



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS TABASCO

PROGRAMA PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA EN EL TRÓPICO

**ESPECTROSCOPIA DEL INFRARROJO CERCANO (NIRS)
PARA EL ANÁLISIS QUÍMICO DEL JUGO DE CAÑA DE
AZÚCAR EN EL CONTROL DE MADUREZ**

OSCAR LÓPEZ HERNÁNDEZ

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

H. CÁRDENAS, TABASCO, MÉXICO

2018



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas
Campeche-Córdoba-Montecillo-Puebla-San Luis Potosí-Tabasco-Veracruz

CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y DE LAS REGALÍAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACIÓN

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, el que suscribe Oscar López Hernández, alumno de esta Institución, estoy de acuerdo en ser partícipe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta Institución, bajo la dirección del Profesor Sergio Salgado García, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis "ESPECTROSCOPIA DEL INFRARROJO CERCANO (NIRS) PARA EL ANÁLISIS QUÍMICO DEL JUGO DE CAÑA DE AZÚCAR EN EL CONTROL DE MADUREZ" y de los productos de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre del Colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, El Consejero de Tesis y el que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

H. Cárdenas, Tabasco, a 10 de enero de 2018.

Oscar López Hernández

Firma

Sergio Salgado García

Vo. Bo. Profesor Consejero de Tesis

La presente tesis, titulada “**ESPECTROSCOPIA DEL INFRARROJO CERCANO (NIRS) PARA EL ANÁLISIS QUÍMICO DEL JUGO DE CAÑA DE AZÚCAR EN EL CONTROL DE MADUREZ**”, realizada por el alumno: Oscar López Hernández, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS

POSTGRADO EN PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA EN EL TRÓPICO

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:



DR. SERGIO SALGADO GARCÍA

ASESORA:



DRA. EDITH HERNÁNDEZ NATAREN

ASESORA:



DRA. LUZ DEL CARMEN LAGUNES
ESPINOZA

ASESORA:



DRA. ADRIANA CONTRERAS OLIVA

ASESOR:



DR. SAMUEL CORDOVA SÁNCHEZ

H. CÁRDENAS, TABASCO, MÉXICO, A 19 DE FEBRERO DEL 2018

ESPECTROSCOPIA DEL INFRARROJO CERCANO (NIRS) PARA EL ANÁLISIS QUÍMICO DEL JUGO DE CAÑA DE AZÚCAR EN EL CONTROL DE MADUREZ

Oscar López Hernández, MC.

Colegio de Postgraduados, 2018

RESUMEN

El control de la madurez es de gran importancia para la cosecha de la caña de azúcar, ya que esto permite al ingenio aprovechar al máximo el contenido de sacarosa. Los parámetros utilizados para evaluar la madurez son °Brix y porcentaje de Pol. El objetivo de este trabajo fue determinar el potencial de la espectroscopia del infrarrojo cercano para predecir la concentración de °Brix y porcentaje de Pol en jugos de caña de azúcar. El trabajo se llevó a cabo en la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres en Tucumán, Argentina. °Brix y porcentaje de Pol fueron analizados a partir de 1265 muestras de jugos de caña de azúcar, por los métodos convencionales y por espectrofotometría de infrarrojo cercano (NIRS) utilizando un equipo FOSS NIR Systems modelo 6500 para líquidos. El modelo de predicción para °Brix y porcentaje de Pol en jugos, se generó a partir del tratamiento matemático SNV y Detrend y arreglos 1,4,4,1 y 2,4,4,1 (derivada, GAP y suavizados, respectivamente). Los modelos de predicción generados para °Brix y porcentaje de Pol, tienen valores de error estándar de calibración (SEC) de 0.1334 y 0.3037; error estándar de predicción (SEP) de 0.159 y 0.327; y coeficiente de correlación de la calibración (R^2) de 0.9971 y 0.9905, respectivamente. Estos resultados indican que los modelos desarrollados para °Brix y porcentaje de Pol se pueden utilizar como una alternativa a los métodos convencionales en el control de la madurez de caña de azúcar, ya que, mejoran la velocidad en las determinaciones, no emplean reactivos químicos y requieren de menor mano de obra, aunque más calificada.

Palabras clave: °Brix, calidad de jugo de caña, control de madurez, Pol.

NEAR INFRARED SPECTROSCOPY (NIRS) FOR THE CHEMICAL ANALYSIS OF THE SUGAR CANE JUICE IN THE MATURITY CONTROL

Oscar López Hernández, MC.

Colegio de Postgraduados, 2018

ABSTRACT

The control of maturity is important in the sugarcane harvesting process, as this allows the mill to make to take full advantage the sucrose content. The parameters used to evaluate maturity are Brix degrees and Pol percentage. The objective of this work was to determine the potential of the near infrared spectroscopy to predict the concentration of Brix degrees and Pol percentage in sugarcane juices. The work was carried out at the Experimental Agricultural Station Obispo Colombres in Tucumán, Argentina, 1265 samples of sugar cane juice were collected and analyzed for Brix degrees and Pol using conventional methods and Near Infrared Spectrophotometer (NIRS) using a equipment FOSS NIR Systems model 6500 for liquids. The prediction model for Brix degrees and Pol percentage in juices, was generated from the mathematical treatment SNV and Detrend and arrangements 1,4,4,1 and 2,4,4,1 (derivative, GAP and smoothed, respectively). The prediction models generated for Brix degrees and Pol percentage, have standard error of calibration (SEC) values of 0.1334 and 0.3037; standard error of prediction (SEP) of 0.159 and 0.327; and a calibration correlation coefficient (R^2) of 0.9971 and 0.9905, respectively. These results indicate that the models developed for Brix degrees and Pol percentage can be used as an alternative to conventional methods in the control of sugar cane maturity since they improve the speed in the determinations, do not use chemical reagents and require of less labor, although more qualified.

Keywords: °Brix, Maturity control, Pol, Quality of cane juice

DEDICATORIAS

A Dios, por ser el mejor amigo que he tenido durante el transcurso de mi vida, mi compañero de aventuras, que con su infinito amor y sabiduría me ha guiado en el logro de esta meta.

A mi madre Micaela, por todo su amor y valores que sembró en mi para hacerme una persona humilde, responsable y fiel a su ideología.

A mi padre Pedro, por su amor y ejemplo de perseverancia y constancia para desafiar a la vida.

A mi tía Reyna, por su amor y apoyo a lo largo de mi vida, además de ser un gran ejemplo de superación y éxito para mí.

A mis sobrinos Gustavo, Dulce, Grecia y Emanuel, quienes brindan alegría y motivan mi vida, espero que este logro algún día sea una inspiración más para que realicen sus metas.

A mis hermanos, primos, tíos, tías, por estar siempre motivándome y apoyándome en todas las aventuras que he emprendido a lo largo de mi vida.

A mis abuelos que ya disfrutaban del paraíso y que desde allá me cuidan.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca otorgada para realizar mi formación profesional a nivel Maestría.

A la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC), Tucumán, Argentina, por haber dado la oportunidad y facilidades para la realización de la parte experimental de este proyecto.

Al Dr. Eduardo Romero encargado del área de Agronomía y a la Dra. Silvia Zossi encargada de la sección química de la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres, por todo su apoyo y facilidades brindadas para la realización de este proyecto.

Al personal del área de Agronomía y Laboratorio de la sección química de la EEAOC, en especial a Enrique, Sergio, Natalia y Beatriz, por todo su apoyo durante mi estancia en la EEAOC.

A mi consejo particular por su apoyo, observaciones y facilidades otorgadas para realizar este proyecto de investigación.

Al personal académico y administrativo del Colegio de Postgraduados Campus Tabasco, en especial a la Sra. Celia, Lic. Elsy, Lic. Deyanira, Dr. Zaldívar, por el apoyo brindado durante mi estancia en el Colpos Campus Tabasco.

A mis amigos Geiner y Heydi por su apoyo constante durante toda la travesía para lograr esta meta.

A mis amigos Rafa, Obed, Christian, Noemí, Alejandra, Yesenia, por su apoyo y amistad en esta etapa de mi vida.

A todas aquellas personas que contribuyeron en alguna forma a hacer agradable mi estancia en Tabasco.

CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	x
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	3
2.1. Objetivo general	3
2.2. Objetivos particulares	3
III. HIPÓTESIS	3
IV. REVISIÓN DE LITERATURA	4
4.1. La caña de azúcar	4
4.2. Maduración de la caña de azúcar	5
4.3. Técnicas de cuantificación de °Brix y porcentaje de Pol en jugo de caña de azúcar	7
4.3.1. Métodos convencionales	7
4.3.2. Métodos modernos	8
4.4. Espectroscopía del infrarrojo cercano (NIRS).....	9
4.4.1. La radiación infrarroja (IR)	9
4.4.2. Bases teóricas de la Espectroscopía del Infrarrojo Cercano (NIRS).....	10
4.4.3. Instrumentación y modos de medición	12
4.5. Bases quimiométricas NIRS	14
4.5.1. Análisis Cuantitativo	15
4.6. Fuentes de error de la espectroscopía de infrarrojo cercano (NIRS).....	21
4.7. Aplicaciones de la Espectroscopía NIRS en la industria de la caña de azúcar	22
V. MATERIALES Y MÉTODOS	26
5.1. Localización del área de estudio	26
5.2. Material vegetal	26
5.3. Obtención de las muestras de jugo de caña de azúcar	27
5.3.1. Selección de muestras para el desarrollo del estudio	29
5.4. Obtención de los espectros NIRS	29
5.5. Tratamientos quimiométricos de la señal espectroscópica	31

