrico concentrado-ácido perclórico 70%) y se calienta en una placa caliente (temperatura superficial hasta 300°C) hasta que se desarrolle un color amarillento o rojizo. Las muestras se calientan durante 10-15 min más, se sacan de la placa caliente y se dejan

enfriar. A continuación, las muestras digeridas se transfieren cuantitativamente a matraces aforados de 200 ml con agua destilada. Se vierten aproximadamente 10 ml de la digestión diluida en un tubo (tubo de cultivo de poliestireno desechable (17 x 100 mm) con tapón de polietileno) y se centrifugan durante 5 min a 700 g. La densidad óptica se mide en una cubeta de 1 cm frente a agua destilada a 440 nm.

## 9. REFERENCIAS

- Adeola O. 2001.** Digestion and balance technique in pigs. In: Lewis AJ, Southern LL editors. Digestion and balance technique in pigs. Second ed. Boca Raton, USA: CRC Press; 2001:903-916.
- Akakpo, D.B, M de Boer, I.J, Adjei-Nsiah, S, Duncan, A.J y Giller, K.E. 2020.** Evaluating the effects of storage conditions on dry matter loss and nutritional quality of grain legume fodders in West Africa. *Animal Feed Science and Technology* 262:114419
- Almeida F y Stein H. 2010.** Performance and phosphorus balance of pigs fed diets formulated on the basis of values for standardized total tract digestibility of phosphorus. *Journal of Animal Science* 2968-2977.
- Angelovič M. M, Krištof, K, Jobbágy, J, Findura, P y Križan, M. 2018.** The effect of conditions and storage time on course of moisture and temperature of maize grains. *BIO Web Conf.* 10 02001.
- AOAC. 2000.** Official Methods of Analysis, 17th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.
- Argenzio R.A. 2004.** Funciones digestivas y abortivas del intestino In:Reece. W. (editor) *Duke's physiology of domestic animals*, 12th edition. Comstock publishing associates, Cornell university press 2004.
- Arredondo M.A, Casas, G.A, Stein, H.H. 2019.** Increasing levels of microbial phytase increases the digestibility of energy and minerals in diets fed to pigs. *Animal Feed Science and Technology.* 248:27–36.
- Bach Knudse, K.E, Hedemann, M.S y Lærke, H.N. 2012** The role of carbohydrates in intestinal health of pigs. *Animal Feed Science and Technology* 173:41– 53.
- Balderrama-Pérez, V.A., Gómez-Soto, J.G., Reis de Souza, T.C., Ramirez, E.R., Mariscal, G.L. 2019.** Is the kafirin profile capable of modulating the ileal digestibility of amino acids in a soybean meal-sorghum diet fed to pigs? *Animal Nutrition* 5:124-129.
- Barton, F.E II. 1989.** Validation of NIRS Results by Chemical Analysis. Marten, G.C, Shenk, J.S y Barton F.E. II. *Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS): Analysis of forage quality.* Agriculture Handbook No. 63. Pág. 36.
- Bastianelli, D., Carré, B., Mignon-Grasteau, S., Bonnal, L., y Davrieux, F. 2007.** Direct prediction of energy digestibility from poultry faeces using near infrared spectroscopy. In *Proceedings of the 12th International Conference on Near Infrared Spectroscopy* (ed. GR Burling Claridge, SE Holroyd and RMW Sumner), pp. 626–629. NZ NIRS Society Inc., Hamilton, New Zealand.
- Bastianelli, D., Bonnal, L. Jaguelin-Peyraud, y Noblet, J. 2015.** Predicting feed digestibility from NIRS analysis of pig faeces. *Animal.* 9:781–786.
- Basurto, G.R., Montoya, F.M.D., Buendia, R.G., Barron, A.M, Bustamante, G.J.J., Santos, E.R., Maldonado, M.J.J. Becerra, J. y Bonilla, C.J.A. 2012.** Uso de la espectroscopía en el cercano infrarrojo (NIRS) en la nutrición de rumiantes. pág. 5 México.
- Baoshi Shi, Jinyan Liu, Zhihong Sun, Tiejun Li, Weiwen Zhu & Zhiru Tang. 2018.** The effects of different dietary crude protein level on faecal crude protein and amino acid flow and digestibility in

growing pigs, *Journal of Applied Animal Research*, 46:74-80.

**Boisen, S. y Fernández, J. A. 1995.** Prediction of the apparent ileal digestibility of protein and amino acids in feedstuffs and feed mixtures for pigs by in vitro analyses. *Animal Feed Science and Technology*. 51:29–43.

**Boisen, S., Hvelplund, T. y Weisbjerg, M. R. 2000.** Ideal amino acid profiles as a basis for feed protein evaluation. *Livestock Production Science*. 64:239–251.

**Boval, M, Coatesb, D.B. Lecomtec, P. Decruyenaered, V. y Archimèdea H. 2004.** Faecal near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to assess chemical composition, in vivo digestibility and intake of tropical grass by Creole cattle. *Animal Feed Science and Technology* 114:19–29.

**Bruno Soares, A.M, Murray I, Paterson R.M, Abreu J.M.F 1998.** Use of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) for the prediction of the chemical composition and nutritional attributes of green crop cereals. *Animal Feed Science and Technology*. 75:15-25.

**Burns, D.A., and E.W. Ciurczak. 1992.** Handbook of near-infrared analysis. Marcel Dekker, New York.

**Cao, Nanning. 2013.** Calibration optimization and efficiency in near infrared spectroscopy. Graduate Theses and Dissertations. 13199.

**Capper. B.S. 1988.** Genetic variation in the feeding value of cereal Straw. *Animal Feed Science and Technology*. 21:127-140.

**Chang, C.W, Laird, D.A, Mausbach, M.J y Hurburgh, C.R. 2001.** Near- infrared reflectance spectroscopy: Principal components regression analyses of soil properties *Soil Science Society of America Journal* 65:480–490.

**Chen, L., Xing, L. y Han, L. 2013.** Review of the Application of Near-Infrared Spectroscopy Technology to Determine the Chemical Composition of Animal Manure. *Journal of Environment Quality* 42:1015.

**Choct, M. 1997.** Feed non-starch polysaccharides: Chemical structures and nutritional significance. *Feed Milling International*. (June Issue), pp. 13–26.

**Grieshop, C.M y Fahey Jr, G. C. 2001.** Comparison of Quality Characteristics of Soybeans from Brazil, China, and the United States. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49:2669–2673.

**CIOMS. 1985.** International guiding principles for biomedical research involving animals, In: Organization WH (ed.), *The Development of Science-Based Guidelines for Laboratory Animal Care* - NCBIBookshelf. Council for International Organizations of Medical Sciences Ed. Geneva

**De Lange, C.F.M., Sauer, W.C., Mosenthin, R. y Souffrant, W.B. 1989.** The effect of feeding different protein-free diets on the recovery and amino acid composition of endogenous protein collected from the distal ileum and feces in pig 67:746-754.

**De la Roza-Delgado, B. Modroño, S. Vicente. F. Martínez-Fernández, A y Soldado, A. 2015.** Suitability of faecal near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) predictions. *Spanish Journal of Agricultural Research*. 13:1-7.

**Diario Oficial de la Federación. 2001.** Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Diario Oficial de la Federación.

**Dixon, R. y Coates, D. 2009.** Review: Near infrared spectroscopy of faeces to evaluate the nutrition and physiology of herbivores. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*. 17:1–31.

**Donkoh, A, Moughan. P.J, y Smith. W.C. 1994.** Comparison of the slaughter method and simple T-piece cannulation of the terminal ileum for determining ileal amino acid digestibility in meat and bone meal for the growing pig. *Animal Feed Science and Technology*. 49:43-56.

**FAO (2004)** Assessing quality and safety of animal feeds. Mueller-Harvey, I. Modern techniques for feed analysis. Roma Italia.

**Fenton TW, Fenton M 1979.** An improved procedure for determination of chromic oxide in feed and feces. *Canada Journal Animal Science*, 59:631–634.

**Fernández-Ibañez, V. Soldado, A. Martínez-Fernández, A. y de la Roza-Delgado B. 2009.** Application of near infrared spectroscopy for rapid detection of aflatoxin B1 in maize and barley as analytical quality assessment. *Food Chemistry* 113:629-634.