5.6. Desarrollo de modelos de calibración NIRS	32
5.7. Validación Cruzada	34
5.8. Validación Externa	34
5.9. Análisis de referencia primario.....	34
5.10. Predicción de valores para °Brix y porcentaje de Pol	35
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	36
6.1. Composición química de las muestras.....	36
6.2. Espectros NIRS de las muestras de jugo de caña de azúcar.....	37
6.3. Modelos de predicción para °Brix y porcentaje de Pol.....	38
6.4. Validación cruzada	43
6.5. Validación externa de los modelos	43
6.6. Predicción de valores de °Brix y porcentaje de Pol.....	48
CONCLUSIONES	49
LITERATURA CITADA.....	51
ANEXO I. Comparación de valores obtenidos por el método convencional vs predichos por NIRS.....	60

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Comparación de métodos comunes para la determinación de la calidad de la caña de azúcar. Adaptado de Nawi <i>et al.</i> (2014).	9
Cuadro 2. Subregiones del espectro Infrarrojo. Adaptado de Macho (2002).	10
Cuadro 3. Distribución de muestras de jugo de caña de azúcar procesadas.....	29
Cuadro 4. Composición química promedio de muestras de jugo de caña de azúcar usadas para desarrollar calibraciones de la Espectroscopía en el Infrarrojo Cercano (NIRS).....	36
Cuadro 5. Composición química promedio de muestras de jugo de caña de azúcar usadas para la validación externa.....	37
Cuadro 6. Parámetros estadísticos de muestras de caña de azúcar seleccionadas para la calibración.	42
Cuadro 7. Eliminación de muestras en el proceso de validación cruzada.....	43
Cuadro 8. Parámetros estadísticos de muestras seleccionadas para la validación de los modelos.....	47
Cuadro 9. Estadísticos de predicción de las ecuaciones desarrolladas en muestras de jugo de caña de azúcar.....	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Sección de tallo mostrando los nudos y entrenudos. A. Diagrama del nudo y entrenudo, B. Banda de raíces ancha con primordios radicales, C. Banda de raíces cortas con primordios radicales, D. Banda de raíces en forma conoide, E. Banda de raíces en forma de cono invertido. Fuente: Subirós (2000).-----	5
Figura 2. Fases fenológicas de la caña de azúcar. Fuente: Romero <i>et al.</i> (2009).-----	5
Figura 3. Composición química típica de tallos molederos maduros e inmaduros. Adaptado de Romero <i>et al.</i> (2009).-----	7
Figura 4. Configuraciones del espectrómetro NIR básico. Fuente: Reich (2005).-----	12
Figura 5. Modos de medición NIR. (A / B) transmitancia, (C) reflectancia difusa y (D/E) transflectancia. Fuente: Reich (2005).-----	14
Figura 6. Muestras de caña de azúcar.-----	27
Figura 7. Trapiche planta piloto en el Laboratorio de la Sección Química de la EEAOC.-----	28
Figura 8. Muestras de jugo de caña de azúcar en el Laboratorio de la Sección Química de la EEAOC.-----	28
Figura 9. Espectrofotómetro FOSS NIRSystems modelo 6500 (Silver Spring, Maryland, USA).-----	30
Figura 10. Colocación correcta de la celda con muestra para medición en el equipo NIR.-----	31
Figura 11. Representación tridimensional de la población de muestras según la distancia de Mahalanobis global. Las muestras anómalas (outliers) aparecen enmarcadas.-----	33
Figura 12. Espectros de las 1083 muestras de jugo de caña de azúcar usadas en la calibración en NIRS.-----	38
Figura 13. Validación externa del modelo de °Brix en jugo, donde se muestran los valores predichos por NIRS (°Brix NIR) vs valores del método de referencia primario (°Brix LAB), tratamiento matemático 1, 4, 4, 1.-----	44
Figura 14. Validación externa del modelo de °Brix en jugo, donde se muestran los valores predichos por NIRS (°Brix NIR) vs valores del método de referencia primario (°Brix LAB), tratamiento matemático 2, 4, 4, 1.-----	45
Figura 15. Validación externa del modelo para porcentaje de Pol en jugo, mostrando los valores predichos por NIRS (Pol NIR) vs valores del método de referencia primario (Pol LAB), tratamiento matemático 1, 4, 4, 1.-----	46
Figura 16. Validación externa del modelo para porcentaje de Pol en jugo, mostrando los valores predichos por NIRS (Pol NIR) vs valores del método de referencia primario (Pol LAB), tratamiento matemático 2, 4, 4, 1.-----	46

I. INTRODUCCIÓN

La agroindustria cañera, en México, es de gran importancia por su relevancia económica y social en el campo mexicano, representa el 12 % del sector primario y el 2.5 % del PIB manufacturero, generando 300 mil empleos directos en 227 municipios de 15 entidades federativas del país, donde se cosechan alrededor de 558,154 ha de caña de azúcar por zafra, generando más de 37 mil millones de pesos anuales por la venta del azúcar (CONADESUCA, 2015).

En el país, el rendimiento de azúcar tiene una fluctuación de 4.35 a 14.40 t ha⁻¹ de caña de azúcar, producto de factores ambientales y de manejo agronómico que incluyen diferencias en maduración de los tallos previo a la cosecha (CONADESUCA, 2015). Para determinar el estado de madurez los parámetros que se evalúan por muestra de caña son °Brix y porcentaje de Pol, para lo que se requiere coleccionar muestras de tallos 4 o 5 semanas previas al inicio de la zafra, para ser analizadas en el laboratorio. Las parcelas con calidad de jugo cercano a la madurez son las que se programan para la cosecha; esto asegura aprovechar al máximo el contenido de sacarosa (Salgado-García *et al.*, 2016), ya que en la actualidad la caña de azúcar se paga en relación a su contenido de sacarosa (Salgado *et al.*, 2003; LDSCA, 2005). Por ello, el control sobre el estado de maduración de la caña constituye una de las prácticas de campo y laboratorio más importantes, que deben ser apoyadas por los agricultores e industriales, ya que influyen directamente en la cantidad de azúcar producida por hectárea, y, por lo tanto, en la remuneración económica.

De acuerdo con la Ley de Desarrollo Sustentable de la Caña de Azúcar (LDSCA, 2005) y a Salgado *et al.* (2003) la caña debe ser entregada al molino dentro de las primeras 24 horas después del corte, para evitar la degradación de compuestos químicos (parámetros) que determinan la calidad del jugo de caña, como la sacarosa (>12.5 %), °Brix (18-22 %) y pureza (79-89 %). Los métodos analíticos usados para determinar estos parámetros se establecieron hace más de 70 años (Golcher *et al.*, 1984; Chen, 1991), son laboriosos y consumen tiempo. Sin embargo, el desarrollo de la tecnología ha permitido emplear instrumentos como el espectrofotómetro de infrarrojo cercano (Nawi *et al.*, 2014) en conjuntamente con la quimiometría, para realizar el análisis de estos

parámetros de manera rápida, sin afectar la calidad de los resultados y con un considerable ahorro en el costo de los análisis.

Por lo anterior, en el presente trabajo de investigación se evaluó la capacidad de la tecnología de Espectroscopia del Infrarrojo Cercano (NIRS) para generar los modelos de predicción de °Brix y porcentaje de Pol en jugo de caña de azúcar, que puedan sustituir los métodos convencionales, reduciendo el tiempo de obtención de resultados, y la eliminación de reactivos químicos tóxicos (desechos) como el subacetato de plomo, para contribuir al cuidado del ambiente; además de incidir en la optimización del control sobre calidad del estado de madurez de los tallos molederos de caña de azúcar para mejorar el rendimiento de azúcar.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Evaluar la tecnología de Espectroscopía del Infrarrojo Cercano (NIRS) para predecir parámetros importantes de la calidad del jugo de caña de azúcar, de manera rápida y confiable, durante el proceso de control del estado de madurez de los tallos de caña de azúcar previo a la cosecha.

2.2. Objetivos particulares

Generar un modelo para determinar °Brix en muestras de jugo de caña de azúcar a partir de Espectroscopia del Infrarrojo Cercano (NIRS) para determinar el estado de madurez de los tallos de caña de azúcar previo a la cosecha.

Generar un modelo para determinar el porcentaje de Pol en muestras de jugo de caña de azúcar mediante Espectroscopia del Infrarrojo Cercano (NIRS) para determinar el estado de madurez de los tallos de caña de azúcar previo a la cosecha.

III. HIPÓTESIS

La tecnología de Espectroscopia de Infrarrojo Cercano (NIRS) permite generar modelos para predecir °Brix y porcentaje de Pol, de manera rápida y confiable, durante el proceso de control de la madurez de los tallos de caña de azúcar previo a la cosecha, con resultados similares a los obtenidos con los métodos de referencia convencionales.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. La caña de azúcar

La caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) es un cultivo con metabolismo C4 que le confiere una alta eficiencia fotosintética para convertir el C del CO₂ en biomasa (alta producción de hojas y de tallos), potencialmente puede producir alrededor de 45 t ha⁻¹ de materia seca por año (Fuchs *et al.*, 2005). La planta está constituida por raíces, tallos, hojas y flores, siendo el tallo la estructura de mayor importancia (Figura 1), debido a que, en él se almacenan los carbohidratos producto de la fotosíntesis, y por medio del proceso industrial se obtiene la sacarosa (Subirós, 2000).

Las fases fenológicas del desarrollo y crecimiento de la caña de azúcar (Figura 2), se presentan a continuación, según la clasificación propuesta por Romero y colaboradores en el 2009:

- Establecimiento de la población inicial de tallos (Brotación): Inicia la germinación de las yemas y emergencia de los tallos primarios. Esta fase está condicionada por la temperatura y el comportamiento de las variedades.
- Macollaje y cierre del cañaveral: Se establece el número potencial de tallos cosechables. La intensidad y calidad de la radiación solar influye en la regulación del macollaje.
- Período de gran crecimiento: Se establece la población final de tallos molederos y el peso fresco por tallo. Además, se inicia el almacenamiento de sacarosa en los entrenudos, que van completando su desarrollo.
- Maduración: En esta etapa se define el contenido final de sacarosa en los tallos. Al tiempo que disminuye progresivamente el ritmo de crecimiento de los tallos y el mantenimiento temporal de un área foliar fotosintéticamente activa.

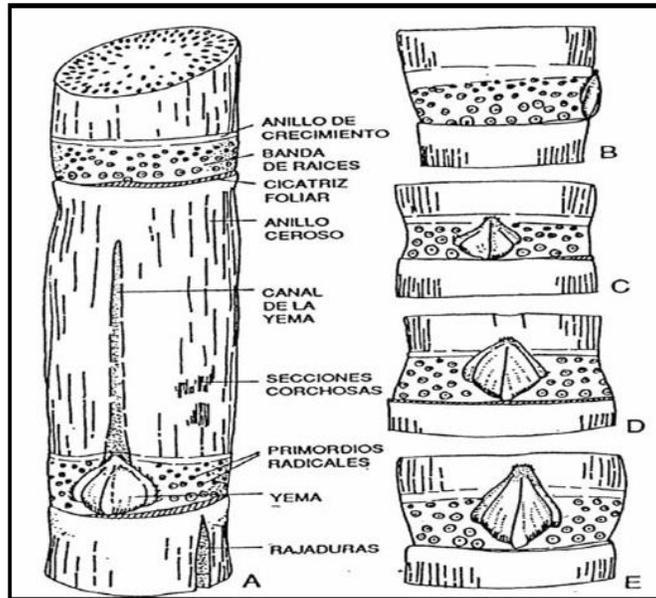


Figura 1. Sección de tallo mostrando los nudos y entrenudos. A. Diagrama del nudo y entrenudo, B. Banda de raíces ancha con primordios radicales, C. Banda de raíces cortas con primordios radicales, D. Banda de raíces en forma conoide, E. Banda de raíces en forma de cono invertido. Fuente: Subirós (2000).

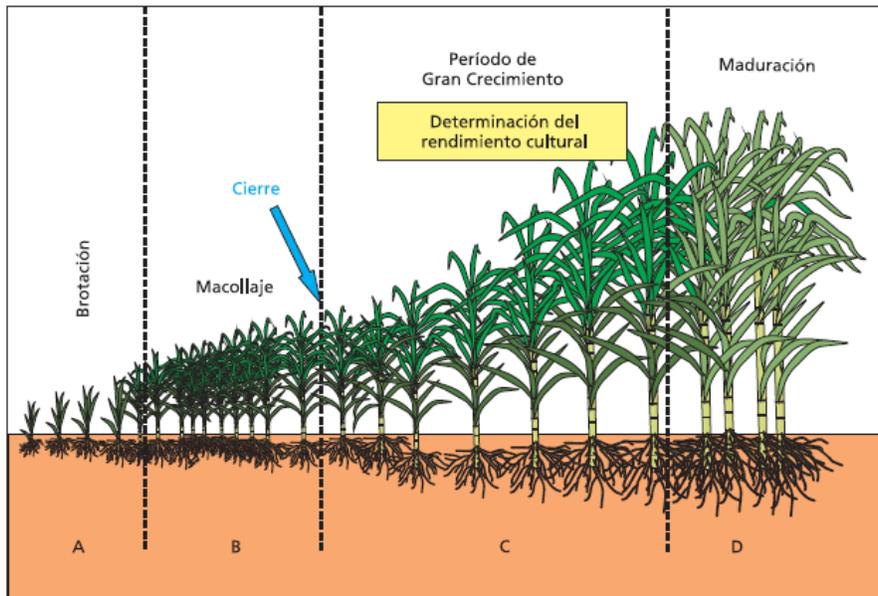


Figura 2. Fases fenológicas de la caña de azúcar. Fuente: Romero *et al.* (2009).

4.2. Maduración de la caña de azúcar

La maduración de la caña de azúcar es el proceso fisiológico mediante el cual la producción de materia verde de la planta se reduce para dar paso a la acumulación de

carbohidratos en forma de sacarosa en los tallos (Subirós, 2000). Los tallos, están constituidos por jugo y fibra; el jugo contiene agua y sólidos solubles (sacarosa y otros constituyentes) cuyo contenido se mide por °Brix (expresado en porcentaje del jugo). El contenido aparente de sacarosa se denomina porcentaje de Pol en jugo (Romero *et al.*, 2009). En la Figura 3 se resume la composición química típica de un tallo moledero y de uno inmaduro.

En la maduración se requiere un bajo contenido de humedad del suelo, por lo que, en caso de riego, se debe disminuir la cantidad de agua aplicada para llevar el cultivo a la madurez, así, se detiene el crecimiento y se propicia la acumulación de carbohidratos y la conversión de azúcares reductores (glucosa y fructosa) a sacarosa (Pereira, 2009). La maduración del tallo ocurre desde la base hacia el ápice y por esta razón la parte basal contiene más sacarosa que la parte superior, a su vez, cada entrenudo sucesivo completa su propio ciclo vegetativo que consta del engrosamiento y alargamiento de las células de la pared, el aumento de materia seca, la deshidratación gradual, así como el aumento y retención de la sacarosa acumulada (Subirós, 2000).

Los parámetros importantes de la calidad de la caña de azúcar para monitorear y evaluar la madurez de los tallos del cultivo son los °Brix, el porcentaje de Pol o sacarosa y la pureza (Salgado *et al.*, 2003; Wagih *et al.*, 2004; Ongin'jo y Olweny, 2011). En México, los parámetros de calidad del jugo de caña aceptados son: 18 a 22 °Brix, >12.5 % de sacarosa (Pol %), 79 a 89 % de pureza (Salgado *et al.*, 2003; LDSCA, 2005).

Uno de los métodos para determinar la madurez de la caña de azúcar es el de programación por °Brix, el cual se basa en la correlación que existe entre los °Brix y el contenido de sacarosa (Pol). Al aumentar los °Brix también lo hace la sacarosa y las diferencias relativas se conservan en el transcurso del tiempo de zafra. Cuando se alcanza el valor máximo de los °Brix en un área determinada, se procede a la cosecha. El muestreo para determinar la madurez comienza cuatro o cinco semanas previas al inicio de la zafra (Subirós, 2000; Salgado-García *et al.*, 2013).

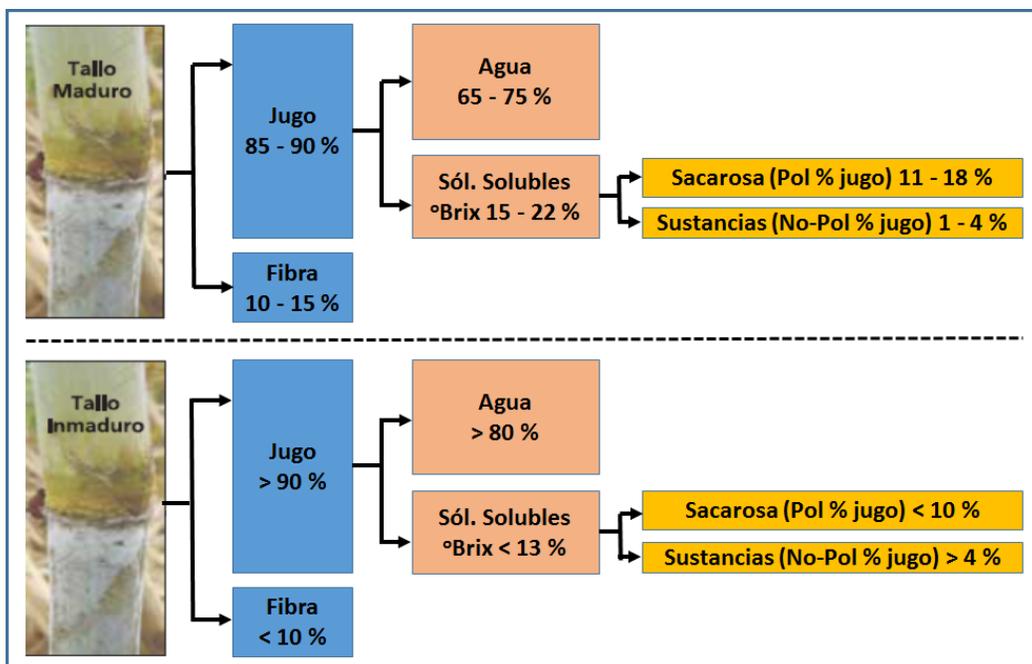


Figura 3. Composición química típica de tallos molederos maduros e inmaduros. Adaptado de Romero *et al.* (2009).

4.3. Técnicas de cuantificación de °Brix y porcentaje de Pol en jugo de caña de azúcar

4.3.1. Métodos convencionales

Los análisis convencionales para la medición del contenido de sacarosa en los tallos de caña de azúcar en el laboratorio, se basan en métodos refractométricos, polarimétricos y cromatográficos (Cadet *et al.*, 1991; Campell *et al.*, 1999; Nawi *et al.*, 2014; Dongare *et al.*, 2015).

Método refractométrico. Un refractómetro determina los °Brix de la caña de azúcar midiendo un índice de refracción de muestras de jugo, que está relacionado con la composición del material en las muestras. Este equipo es relativamente económico y se ha utilizado para la determinación rápida de °Brix en jugos y jarabes. Sin embargo, este método requiere un tiempo de preparación de 5-20 minutos antes de que se puedan analizar las muestras de jugo (Mehrotra y Siesler, 2003).

Método polarimétrico. Un polarímetro es un dispositivo óptico utilizado para medir las concentraciones de materiales activos (valor Pol) en el jugo de caña de azúcar. Este instrumento requiere jugo clarificado para la medición, el cual se obtiene al tratar el jugo

crudo con acetato de plomo y filtrar para eliminar impurezas, la preparación de muestras de jugo puede ser una tarea difícil que consume mucho tiempo, este proceso, puede verse afectado por la presencia de compuestos interferentes, además de la consecuente generación de residuos tóxicos (McCarthy, 2003; Mehrotra y Siesler, 2003).