**Ferreira, S.L. Vasconcellos, R.S. Rossi, R.M. de Paula, V.R.C. Fachinello, M.R. Huepa, L.M.D. y Pozza, P.C. 2018.** Using near infrared spectroscopy to predict metabolizable energy of corn for pigs. *Scientia Agricola* 75: 486–493.

**Fontaine, J., Hörr, J. y Schirmer, B. 2001.** 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. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49:57–66.

**Fontaine, J., Schirmer, B. y Horr, J. 2002.** Near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) enables the fast and accurate prediction of essential amino acid contents. 2. Results for wheat, barley, corn, triticale, wheat bran/middlings, rice bran, and sorghum. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50:3902–3911.

**Frank, H. 2006.** Electromagnetic spectrum.svg. Recuperado de [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Electromagnetic\\_spectrum-es.svg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Electromagnetic_spectrum-es.svg).

**García-Rebollar. P, Cámara. L, Lázaro. R.P, Dapoz. C, Pérez-Maldonado. R, y Mateos. G.G. 2016.** Influence of the origin of the beans on the chemical composition and nutritive value of commercial soybean meals. *Animal Feed Science and Technology*. 221:245-261.

**García-Sánchez, F., Galvez-Sola, L., Martínez-Nicolas, J.J., Manuela-Domingo, R., y Nieves, M. 2017.** Using Near-Infrared Spectroscopy in Agricultural Systems. *InTech* pag 97-117.

**Garnsworthy, P.C., Wiseman, J. y Fegeros, K. 2000.** Prediction of chemical, nutritive and agronomic characteristics of wheat by near infrared spectroscopy. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 135: 409–417

**Givens, D. I. y Deaville, E. R.1999.** The current and future role of near infrared reflectance spectroscopy in animal nutrition: A review. *Australian Journal of Agricultural Research*. 50:1131–1145.

- Glasser, T. Landau, S., Ungar, E.D., Perevolotsky, A., Dvash, L., Muklada, H., Kababya, D. y Walker J.W. 2008.** A fecal near-infrared reflectance spectroscopy-aided methodology to determine goat dietary composition in a Mediterranean shrubland. *Journal of Animal Science*. 86:1345–1356
- González-Vega, J.C y Stein, H.H. 2014.** Invited Review - Calcium Digestibility and Metabolism in Pigs. *Asian-Australasian journal of animal sciences*. 27:1-9.
- González-Vega, J.C, Walk C.L y Stein, H.H. 2015.** Effects of microbial phytase on apparent and standardized total tract digestibility of calcium in calcium supplements fed to growing pigs. *Journal of Animal Science*. 93:2255–2264
- Guzmán. P, Saldaña. B, Cámara. L, y Mateos. G. G. 2016.** Influence of soybean protein source on growth performance and nutrient digestibility of piglets from 21 to 57 days of age. *Animal Feed Science and Technology*. 222:75-86.
- Harrison, M. D., Ballard, M. R. M., Barclay, R. A., Jackson, M. E. & Stilborn, H. L. 1991.** A comparison of true digestibility for poultry and apparent ileal digestibility for swine. A classical in vitro method and NIR spectro-photometry for determining amino acid digestibility. In: *Digestive Physiology in Pigs (International Symposium no.5; EAAP Publication no. 54)*, pp. 254–259 [Verstegen, M. W. A., Huisman, J. and den Hartog, L. A., editors]. Wageningen, The Netherlands: Pudoc
- Henderson JH, Ricker RD, Bidlingmeyer BA, Woodward C. 2000.** Rapid, accurate and reproducible HPLC analysis of amino acids. Amino acid analysis using Zorbax Eclipse AAA columns and the Agilent 1100 HPLC. *Agilent technologies*. 10 pag. *Agilent technologies homepage* [www.agilent.com/chem/supplies].
- Henneberg, W. & Stohmann, F. 1859.** Über das Erhaltungsfutter volljährigen Rindviehs. *J. Landwirtsch*. 3: 485-551.
- Holmes, J.H.G., Bayley, H.S., Leadbeater, P.A. y Horner, F.D. 1974.** Digestion of protein in small and large intestine of the pig. *British Journal of Nutrition* 32:479-489.
- International, A. (2010).** Approved methods of analysis, 11th Ed. Method 39-21.01. Near-infrared reflectance method for protein and oil determination in soybeans. Approved November 3, 1999. St. Paul, MN: AACC International. <https://doi.org/10.1094/aaccintmethod-39-21.01>
- Ivarsson E y Neil M. 2018.** Variations in nutritional and antinutritional contents among faba bean cultivars and effects on growth performance of weaner pigs. *Livestock Science*. 212:14-21
- Jha, R. y Berrocoso, J.D. 2015.** Review: Dietary fiber utilization and its effects on physiological functions and gut health of swine. *Animal*. 9:1441-1452
- Jha, R. y Berrocoso, J.D. 2016.** Dietary fiber and protein fermentation in the intestine of swine and their interactive effects on gut health and on the environment. *Animal Feed Science and Technology* 212:18-26.
- Karn. A, Heim. C, Flint-Garcia. S, Bilyeu. S y Gillman. J. 2017.** Development of Rigorous Fatty Acid Near-Infrared Spectroscopy Quantitation Methods in Support of Soybean Oil Improvement. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 94:69–76.
- Kil, D.Y., Kim, B.G y Stein, H.H. 2013.** Feed Energy Evaluation for Growing Pigs. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 26:1205-1217.

- Kindred Daniel R., Verhoeven Tamara M.O., Weightman Richard M., Swanston J. Stuart, Agu Reginald C., Brosnan James M., Sylvester-Bradley Roger. 2008.** Effects of variety and fertiliser nitrogen on alcohol yield, grain yield, starch and protein content and protein composition of winter wheat. *Journal of Cereal Science*. 48:46-57.
- Kovalenko. I, V, Rippke. G.R, y Hurburgh. C.R. 2006.** Determination of Amino Acid Composition of Soybeans (*Glycine max*) by Near-Infrared Spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54:3485–3491.
- Landau, S. Giger-Reverdin, S. Rapetti, L. Dvash, L. Dorléans M y Unger, E.D. 2008.** Data mining old digestibility trials for nutritional monitoring in confined goats with aids of fecal near infrared spectrometry. *Small Ruminant. Research*. 77:146-158.
- Landau, S. Glasse, T. Dvash, L y Perevolosky A. 2004** Faecal NIRS to monitor the diet of Mediterranean goats. *South African Journal of Animal Science*. 3476:80
- Landau, S. Y. Dvash, L. Roudman, M. Muklada, H. Barkai, D. Yehunda, Y. y Ungar, E.D. 2016.** Faecal near-IR spectroscopy to determine the nutritional value of diets consumed by beef cattle in east Mediterranean rangelands. *Animal*. 10:192-202.
- Li, H. Tolleson, D. Stuth, J. Bai, K. Mo, F y Kronberg.S. 2007.** Faecal near infrared reflectance spectroscopy to predict diet quality for sheep. *Small Ruminat Research* 68:263-268.
- Li, J. Li, Q., Li, D., Chen, Y., Wang, X., Yang, W y Zhang, L. 2016.** Erratum to: Use of near-infrared reflectance spectroscopy for the rapid determination of the digestible energy and metabolizable energy content of corn fed to growing pigs *Journal Animal Science Biotechnology*. 7:1–9.
- Lyons, R.K y Stuth, J.W. 1992.** Fecal NIRS equations for predicting diet quality of free-ranging cattle. *J, Range Manage*. 45:230-244.
- Cintya Luján Orozco, Gerardo Mariscal Landín, Marco Antonio Herradora Lozano y Cesar Augusto Mejía Guadarrama. 2014.** Desarrollo tecnológico para el uso del Ronozyme Proact en la producción porcina. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Malley, D.F, Martin, P.D. y Ben-Dor. E. 2004.** Application in analysis of soils. In: C.A. Roberts, J. Workman, and J.B. Reeves, editors, *Near-infrared spectroscopy in agriculture*. Agronomy series no. 44. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, WI. p. 729–784.
- Mariscal-Landín, G., Avellaneda, J.H., Reis de Souza, T.C., Aguilera, A., Borbolla, G.A., Mar, B.B., 2004.** Effect of tannins in sorghum on amino acid ileal digestibility and on trypsin (E.C.2.4.21.4) and chymotrypsin (E.C.2.4.21.1) activity of growing pigs. *Animal. Feed Science and Technology*. 117: 245–264.
- Mariscal, G.L, y Resi de Souza, T.C. 2006.** Endogenous ileal losses of nitrogen and amino acids in pigs and piglets fed graded levels of casein. *Archives of Animal Nutrition* 60: 454 – 466.
- Mariscal, G.L, Reis de Souza, T.C, Hernández, D.A.A. y Escobar G.K. 2009.** Pérdidas endógenas de nitrógeno y aminoácidos en cerdos y su aplicación en la estimación de los coeficientes de digestibilidad ileal de la proteína y aminoácidos de las materias primas. *Revisión. Tecnologías Pecuarias México*. 47:371-388.