Método cromatográfico. El contenido de azúcar también puede medirse a través de la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) o análisis cromatográfico gas-líquido (GLC), sin embargo, estos métodos pueden verse afectados por la presencia de compuestos interferentes, por lo que se requiere pretratamientos de las muestras que resultan laboriosos, además de requerir personal altamente calificado y equipos costosos, consumen bastante tiempo, dependen del operador e implican el uso de reactivos químicos peligrosos y tóxicos (Meade y Chen, 1985; Filho *et al.*, 1996; Campbell *et al.*, 1999; Mehrotra y Siesler, 2003).

4.3.2. Métodos modernos

Biosensor. Los biosensores son sensores químicos en los que el sistema de reconocimiento utiliza un mecanismo bioquímico que interconecta el sistema optoeléctrico. El sistema biosensor se basa en el control de la transferencia de electrones resultante de tres reacciones enzimáticas en presencia de sacarosa. Son una opción fiable para la determinación de sacarosa, ya que son relativamente precisos, rápidos, económicos y capaces de monitorear el parámetro de interés en tiempo real, sin embargo, al utilizar elementos biológicos la estabilidad operativa se puede ver reducida (Kumar *et al.*, 2006; Kennedy *et al.*, 2007; Thakur y Ragavan, 2013).

Espectrofotometría NIR. Los espectrómetros NIR se han aplicado en la industria agrícola para determinar los constituyentes químicos de diversos productos (Carlini *et al.*, 2000). Los métodos de espectroscopia pueden aplicarse para determinar la calidad utilizando diferentes regiones de longitud de onda y tienen la ventaja de poder medir la calidad de la caña de azúcar tanto en muestras de jugo como de muestras de tallos y fibras, mientras que las otras tecnologías sólo son capaces de medir muestras de jugo (Cuadro 1). La capacidad de esta tecnología para medir la calidad de diferentes tipos de muestras, ofrece una buena opción para la aplicación en el laboratorio y en campo (Nawi *et al.*, 2014).

Cuadro 1. Comparación de métodos comunes para la determinación de la calidad de la caña de azúcar. Adaptado de Nawi *et al.* (2014).

Método	Forma de la muestra	Tiempo de muestreo (min)	Preparación de la muestra	Cantidad de muestra requerida
Refractométrico	Jugo	5-20	Jugo crudo o clarificado	50-100 mL
Polarimétrico	Jugo	10–20	Jugo clarificado	100-200 mL
Cromatográfico	Jugo	30	Jugo clarificado	100-200 mL
Biosensor	Jugo	5	Jugo crudo	50-200 mmol L ⁻¹
Brix Hidrométrico	Jugo	15–20	Jugo crudo	100-200 mL
Métodos químicos húmedos	Jugo	20	Jugo clarificado	Cada 0.005 g de sacarosa a mezclar con 1 mL de solución de Fehling
Espectroscópico de absorción Infrarroja	Jugo	0.2–1	Jugo crudo o clarificado	50-100 mL
Espectroscópico de absorción Infrarroja	No-jugo		Tallo, entrenudo y muestras fibradas	Un entrenudo o 50 g de fibra

4.4. Espectroscopía del infrarrojo cercano (NIRS)

La espectroscopía es un conjunto de técnicas instrumentales de análisis que se fundamentan en la interacción de la radiación electromagnética con la materia, consiste en la medición e interpretación de los fenómenos de absorción selectiva de la luz que entra en contacto con la muestra o por la emisión de ciertas formas de luz, como resultado de la pérdida de energía interna por parte de la muestra (Zossi *et al.*, 2010; Lourenço *et al.*, 2012).

4.4.1. La radiación infrarroja (IR)

La región del Infrarrojo (IR) del espectro electromagnético se sitúa entre la porción correspondiente al espectro visible y la región de las microondas, esta región a su vez está dividida en tres subregiones: Infrarrojo Cercano (NIR: Near InfraRed), Infrarrojo Medio (MIR: Middle InfraRed) e Infrarrojo Lejano (FIR: Far InfraRed) (Robert y Cadet, 1998; Serway, 1999; Lourenço *et al.*, 2012; Nawi *et al.*, 2014; Ochola *et al.*, 2015). En el Cuadro 2 se indican los intervalos de cada una de ellas y el origen que provoca la absorción de dicha subregión.

La región NIR se establece desde los 780 a 2500 nm, expresado como longitud de onda o lo que es igual, desde 12800 a 4000 cm^{-1} , expresado en número de onda (Murray, 1999; Osborne, 2000; Naes *et al.*, 2004; McClure, 2003; Nicolai *et al.*, 2007; Roggo *et al.*, 2007).

Cuadro 2. Subregiones del espectro Infrarrojo. Adaptado de Macho (2002).

Región	Transición característica	Intervalo de Absorción (nm)	Número de onda (cm^{-1})
Infrarrojo cercano (NIR)	Sobretonos y bandas de combinación de vibraciones fundamentales de las moléculas	700-2500	14300-4000
Infrarrojo medio (MIR)	Vibraciones moleculares fundamentales	2500-50000	4000-200
Infrarrojo lejano (FIR)	Rotaciones moleculares	50000-10 ⁶	200-10

4.4.2. Bases teóricas de la Espectroscopía del Infrarrojo Cercano (NIRS)

La espectroscopía tiene como principio fundamental la interacción de la radiación con la materia, donde ésta experimenta una serie de modificaciones medibles, las cuales dependen de la composición química, atributos físicos y estructurales del material en estudio; esta interacción será de diferente naturaleza, de acuerdo a la región del espectro que se utilice: excitación de electrones (UV y VIS), vibraciones moleculares (NIR y MIR) y rotaciones moleculares (FIR) (Osborne, 2000; Armenta *et al.*, 2007; Nicolai *et al.*, 2007).

Los espectros NIRS son una propiedad física única y característica de cada muestra y son el resultado de los diferentes sobretonos o armónicos de las vibraciones fundamentales, bandas de combinación y absorciones electrónicas de radiación de los grupos funcionales presentes en las moléculas de la muestra, principalmente del tipo –CH, -NH, -OH y –CO (Bertrand y Dufour, 2000; Osborne, 2000; Workman y Shenk, 2004; Bergera *et al.*, 2006a).

Una molécula absorbe radiación infrarroja cuando la energía de radiación coincide con la diferencia de energía entre dos estados energéticos, produciendo un cambio en el momento dipolar de la molécula debido a movimientos vibratorios. Esta absorción es causada principalmente por vibraciones y movimientos de tensión o alargamiento (stretching) y de flexión o deformación (bending) de los enlaces, y depende de las

características físicas y/o químicas de la muestra en estudio (Burns y Ciurczak, 1992; Shenk y Westerhaus, 1995a; Miller, 2001).

La energía absorbida incrementa la energía de los modos de vibración de las moléculas a través de diferentes mecanismos (Burns y Ciurczak, 1992; Osborne, *et al.*, 1993; Naes *et al.*, 2004):

- Sobretonos o armónicos de las vibraciones fundamentales existentes en la región del infrarrojo medio, los cuales son múltiplos aproximados de las vibraciones fundamentales.
- Combinación de dos o más vibraciones fundamentales del infrarrojo medio.
- Absorciones electrónicas, debidas al movimiento de electrones entre diferentes niveles energéticos.

De acuerdo con la ley de la conservación de la energía cuando una muestra se irradia con luz, la radiación puede ser reflejada (I_r), transmitida (I_t) o absorbida (I_a), siendo la sumatoria de estas la radiación total incidente (I_o), las proporciones dependen de la longitud de onda de la luz y las propiedades de la muestra (Murray, 1993; Osborne *et al.*, 1993):

$$I_o = I_a + I_t + I_r$$

La interacción entre la radiación infrarroja y la materia se basa en la ley de Lambert-Beer, la cual establece que la radiación absorbida (absorbancia) a cualquier longitud de onda por una muestra es directamente proporcional a la concentración de moléculas presentes en la trayectoria de radiación que sean capaces de absorber la radiación incidente (Osborne, 2000; Skoog *et al.*, 2001; Siesler, 2002), la cual se expresa con la siguiente ecuación:

$$\text{Absorbancia} = \log\left(\frac{I_t}{I_o}\right) = -\log T = \varepsilon(\lambda) \cdot b \cdot c$$

Donde:

I_o = intensidad de la radiación incidente en la muestra

I_t = intensidad de la radiación transmitida a través de la muestra

T = transmitancia

ϵ = coeficiente de absorción molecular

λ = longitud de onda

b = paso óptico de la luz a través de la muestra

c = concentración de las moléculas absorbentes

4.4.3. Instrumentación y modos de medición

Un espectrómetro NIR está compuesto generalmente por una fuente de luz, un monocromador, un accesorio de presentación de muestra, detector y componentes ópticos, como lentes, colimadores, divisores de haz, esferas integradas y fibras ópticas (Figura 4) (Reich, 2005; Bergera *et al.*, 2006b; Nicolaï *et al.*, 2007).

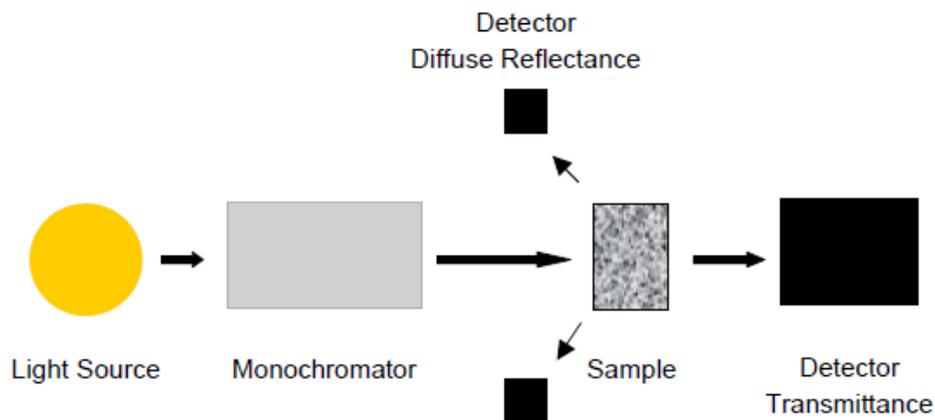


Figura 4. Configuración del espectrómetro NIR básico. Fuente: Reich (2005).