- Mariscal, G.L, Reis de Souza, T.C y Ramírez E.R. 2014a.** Metabolizable energy, nitrogen balance, and ileal digestibility of amino acids in quality protein maize for pigs. *Journal Animal Science Biotechnology* 5:26
- Mariscal, G.L, Reis de Souza, T.C y Ramírez E.R. 2014b.** Effects of corn gluten feed inclusion at graded levels in a corn-soybean diet on the ileal and fecal digestibility of growing pigs. *Journal of Animal Science and Biotechnology.* 5:1-6
- Mariscal, G.L y Ramírez E.R 2017a.** Determination of the digestibility of the protein, amino acids and energy of full fat canola in growing pigs. *Tecnologías Pecuarias México.* 8:297-304.
- Mariscal, G.L, Reis de Souza y Bayardo, U.A. 2017b.** Neutral detergent fiber increases endogenous ileal losses but has no effect on ileal digestibility of amino acids in growing pigs. *Animal Science Journal.* 88.322–330
- Mark, H. 1991.** Principles and practice of spectroscopic calibrations. Interscience publishers. New York.
- Matthew, J.C. 2000.** Amino Acid and peptide transport systems. *Farm Animal Metabolism and Nutrition*, Edit D´Mello, J.P.F. CABI 2000.
- McCann, M. E. E., McCracken, K. J. Agnew, R. E. 2006.** The use of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) for prediction of the nutritive value of barley for growing pigs. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, 45:187–195.
- Myers WD, Ludden PA, Nayigihugu V, Hess BW. 2004.** Technical Note: A procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. *Journal of Animal Science* 82:179-183
- Molina, M.F., Cabrera, G. A., Ginel, G. J.E., Varo, G. A. y Parry, V. H.E. 2009.** Ecuaciones de predicción del calor nutritivo de cereales grano y concertados de proteína vegetal. XXV curso de especialización FEDNA.
- Montes, J.M., Utz, H, Schipprack, W., Kusterer, B., Muminovic, J., Paul, C. y Melchinger, A. 2006.** Near-infrared spectroscopy on combine harvesters to measure maize grain dry matter content and quality parameters. *Plant Breed.* 125: 591–595.
- Mouazen, A.M., W. Saeys, J. Xing, J.D. Baerdemaeker, y H. Ramon. 2005.** Near infrared spectroscopy for agricultural materials: An instrument comparison. *Journal Near Infrared Spectroscopy.* 13:87–97.
- Nimmola C, Devahastinb S, Swasdisevia T, Soponronnarita S. 2007.** Drying of banana slices using combined low-pressure superheated steam and far-infrared radiation. *Journal of Food Engineering.* 81: 624-633
- Nirea, K.G. Marta Pérez de Nanclares, Adrijana Skugor, Nils K. Afseth, Theodorus H.E. Meuwissen, Jon Ø. Hansen, Liv T. Mydland, and Margareth Øverland. 2018.** Assessment of fecal near-infrared spectroscopy to predict feces chemical composition and apparent total-tract digestibility of nutrients in pigs. *Journa of Animal Science* 96:2826–2837
- Noblet, J. y Perez, J. M.1993.** Prediction of digestibility of nutrients and energy values of pig diets from chemical analysis. *Journal of Animal Science*71:3389-3398.

**Noblet, J., Fortune, H., Shi, X. S. y Dubois. S. 1994.** Prediction of net energy value of feeds for growing pig. *Journal of Animal Science* 72:344-354.

**Noblet J, Gilbert H, Jaguelin-Peyraud Y and Lebrun T 2013.** Evidence of genetic variability for digestive efficiency in the growing pig fed a fibrous diet. *Animal* 7, 1259–1264.

**NRC (2012)** 'National Research Council. Nutrient Requirements of Swine.'

**Osborne B. G. 2006.** Near-infrared spectroscopy in food analysis. *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. 1-14

**Osborne B.G, T. Fearn, P.H. 1993.** *Hindley Practical NIR spectroscopy with applications in food and beverage analysis*. 105:28–35. Longman Scientific & Technical, Essex, England

**Owens, B. McCann, M.E. E., MCCracken, K. J y Park, R.S. 2009.** Prediction of wheat chemical and physical characteristics and nutritive value by near-infrared reflectance spectroscopy. *British Poultry Science*. 50:103–122.

**Pedersen MB, Dalsgaard S, Bach Knudsen KE, Yu S y Lærke HN 2014.** Compositional profile and variation of distillers dried grains with solubles from various origins with focus on non-starch polysaccharides. *Journal Animal Science Biotechnology* 197:130–141

**Peinado Antonio. 2005.** Aplicación e desarrollo de técnicas quimiométricas para el seguimiento de fermentaciones alcohólicas. *Universitat Autònoma de Barcelona*

**Pirie, A., A. Singh, y K. Islam. 2005.** Ultra-violet, visible, near-infrared, and mid-infrared diffuse reflectance spectroscopic techniques to predict several soil properties. *Australian Journal of Soil Research* 43:713–721.

**Pluske, J. R., Hampson, D. J. y Williams, I. H.1997.** Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review', *Livestock Production Science*. 51(1–3):215–236.

**Pujol, S., Pérez-Vendrell, A. M. y Torrallardona, D. 2007.** Evaluation of prediction of barley digestible nutrient content with near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS). *Livestock Science*. 109:189–192.

**Ramaswamy, S. K., Rosentrater, K. A. y Mosher, G. A. 2016.** Does a NIR system provide low-cost alternative to on-farm feed and forage testing? A Techno-economic analysis. 2016 ASABE International Meeting

**Ramírez, E. R., Anaya Escalera, A. M y Mariscal, G.L 2005.** Predicción de la composición química del grano de sorgo mediante espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS). *Tecnologías Pecuarias México*. 43:1–11.

**Reis de Souza, T. C., Mar Botello, B y Mariscal, G.L 2000.** Canulación De Cerdos Posdestete Para Pruebas De Digestibilidad Ileal: Desarrollo De Una Metodología. *Técnica Pecuaria México*. 38:143–150.

**Reis de Souza, T. C., Mariscal L. G., Escobar, G. K., Aguilera B.A., y Magné B.A. 2012.** Cambios nutrimentales en el Lechón y Desarrollo Morfofisiológico de su Aparato Digestivo. *Veterinaria México*. 43:155–173.

**Resi de Souza, T.C., Aguilera, B.A., y Mariscal, G.L. 2013.** Estimation of endogenous protein and amino acid ileal losses in weaned piglets by regression analysis using diets with graded levels of

casein. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 4:36

**Reis de Souza, T.C., Ávila Árrés, I.E., Ramírez, E.R., Mariscal, G.L. 2019.** Effects of kafirins and tannins concentrations in sorghum on the ileal digestibility of amino acids and starch, and on the glucose and plasma urea nitrogen levels in growing pigs. *Livestock Science* 227:29-36.

**Reeves, J.B 2000.** Use of near infrared reflectance spectroscopy. *Farm Animal Metabolism and Nutrition*, Edit D´Mello, J.P.F. CABI 2000.

**Reeves, J.B. 2001.** Near-infrared diffuse reflectance spectroscopy for the analysis of poultry manures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49:2193–219

**Rosales, A, Galicia, L, Oviedo. E, Islas,C y Palacios-Rojas, N. 2011.** Near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) for protein, tryptophan, and lysine evaluation in quality protein maize (QPM) breeding programs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59:10781-10786.

**Rotundo. J.L y Westgate. M.E. 2009.** Meta-analysis of environmental effects on soybean seed composition. *Field Crops Research*. 2:147-156.

**Rubenthaler, G. L.; Bruinsma, B. L.1978** Lysine Estimation in Cereals by NIR. *Crop Science* 18, 1039-1042.

**Saews, W., A.M. Mouazen, and H. Ramon. 2005a.** Potential for onsite and online analysis of pig manure using visible and near infrared reflectance spectroscopy. *Biosystem Engineering* 91:393–402.