La fuente de luz suele ser una lámpara halógena de tungsteno. Los tipos de detectores incluyen silicio, altamente sensible en la región comprendida entre 400-1100 nm; sulfuro de plomo (PbS), sensibles desde 1100 a 2500 nm; y arseniuro de indio y galio (InGaAs), con rango de longitud de onda de 900-1700 nm. Para la presentación de la muestra se han desarrollado celdas de cuarzo con longitud de trayectoria óptica definida para líquidos, celdas con ventanas de cuarzo para semisólidos y polvos y portamuestras ajustados para tabletas y capsulas (Kawano, 2002; Kawata, 2002; Reich, 2005; Bergera *et al.*, 2006b; Nicolaï *et al.*, 2007).

Los equipos NIRS se clasifican generalmente en función del dispositivo utilizado para la selección de longitudes de onda, teniendo así, monocromadores, instrumentos de filtros

y de matriz de diodos. Los monocromadores son dispositivos que descomponen la luz policromática en longitudes de onda discretas, utilizando un elemento dispersante que puede ser un prisma o una red de difracción, los más utilizados son los que incorporan una red de difracción, debido a que son más baratos, proporcionan mejor separación de longitudes de onda y dispersan linealmente la radiación. Los instrumentos de filtros se basan en un número limitado, por lo general entre seis y veinte filtros de interferencia, estos filtros se eligen para representar las absorciones utilizadas para las aplicaciones más populares, están diseñados para un rango limitado de análisis de rutina. Los equipos de matriz de diodos emplean una serie de diodos emisores de IR, éstos funcionan como la fuente de luz y el sistema de selección de longitud de onda, tienen la ventaja de que la medición es muy rápida (por ejemplo, un espectro por segundo) y no invasiva, son útiles cuando se requiere un alto rendimiento o mediciones ultrarrápidas en línea (Osborne, 2000; Reich, 2005; Bergera *et al.*, 2006b; Nicolai *et al.*, 2007).

El modo de medición NIR apropiado será dictado por las propiedades ópticas de las muestras (Figura 5). En cualquiera de los modos, se miden los valores de absorbancia (A) con respecto a un material de referencia estándar, correspondiendo A a $\log 1/R$ y $\log 1/T$ para los espectros de reflectancia y transmitancia, respectivamente (Reich, 2005). Se consideran cuatro modos de medición NIRS principales (Tsuchikawa, 2007), a continuación, se detalla cada uno de ellos.

En el modo de transmitancia, la radiación NIRS atraviesa la muestra, interactuando en su camino con las moléculas que la componen y siendo en parte absorbida por ellas. La energía que no es absorbida, sigue su camino y es cuantificada por los detectores (transmitancia) ubicados después de la muestra, se suele utilizar tanto para muestras homogéneas como para líquidos (Shenk y Westerhaus, 1995a; Bergera *et al.*, 2006b).

La modalidad de reflectancia, es el efecto producido cuando un haz de luz incide sobre la superficie de un cuerpo, y éste lo devuelve al medio en mayor o menor proporción en función del tipo de material sobre el que incide la luz. El paso óptico es indeterminado, por no saber la profundidad a la que llegará la radiación NIR a la muestra. En este caso la muestra puede ser opaca, pulverizada, o de grosor >1 cm (Osborne, 2000; Bergera *et al.*, 2006b).

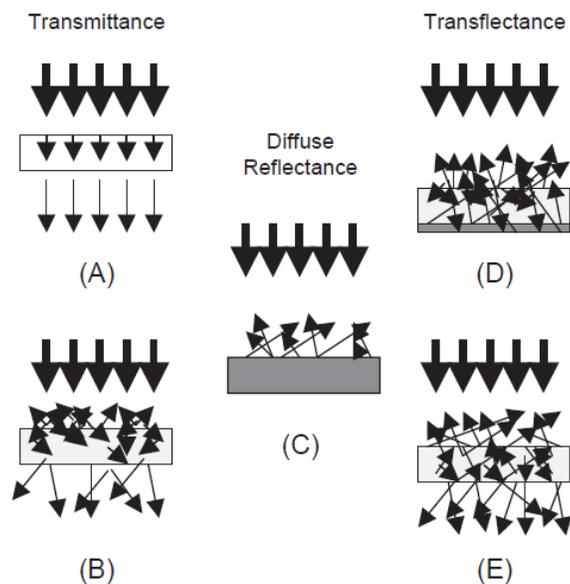


Figura 5. Modos de medición NIR. (A / B) transmitancia, (C) reflectancia difusa y (D/E) transflectancia. Fuente: Reich (2005).

La modalidad transflectancia, se conoce también como doble transmisión (efecto combinado de la reflectancia y transmitancia). En este caso parte de la luz incidente es reflejada en la muestra y otra parte la atraviesa, para ser reflejada por un material colocado en la cara opuesta de la muestra, siendo recogida por el detector (Bergera *et al.*, 2006b).

La modalidad interactancia, desarrollada por Karl Norris, es otra combinación de los modos de medición transmitancia y reflectancia, se basa en el empleo de sondas de fibras ópticas concéntricas, donde un conjunto de haces de fibra óptica transporta la radiación incidente (iluminador de anillo exterior concéntrico) y otro detecta la radiación reflejada (receptor de anillo interno), ambos en contacto con la superficie de la muestra (Kawano *et al.*, 1992; Osborne, 2000; Schaare y Fraser, 2000).

4.5. Bases quimiométricas NIRS

La definición más popular, completa y precisa es la propuesta por Massart *et al.* (1997), que considera a la quimiometría como “la disciplina química que utiliza métodos matemáticos, estadísticos y otros métodos basados en la lógica formal para diseñar o seleccionar procedimientos de medida óptimos, proporcionar la máxima información

química relevante de los datos analíticos y obtener conocimiento acerca de los sistemas químicos”.

El análisis de los espectros NIRS es complicado, por lo que, para poder extraer información de ellos, se requieren técnicas estadísticas multivariantes, para desarrollar ecuaciones de calibración que relacionen los datos espectrales con los parámetros de calidad, medidos a través de un método estándar de laboratorio (Nicolai *et al.*, 2007; Roggo *et al.*, 2007).

El análisis multivariante podría definirse como los diferentes métodos estadísticos, matemáticos o gráficos, que se emplean en el análisis de datos considerando diversas variables de forma simultánea (Martens y Martens, 2001; Naes *et al.*, 2004).

4.5.1. Análisis Cuantitativo

En espectroscopía NIR, el análisis cuantitativo consiste en estimar la concentración de una determinada sustancia en la muestra, relacionando matemáticamente los valores de absorbancia del espectro NIR con la concentración de dicha sustancia, determinada mediante métodos de referencia primarios. A este proceso se le conoce con el nombre de etapa de calibración, denominando a la relación matemática desarrollada como ecuación de calibración y al conjunto de muestras de composición conocida, grupo de calibración. Una vez establecida la ecuación de calibración, es posible predecir la composición físico-química de muestras con características similares a las del grupo de calibración (Shenk y Westerhaus, 1995b, 1996; Williams y Sobering, 1996).

La generación de ecuaciones de calibración robustas que puedan ser aplicadas en prácticamente la totalidad de las muestras y que representen todas las formas de variación esperadas durante un análisis rutinario, requiere el seguimiento de una serie de etapas (Shenk y Westerhaus, 1996), las cuales se describen a continuación.

Obtención de los espectros NIRS

Las muestras, previamente analizadas con métodos de referencia primario, se analizan con el equipo NIR para registrar los espectros de las mismas. Posteriormente, se almacenan en la computadora para su tratamiento (Galea, 2015).

Selección del conjunto de calibración

En el desarrollo de ecuaciones de calibración, las muestras han de ser representativas del producto a analizar, abarcando, además de la variabilidad referente a la composición de las muestras, toda fuente de variación que es posible esperar en un análisis rutinario. A los grupos de muestras que cumplen estas características se les suele denominar librerías espectrales de un producto (Shenk y Westerhaus, 1996).

En las últimas décadas, se han propuesto métodos de selección de muestras para construir el grupo de calibración e incluso, en algunos de los programas de tratamiento quimiométrico de espectros NIR, se suelen incorporar herramientas para la construcción, estructuración y selección de muestras representativas de una librería espectral NIR (Shenk y Westerhaus, 1995b y 1996). La mayoría de dichas herramientas se basan en la realización de un Análisis de Componentes Principales (PCA) (Purcell *et al.*, 2007), seguido del cálculo de distancias entre muestras (espectros) en un espacio n -dimensional, a través, de la distancia de Mahalanobis (De Maesschalck *et al.*, 2000) que posibilita la identificación de las muestras más relevantes para la calibración.

Las muestras utilizadas en espectroscopía NIR presentan numerosas fuentes de variación espectral que dan como resultado modelos poco fiables, por ello para reducir, eliminar o normalizar el efecto de estas fuentes de error sin influir en la información espectral necesaria para la predicción, suelen aplicarse pretratamientos espectrales a los datos (Heise y Winzen, 2002).

Las técnicas de pretratamiento espectral más utilizadas según Heise y Winzen (2002), Naes *et al.* (2004) y Nicolaï *et al.* (2007), son:

- a) Promediado de espectros: Reduce el número de longitudes de onda, o promedia las señales del espectro, para mejorar la relación señal/ruido.
- b) Centrado (Mean Center): Consiste en restar la media a cada variable, para que todos los resultados sean interpretados en términos de variación alrededor de la media.

- c) Suavizado (smoothing): Se utilizan para reducir el ruido aleatorio de los espectros. Los métodos más empleados son el de Savitzky-Golay y la transformada de Fourier.
- d) Derivadas: Eliminan el solapamiento de bandas y las variaciones de la línea base, además de extraer información adicional del espectro. La más utilizada es la segunda derivada, que corrige los efectos aditivos y multiplicativos de los espectros, la primera derivada corrige también estos efectos, pero lo hace en menor grado. El método más utilizado es el de Savitzky-Golay (Artursson *et al.*, 2000; Luypaert *et al.*, 2002), este método de promediación de puntos, selecciona un segmento donde los datos son ajustados mediante un polinomio de grado k , con al menos $k+1$ puntos equiespaciados para determinar el nuevo valor de cada punto, la ventaja de este método es que tiende a conservar características de la distribución inicial, que normalmente desaparecen con otras técnicas de promediado.
- e) Corrección multiplicativa de la dispersión (MSC; Multiplicative Scatter Correction): Es una técnica de normalización utilizada para compensar los efectos multiplicativos y aditivos en los datos espectrales, inducidos por efecto de la dispersión. Intenta eliminar estos efectos desplazando y adaptando cada espectro a un espectro objetivo dado, mediante una regresión lineal.
- f) Varianza Normal Estándar (SNV, Standard Normal Variate): Esta técnica centra y escala los espectros de forma individual, obteniendo efectos muy similares a los del MSC. Cada espectro se centra en torno a cero restando la media y después se divide cada valor de la señal por la desviación estándar de todo el espectro.
- g) Detrending: Consiste en aplicar un polinomio de bajo grado en todos los puntos del espectro y después restar del espectro la curva resultante, para corregir las variaciones de la línea base. Este método suele utilizarse junto con el SNV.

Desarrollo del modelo de calibración

Para el cálculo de la ecuación de calibración existen diferentes métodos de regresión, siendo los más utilizados la Regresión Lineal Múltiple (MLR), la Regresión por Componentes Principales (PCR), la regresión mediante mínimos cuadrados parciales

(PLS), y la regresión mediante mínimos cuadrados parciales modificado (MPLS, Partial Least Squares regression) (Naes *et al.*, 2004; Nicolai *et al.*, 2007; Roggo *et al.*, 2007; Cozzolino *et al.*, 2011).

Las técnicas de regresión multivariante pretenden establecer una relación entre el vector $n \times 1$ de valores de respuesta observados \mathbf{Y} (variables \mathbf{Y} , atributos de calidad de interés) y el vector $n \times N$ de la matriz espectral \mathbf{X} (variables \mathbf{X}), donde n es el número de espectros y N el número de longitudes de onda (Nicolai *et al.*, 2007).

Regresión Lineal Múltiple (MLR). En MLR, \mathbf{Y} se aproxima mediante una combinación lineal de los valores espectrales en cada longitud de onda. Los N coeficientes de regresión se estiman minimizando el error entre los valores de respuesta predichos y observados en un sentido de mínimos cuadrados. Se puede aplicar una técnica de regresión lineal múltiple por pasos (SMLR) para seleccionar un número de variables para la ecuación. SMLR selecciona primero la variable con mayor correlación con los datos \mathbf{Y} , luego una segunda variable que produce la mejora de la precisión de la predicción, luego una tercera variable y así sucesivamente hasta que no se pueda obtener ninguna mejora significativa. Los modelos de MLR normalmente no funcionan bien debido a la colinealidad alta de los espectros y conducen a un ajuste excesivo y pérdida de robustez de los modelos de calibración (Naes *et al.*, 2004; Nicolai *et al.*, 2007).

Regresión por Componentes Principales (PCR). Es un procedimiento de dos pasos, que primero descompone a \mathbf{X} mediante un análisis de componente principal (PCA) y luego se ajusta a un modelo de MLR, utilizando un pequeño número de componentes principales (PC) (o variables latentes) en lugar de las variables originales como predictores. La ventaja con respecto a MLR es que las variables \mathbf{X} (PC) no están correlacionadas. Un inconveniente es que los componentes principales se ordenan de acuerdo a una varianza explicativa decreciente de la matriz espectral, y que los primeros componentes principales que se usan para el modelo de regresión no son necesariamente los más informativos con respecto a la variable de respuesta (Nicolai *et al.*, 2007; Wold *et al.*, 2001).

Regresión de Mínimos Cuadrados Parciales (PLS). En PLS se construye una base ortogonal de variables latentes, una por una, de tal forma que se orientan a lo largo de

direcciones de covarianza máxima entre la matriz espectral \mathbf{X} y el vector de respuesta \mathbf{y} . de esta manera, se garantiza que las variables latentes se ordenan de acuerdo con su relevancia para predecir la variable \mathbf{Y} . La interpretación de la relación entre los datos \mathbf{X} y \mathbf{Y} se simplifica luego, ya que esta relación se concentra en el menor número posible de variables latentes (Wold *et al.*, 2001; Naes *et al.*, 2004; Nicolai *et al.*, 2007).

Regresión de Mínimos Cuadrados Parciales Modificado (MPLS). Este método es más preciso y estable que el PLS y PCR, porque los residuales se estandarizan (normalizan) después de cada iteración, usando tanto componentes principales como valores de referencia (Foss NIRSystems, 2004).

En términos generales, la relación típica de una ecuación de calibración multivariante es la siguiente según Westerhaus *et al.* (2004):

$$y = b_0 + \sum_{i=1}^n b_i (x_i) + e$$

Donde:

y = propiedad a determinar

x = valores de absorbancia para las longitudes de onda $i = 1 \dots n$

b_0 = ordenada en el origen (o bias)

b_i = coeficiente de la regresión para las longitudes de onda $i = 1 \dots n$

e = error del modelo

Validación del modelo

La validación es el paso final en el desarrollo de un método cuantitativo. Los dos métodos de validación utilizados son la validación independiente o externa y la validación cruzada (Naes *et al.*, 2004; Pasquini, 2003).

En la validación cruzada se eliminan un número definido de muestras (segmento) del conjunto de datos y se construye un modelo de calibración para el subconjunto restante y las muestras eliminadas se usan para calcular la predicción residual. El proceso se repite con otros subconjuntos hasta que cada muestra se haya omitido una vez, y al final se estima la varianza de todos los residuos de predicción (Brereton, 2000). En la

validación interna, el conjunto de datos se divide en un conjunto de calibración y uno de validación. El modelo de calibración se construye utilizando el conjunto de calibración, y los residuales de predicción se calculan aplicando el modelo de calibración al conjunto de validación (Naes *et al.*, 2004; Pasquini, 2003).

La validación externa consiste en aplicar el modelo calculado sobre un conjunto de muestras independientes al conjunto de calibración (Cozzolino *et al.*, 2011).

El error de predicción de un modelo de calibración se define como el error cuadrático medio de la validación cruzada (RMSECV) cuando se utiliza la validación cruzada, o como el error cuadrático medio de la predicción (RMSEP) cuando se utiliza la validación interna o externa. Este valor proporciona la incertidumbre promedio que se puede esperar para las predicciones de muestras futuras (Naes *et al.*, 2004; Cozzolino *et al.*, 2003; Valderrama *et al.*, 2007).

El error cuadrático medio de calibración (RMSEC) y el de la validación cruzada (RMSECV) se calcula como (Cozzolino *et al.*, 2003):

$$RMSEC = \sqrt{\frac{\sum_i (y_i - Y_i)^2}{n - t - 1}}$$

$$RMSECV = \sqrt{\frac{\sum_i (y_i - Y_i)^2}{n - t - 1}}$$

Donde:

y_i = valores del método de referencia usados en la calibración

Y_i = valores predichos por la ecuación NIRS

n = número de muestras

t = número de términos del modelo de calibración

Para la validación externa se determina el error cuadrático medio de predicción (RMSEP) según Valderrama *et al.* (2007):

$$RMSEP = \sqrt{\frac{\sum_i (y_i - Y_i)^2}{n}}$$

Donde:

y_i = valores del método de referencia

Y_i = valores predichos por la ecuación NIRS

n = número de muestras

Otro estadístico útil para evaluar las calibraciones NIRS es el RPD (Desviación Residual Predictiva), que se define como la relación entre la desviación estándar de la variable de respuesta y el RMSEP o RMSECV. Valores de RPD por debajo de 3 corresponden a ecuaciones poco confiables para propósitos de predicción, y para valores de 3 a 5 la calidad de la ecuación es aceptable, valores superiores a 5 indican una muy buena ecuación para fines de predicción (Williams, 2001; Fearn, 2002).

También el estadístico R^2 es útil en la evaluación de los modelos de calibración NIRS, representa esencialmente la proporción de varianza explicativa de la variable de respuesta en el conjunto de calibración (R^2_c) o validación (R^2_v) (Brereton, 2000; Naes *et al.*, 2004).

4.6. Fuentes de error de la espectroscopía de infrarrojo cercano (NIRS)

Aun cuando el número de errores que se pueden presentar con el uso de la tecnología NIRS es menor con respecto a otras técnicas analíticas convencionales, estos pueden complicar la obtención de información relevante de los espectros NIR, las fuentes de error se pueden deber a alguno de los siguientes aspectos (Osborne *et al.*, 1993; Reeves, 2000; Williams y Norris, 2001):

- Errores relacionados con el instrumento: relación señal/ruido, divergencia del haz en la celda, exactitud y precisión en la longitud de onda, linealidad de la señal, efectos de interferencia.
- Errores relacionados con las muestras: tamaño de partícula, homogeneidad de composición, densidad, textura, granulometría, estabilidad frente a fluctuaciones de temperatura.

- Fuentes de error operacionales: errores de muestreo, preparación de la muestra, errores del analista, procedimientos estadísticos empleados, errores en los análisis de referencia, entre otras.

4.7. Aplicaciones de la Espectroscopía NIRS en la industria de la caña de azúcar

La tecnología NIRS se ha empleado en la industria azucarera mundial, en Estados Unidos (Johnson, 2001), Sudáfrica (Schäffler y Meyer, 1996; Schäffler, 2001), Australia (Berding *et al.*, 1991; De Brujin, 1997; Nawi *et al.*, 2012 a y b; Nawi *et al.*, 2013; O'Shea *et al.*, 2011), Colombia (Larrahondo *et al.*, 2001 a y b), Argentina (Zossi *et al.*, 2010), Brasil (Valderrama *et al.*, 2007), Kenia (Ochola *et al.*, 2015), China (Hua-Zhou *et al.*, 2014) y Japón (Taira *et al.*, 2013).