**Saews, W., J. Xing, J. Baerdemaeker, and H. Ramon. 2005b.** Comparison of transfectance and reflectance to analyse hog manures. *Journal Near Infrared Spectroscopy* 13:99–107

**Saews, W., P. Darius, and H. Ramon. 2004.** Potential for on-site analysis of hog manure using a visual and near infrared diode array reflectance spectrometer. *Journal Near Infrared Spectroscopy*. 12:299–309.

**Schiborra, A., Bulang, M., Berk, A., Susenbeth, A y Schlecht, E. 2015.** Using faecal near-infrared spectroscopy (FNIRS) to estimate nutrient digestibility and chemical composition of diets and faeces of growing pigs. *Animal Feed Science and Technology*. 210: 234–242

**Shenk, J.S. y Westerhaus, M.O. 2015.** The application of near infrared reflectance spectroscopy (nirs) to forage analysis. In *forage quality, evaluation, and utilization*, g.c. Fahey (ed.).

**Sheppard AR, Swicord ML, Balzano Q. 2008.** Quantitative evaluations of mechanisms of radiofrequency interactions with biological molecules and processes. *Health Physiology*. 95:65–96.

**Shimada M.A. 2007.** *Nutrición animal*. México. Trillas pág. 77-80.

**Smith, T.N. Pesti, G.M. Bakalli, R.I. Kilburn, J y Edwards Jr, H.M. 2001.** The Use of Near-Infrared Reflectance Spectroscopy to Predict the Moisture, Nitrogen, Calcium, Total Phosphorus, Gross Energy, and Phytate Phosphorus Contents of Broiler Excreta. *Poultry Science* 80:314–319

**Sol, C., Castillejos, L. López-Vergé, S. y Gasa J. 2017.** Prediction of the digestibility and energy contents of non-conventional by-products for pigs from their chemical composition and in vitro digestibility. *Animal Feed Science and Technology*. 234:237–243.

- Sørensen, L.K., P. Sørensen, and T.S. Birkmose. 2007.** Application of reflectance near infrared spectroscopy for animal slurry analyses. *Soil Science Society of American Journal* 71:1398–1405.
- Stein, H.H., Trottier, N.L., Bellaver, C. y Easter, R.A. 1999.** The effect of feeding level and physiological status on total flow and amino acid composition of endogenous protein at the distal ileum in swine. *Journal of Animal Science* 77:1180-1187.
- Stein, H.H., Sève B, Fuller MF, Moughan PJ y de Lange CFM. 2007.** Invited review: Amino acid bioavailability and digestibility in pig feed ingredients: Terminology and application. *Journal of Animal Science* 85:172-180.
- Stein, H. H., Lagos, L. V. y Casas, G. A. 2016.** Nutritional value of feed ingredients of plant origin fed to pigs. *Animal Feed Science and Technology*.218:33–69.
- Steyaert, S.M.J.G, Hütter, F.J. Elfström, M. Zedrosser. A, Hackländer, K. Le, M.H, Windisch, M.W, Swenson, J.E y Isaksson, T. 2012.** Faecal spectroscopy: a practical tool to assess diet quality in an opportunistic omnivore. *Wildlife Biology* 18: 431-438.
- Stuth J, Jama A, Tolleson D. 2003.** Direct and indirect means of predicting forage quality through near infrared reflectance spectroscopy. *Field Crops Research*.84: 45–56.
- Świąch, E. 2017.** Alternative prediction methods of protein and energy evaluation of pig feeds. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 8:1–14.
- Tallada, J.G., Palacios-Rojas, N., Armstrong, P.R. 2009.** Prediction of maize seed attributes using a rapid single kernel near infrared instrument, *Journal of Cereal Science*. 50:381-387
- Tanaka. F, Verboven. P, Scheerlinck. N, Morita. K, Iwasaki, K y Nicolai B. 2007.** Investigation of far infrared radiation heating as an alternative technique for surface decontamination of strawberry. *Journal of Food Engineering*. 79: 445-452.
- Tao, F. Yao, H. Hruska, Z. Burger, L.W. Rajasekaran, K y Bhatnagar, D. 2018.** Recent development of optical methods in rapid and non-destructive detection of aflatoxin and fungal contamination in agricultural products. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 100:65-81
- Templeton, D.W, Sluiter, A. D, Hayward, T.K, Hames, B.R y Thomas S.R. 2009.** Assessing corn stover composition and sources of variability via NIRS. *Cellulose*.16:621-639.
- Tester, R.F, Karkalas, J y Qi, X. 2004.** Starch—composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science* 39:151-165.
- Van Kempen T, A.T.G y Simmins R.H. 1997.** Near-Infrared reflectance spectroscopy in precisión feed formulation. *Journal of Applied Poultry Research* 477
- Van Kempen, T., Bodin, J-C. 1998.** Near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) appears to be superior to nitrogen-based regression as a rapid tool in predicting the poultry digestible amino acid content of commonly used feedstuffs. *Animal Feed Science and Technology* 76:139-147
- Velayudhan, D.E., Kim, I.H., y Nyachoti C.M. 2015.** Characterization of dietary energy in swine feed and feed ingredients: a review of recent research results. *Asian Australas Journal of Animal Science* 28:1-13

- Wang L, Wang Q, Lui, H, Liu L y Du Y. 2013.** Determining the contents of protein and amino acids in peanuts using near-infrared reflectance spectroscopy. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 93:118-124.
- Wehling R.L 1998. Infrared spectroscopy. Ch27 In: *Food análisis*, 2nd ed, Ed. Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, MD pág. 413-424.
- Wenkai Ren, Yinghui Li, Yulong Yin, and François Blachier. 2013.** Nutritional and Physiological Functions of Amino Acids in Pigs. François Blachier, Guoyao Wu Yulong Yin. Springer Wien Heidelberg New York Dordrecht London
- Westerhaus. M. O. 1989.** Interpretation of Regression Statistics Results by Chemical Analysis. Marten, G.C, Shenk, J.S y Barton F.E. II. Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS): Analysis of forage quality. *Agriculture Handbook No. 63*. Pág. 39.
- Westerhaus. M. O. 1989.** Validation. Marten, G.C, Shenk, J.S y Barton F.E. II. Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS): Analysis of forage quality. *Agriculture Handbook No. 63*. Pág. 40.
- Williams, P. C., y Thompson, B. N. 1978.** Influence of whole meal granularity on analysis of HRS wheat for protein and moisture by near infrared reflectance spectroscopy. *Cereal Chemistry*, 55, 1014–1037
- Williams, P. C.; Preston, K. R.; Norri, K. H.; Starkey, P. M. 1985.** Determination of Amino Acids in Wheat and Barley by NIRS. *Journal Food Science*. 49:17-20.
- Wilson S. 2016.** Development of infrared heating technology for corn drying and decontamination to maintain quality and prevent mycotoxins. *Theses and Dissertations*. 1542.
- Xing,L. Chen, L.J. y Han, L.J. 2008.** Rapid Analysis of Layer Manure Using Near Infrared Reflectance Spectroscopy. *Poultry Science* 87:1281–1286.
- Yang, Z., L. Han, and X. Fan. 2006.** Rapidly estimating nutrient contents of fattening pig manure from floor scrapings by near infrared reflectance spectroscopy. *Journal Near Infrared Spectroscopy*. 14:261–268.
- Yang.Y, Schön C.C. y Sorensen D. 2012.** The genetics of environmental variation of dry matter grain yield in maize. *Genetics Research*., Cambridge. 94, pp. 113–119.
- Ye, W. Lorimor, J.C. Hurburgh, C. Zhang, H y Hatter J. 2005.** Application of near infrared reflectance spectroscopy for determination of nutrient contents in liquid and solid manures. *Transactions of the ASAE* 48:1911-1918.
- Zhonghai He, Mengchao Li and Zhenhe Ma. 2015.** Prediction of dry matter, protein, and acidity in corn steep liquor using near infrared spectroscopy. *IEEE 7th International Conference on Awareness Science and Technology (iCAST)*, Qinhuangdao. 212-215.
- Zijlstra, R. T., Swift M. L., Wang, L. F., Scott, A. t., y Edney, M. J. 2011.** Short Communication: Near infrared reflectance spectroscopy accurately predicts the digestible energy content of barley for pigs. *Canadian Journal of Animal Science*, 91301–304.