En Australia el pago comercial para el cultivo de la caña de azúcar se realiza con base al peso de la caña y el componente conocido como “Azúcar Comercial de Caña” (ACC), la cual se calcula a partir del análisis del jugo (°Brix y %Pol). Berding y colaboradores en 1991, determinaron el ACC a partir del análisis de 161 muestras de jugo, utilizando un espectrofotómetro Technicon 450R NIR, reportando coeficientes de correlación (r) 0.97 para °Brix y 0.98 para Pol. Estos resultados obtenidos en las pruebas de predicción se consideran satisfactorios.

Mediante el uso de la espectroscopía de infrarrojo cercano (NIRS) Valderrama y colaboradores (2007) realizaron la determinación de °Brix, %Pol y azúcares reductores (RS) en jugo de caña de azúcar, las mediciones experimentales se llevaron a cabo en la planta de alcohol Cocamar - Cooperativa Agroindustrial en el estado de Paraná, Brasil, utilizaron 1 381 muestras de jugo de caña de azúcar, las lecturas se realizaron de 1 100 a 2 500 nm en un equipo NIRSystems modelo 5000 monocromador, usando el software ISIScan para la obtención de los espectros, obtuvieron coeficientes de correlación (r) de 0.99 para °Brix y %Pol, y 0.76 para azúcares reductores.

Por otra parte, Zossi y colaboradores (2010), determinaron para las condiciones de la industria azucarera de Tucumán, Argentina, los modelos de calibración para predecir los parámetros °Brix y %Pol en jugo de caña de azúcar, durante las zafas 2005 a 2008, 6757 muestras de jugo de caña de azúcar fueron analizadas de 400-2500 nm en un

NIRSystem 6500 monocromador, para la validación utilizaron 2000 muestras, obteniendo un bajo error estándar de calibración y un significativo coeficiente de correlación 0.98 para %Pol y °Brix.

Así mismo la tecnología NIRS también ha sido utilizada para determinar Pol, azúcares reductores y humedad en caña de azúcar como lo demostraron O'Shea y colaboradores (2011), quienes seleccionaron un total de 389 muestras de azúcar en bruto para ser representativas de las diferentes marcas de azúcar producidas por molinos de Australia. Los espectros NIR se generaron utilizando dos instrumentos NIR diferentes, un InfraXact (IX) y un analizador de Bruker multiusos (MPA). Para el instrumento FOSS IX, las muestras de azúcar fueron escaneados en el modo de reflectancia, en un rango de longitud de onda de 570-1848 nm. Para el instrumento Bruker MPA, las muestras también fueron escaneados en modo de reflectancia, de 800 a 2778 nm. Se obtuvieron coeficientes de correlación (r) para %Pol de 0.97 con FOSS IX y de 0.92 con Bruker MPA; para humedad con FOSS IX y Bruker MPA se obtuvo 0.92 en ambos instrumentos; para azúcares reductores 0.92 con FOSS IX y 0.89 con Bruker MPA. Los resultados indican que los instrumentos NIR son capaces de producir datos precisos y fiables para parámetros de azúcar sin refinar.

Por su parte, Nawi y colaboradores (2012a) aplicaron métodos espectroscópicos NIR para medir la calidad de la caña de azúcar a partir de muestras de tallos enteros, utilizaron un espectrorradiómetro visible y de onda corta en el infrarrojo cercano (Vis / SWNIRS; 400 a 1000 nm) y uno de gama completa (FRS; 400 a 2500 nm) para predecir la calidad de la caña de azúcar basándose en el método de exploración de la sección transversal (CSSM). Encontraron que el coeficiente de determinación (r) para los valores °Brix según lo predicho por el VIS / SWNIRS fue de 0.68 y 0.76 para FRS. Con base en los resultados de su estudio, los autores sugirieron que las muestras de tallo podrían ser utilizadas para la medición espectroscópica en los campos, ya que no requieren la preparación de muestras. Además, Nawi y colaboradores (2012b), realizaron un estudio preliminar usando el VIS / SWNIRS para predecir los valores de °Brix de las muestras de la caña de azúcar internodales basados en el método de la sección transversal (CSSM)

y el método de escaneo de la piel (SSM), los valores de r obtenidos en este estudio para el CSSM y SSM fueron 0.71 y 0.80, respectivamente.

Continuando con sus investigaciones Nawi y colaboradores (2013) mejoraron aún más la medición del valor °Brix a partir de 125 muestras de entrenudos, cada entrenudo se cortó en cuatro secciones de la misma longitud y cada sección de corte fue sometida a los dos métodos de escaneo, se aplicó el CSSM mediante el escaneo de la superficie de la sección transversal de cada sección, mientras que el SSM se aplicó mediante el escaneo de la superficie de la piel de la sección, la reflectancia NIR de las muestras de los entrenudos se midieron utilizando un espectrorradiómetro de gama completa (FRS), el rango espectral para FRS fue entre 350 y 2500 nm con una resolución de 1.4 nm en el rango de 350 – 1 000 nm y 2 nm en el rango de 1 000 – 2 500 nm. La predicción de los valores °Brix de los datos espectrales utilizando el CSSM fue buena, con valores de r de 0.92 y para la SSM 0.82. Este estudio sugiere que el método de espectroscopía tiene el potencial de ser utilizado para medir la calidad de caña de azúcar a partir de muestras tallo en los campos.

Por otra parte, Taira y colaboradores (2013) trabajaron en un sistema de evaluación de calidad de la caña mediante NIRS para la determinación de los pagos a los productores en el sur de Japón; el sistema de evaluación se instaló en 17 Ingenios azucareros de 13 islas que participan en el cultivo de caña de azúcar. El sistema se utiliza para medir el valor de PIC (Índice de Pol Calibrado) de muestras de caña triturada. Todos los datos obtenidos se recogen y se compilan en una instalación central a través de Internet. La precisión del modelo desarrollado fue adecuada con un RMSEP de 0.30 y R^2 de 0.99.

Recientemente Ochola y colaboradores (2015), usaron la técnica NIRS para evaluar la calidad de la caña de azúcar en el oeste de Kenia. Una unidad de prueba piloto fue la encargada en el Nzoia Sugar Factory para evaluar el uso de NIR para el análisis directo de la calidad de la caña. La muestra de caña de 8 kg camión^{-1} fue seleccionada al azar, la muestra fue triturada de forma gruesa, seguido de una trituración fina usando una trituradora Jeffco, se utilizaron un total de 1009 muestras de caña. Los valores de r fueron 0.97, 0.95, 0.84 y 0.87 para °Brix, Pol, humedad y fibra, respectivamente. Los valores de r de este estudio para °Brix (0.97) y Pol (0.95) fueron consistentes con los valores

reportados en otros estudios (Meyer y Wood, 1988; Edye y Clarke, 1996; Schaffler y Meyer, 1996; Staunton *et al.*, 1999; Larrahondo *et al.*, 2001a; Madsen II *et al.*, 2003; Valderrama *et al.*, 2007; Nawi *et al.*, 2012a).

Todos estos estudios de investigación confirman el potencial de la tecnología de Espectroscopía de Infrarrojo Cercano (NIRS) para ser utilizada en diversos propósitos (sistema de pago de caña, sistemas de control de calidad de la caña y de control de procesos) en la industria de la caña de azúcar.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Localización del área de estudio

La presente investigación se desarrolló en el Laboratorio de Investigaciones Azucareras, Sección Química, de la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC), ubicado en la ciudad de San Miguel de Tucumán, provincia de Tucumán, Argentina.

San Miguel de Tucumán se sitúa entre los paralelos 26° y 28° de latitud sur y los meridianos de 64° 30' y 66° 30' de longitud oeste, y una altitud media de 431 msnm. El clima predominante es subtropical con una temporada invernal seca, los veranos son calurosos, con lluvias (abundantes en verano y escasas en invierno) que oscilan entre los 800 y 1000 mm anuales. En primavera y otoño las temperaturas rondan los 25 °C aproximadamente, en verano superan los 40 °C y en invierno son inferiores a 10 °C (Murua y Virla, 2004).

5.2. Material vegetal

En esta investigación se emplearon muestras de tallos de caña de azúcar de diferentes variedades cultivadas en las distintas regiones de la provincia de Tucumán, Argentina. Debido a la confidencialidad de los datos sobre las características y procedencia de las muestras, estos no fueron proporcionados para el desarrollo de este trabajo de investigación, sin embargo, con base a la literatura las principales variedades cultivadas en esta zona cañera son las siguientes según Romero *et al.* (2009):

- a) LCP 85-384. Variedad predominante del área, presenta un elevado rendimiento en campo, con excelente capacidad de macollaje. Sus tallos son livianos, de diámetro delgado y una altura media a baja. Es una variedad de maduración temprana, con un comportamiento excelente con respecto a la acumulación de sacarosa para finales de zafra, adecuándose, por lo tanto, a ser cosechada durante toda la época de zafra. Alcanza un rendimiento promedio de 94.3 t ha⁻¹ en ambientes favorables, y 64.9 t ha⁻¹ en ambientes con limitantes.
- b) TUCCP 77-42: Presenta un elevado rendimiento en campo, con una muy elevada producción de tallos por unidad de área. Sus tallos son pesados, altos y con

diámetro intermedio. Es una variedad de maduración intermedia. Presenta un rendimiento promedio de 106 t ha⁻¹ en ambientes favorables, y 83.7 t ha⁻¹ en ambientes con limitantes.

- c) RA 87-3: Presenta muy buena capacidad productiva, de buen macollaje, con tallos altos de diámetros intermedios a gruesos. Presenta una maduración temprana y un elevado contenido se sacarosa. Su rendimiento promedio es de 84.1 t ha⁻¹ en ambientes favorables, y 67 t ha⁻¹ en ambientes con limitantes.
- d) CP 65-357: Esta variedad de maduración temprana, ha disminuido notablemente su área de distribución como consecuencia del rápido avance de LCP 85-384 que expresa un mayor potencial productivo en ambientes similares a los requeridos por CP 65-357. Presenta un rendimiento promedio de 86.8 t ha⁻¹ en ambientes favorables, y 52.9 t ha⁻¹ en ambientes con limitantes.

Cada muestra de las variedades evaluadas estuvo integrada por 10 tallos de caña de azúcar deshojados y sin el cogollo como se observa en la Figura 6, colectadas mediante el protocolo de muestreo de la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC). Cada muestra es identificada mediante una etiqueta de código de barras.



Figura 6. Muestras de caña de azúcar.

5.3. Obtención de las muestras de jugo de caña de azúcar

Las muestras de caña de azúcar fueron recibidas en el área de trapiche del Laboratorio de la Sección Química, donde fueron procesadas mediante un trapiche de planta piloto

(Figura 7), equipado con un molino de tres rodillos y un nivel de extracción comprendido entre 57% y 65%, para obtener muestras de jugo primario de caña de azúcar limpia, sin basura. Las muestras de jugo presentaron una coloración que fue de marrón a verde oscuro (Figura 8), y una consistencia ligeramente viscosa, dependiendo de las características y procedencia de los tallos.

El jugo extraído de las muestras de tallos de caña de azúcar fue colectado en un recipiente de plástico, y posteriormente pasado a través de un tamiz para eliminar los residuos de fibra, tomando aproximadamente 200 mL en las celdas de medición. Las celdas de medición están fabricadas con polipropileno, son de forma cilíndrica con altura de 8 cm y diámetro de 7 cm.



Figura 7. Trapiche planta piloto en el Laboratorio de la Sección Química de la EEAOC.

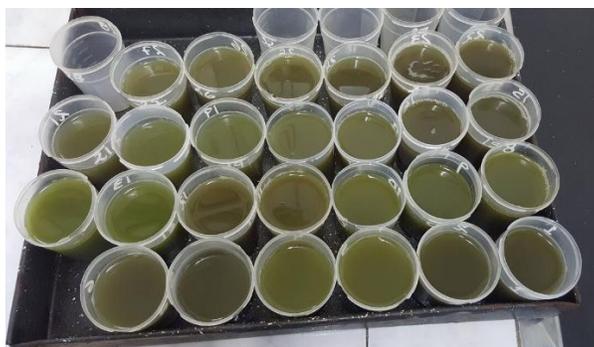


Figura 8. Muestras de jugo de caña de azúcar en el Laboratorio de la Sección Química de la EEAOC.

5.3.1. Selección de muestras para el desarrollo del estudio

Durante la prezafra (marzo y abril) y zafra (mayo, junio y julio) correspondiente al 2017, fueron procesadas 5951 muestras de jugo primario de caña de azúcar limpia, provenientes de distintas regiones cañeras de Tucumán. Del total de muestras procesadas 611 se analizaron en la etapa de prezafra y 5340 en la de zafra. Se realizó una selección de éstas obteniendo un conjunto para el desarrollo de la calibración y otro para validación externa, tomando en consideración solo aquellas que contaban con datos de °Brix y porcentaje de Pol obtenidos mediante métodos de referencia primario en laboratorio. En el Cuadro 3 se presentan los conjuntos de muestras seleccionados para el desarrollo del estudio.

Cuadro 3. Distribución de muestras de jugo de caña de azúcar procesadas.

Conjunto	Número de muestras
Calibración	1083
Validación	182
Muestras sin dato químico	4686
Total muestras procesadas	5951

5.4. Obtención de los espectros NIRS

El análisis de las muestras de jugo de caña de azúcar para obtener los espectros de las variables de estudio mediante NIRS se realizó con un Espectrofotómetro de Infrarrojo Cercano FOSS NIR Systems modelo 6500 (Silver Spring, Maryland, USA) (Figura 9), con detector de transmitancia, lámpara de tungsteno, en un intervalo de lectura de 400 a 2500 nm. Para obtener el espectro se realizó una lectura cada 2 nm en cada una de las muestras mediante el software ISIScan 2.21.

El espectrofotómetro NIR debe encenderse 2 horas previo a la lectura de muestras, esto con la finalidad de estabilizar el equipo, transcurridas las 2 horas se procede a realizar pruebas de mantenimiento y diagnóstico de rutina a través del software ISIScan, para verificar el correcto funcionamiento del equipo. Habiendo realizado estas pruebas se comienza con la lectura de las muestras, para ello es necesario limpiar los electrodos del equipo con agua destilada y secarlos con papel absorbente, hecho esto se cierra la

cubierta del equipo y se da la orden de escaneo mediante el software ISIScan, de esta manera se lleva a cabo el paso de calibración del instrumento.

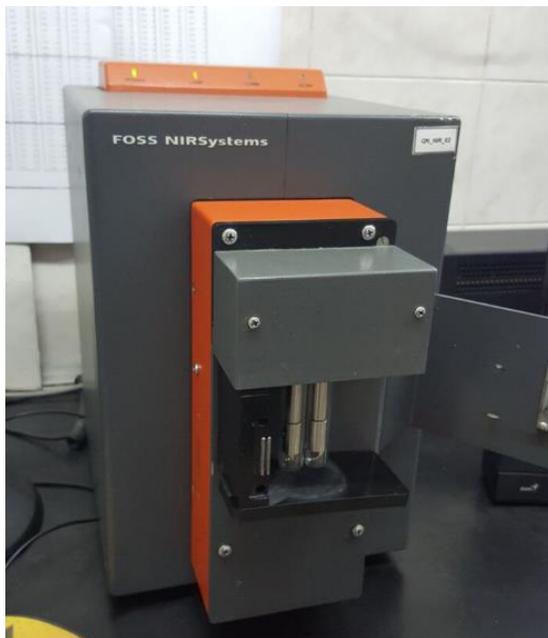


Figura 9. Espectrofotómetro FOSS NIRSystems modelo 6500 (Silver Spring, Maryland, USA).

Posteriormente se coloca la celda que contiene la muestra de jugo de caña de azúcar en el compartimento para lectura (Figura 10), cerrando perfectamente la cubierta del equipo y ordenando el escaneo al equipo NIR. La medición es en modo de transmitancia, y se lleva a cabo en el espacio que existe entre los dos electrodos (camino óptico de 1mm), el haz de luz sale de uno de los electrodos, atraviesa la muestra y se colecta la señal en el otro electrodo. El tiempo que tarda en realizar el escaneo es de un minuto, al término del cual se retira la celda de medición, enjuagando con agua destilada los electrodos y continuando con la siguiente muestra. Después de cada hora de medición se debe volver a calibrar el instrumento de acuerdo al procedimiento descrito anteriormente.



Figura 10. Colocación correcta de la celda con muestra para medición en el equipo NIR.

5.5. Tratamientos quimiométricos de la señal espectroscópica

Los espectros obtenidos mediante el espectrofotómetro NIR se normalizaron y corrigieron con el método SNV (Varianza Normal Estándar) y Detrend, con el cual se corrigen los problemas ópticos y la tendencia de los datos (Barnes *et al.*, 1989).

Para desarrollar los modelos de regresión se evaluaron dos tratamientos matemáticos, en primera y segunda derivada:

- a) 1,4,4,1 (Derivada, Gap, Smooth 1, Smooth 2)
- b) 2,4,4,1 (Derivada, Gap, Smooth 1, Smooth 2)

Los tratamientos matemáticos se describen por cuatro cifras (a, b, c, d), donde el primer dígito (a) indica orden de la diferenciación o pseudoderivada, el segundo número (b) es el intervalo de sustracción o “Gap” (determina cada cuántos nanómetros se hacen las derivadas), y el tercer (c) y cuarto (d) dígito indican el primer y segundo segmento de suavización o “Smooth” (determina el número de puntos usados para suavizar la curva) (Osborne, 2000). Estos tratamientos se aplican con el objetivo de destacar información espectral relevante y reducir el número de datos.

La derivación se utilizó principalmente para aumento de la resolución espectral, incrementando la resolución aparente de bandas espectrales solapadas, como técnica de corrección de absorciones irrelevantes relacionadas con ruido de fondo y para facilitar el análisis multicomponente (Fonseca, 2012).

5.6. Desarrollo de modelos de calibración NIRS

Todo el desarrollo de los modelos de calibración NIRS se realizó por medio del software quimiométrico WINISI III.

El primer paso de la calibración fue la adición de los datos de referencia de los parámetros °Brix y porcentaje de Pol (obtenidos mediante los métodos de referencia primarios) contenidos en una hoja de cálculo de Microsoft Excel, al archivo con extensión *.NIR que contiene los espectros de cada una de las muestras (seleccionadas para la calibración) escaneadas en el espectrofotómetro NIR, esto generó un archivo *.CAL.

Posteriormente se procedió a la creación de “scores” del archivo *.CAL mediante un Análisis de Componentes Principales (PCA) (Purcell *et al.*, 2007), el cual se realizó para detectar muestras fuera de rango (outliers). Este procedimiento calcula los “scores” a partir de la base de datos tomando en cuenta únicamente el espectro sin considerar las variables. En esta etapa se seleccionaron los valores deseados para corrección de dispersión (SNV y Detrend), el tratamiento matemático (1,4,4,1 o 2,4,4,1), y el rango de longitud de onda (1104 – 2496, 4) correspondiente a la región NIR. El software realiza una serie de cálculos y presenta una ventana donde se indicó el número de factores necesarios para tener una explicación de la variación entre los espectros adecuada, se utilizó el valor recomendado por el software. Una vez hecho esto se despliega una tabla donde las muestras son ordenadas en forma ascendente de la distancia global GH (Distancia de Mahalanobis) (De Maesschalck *et al.*, 2000), resaltando en color rojo los valores con $GH > 3.0$ considerados atípicos (outliers). El software también tiene la opción para desplegar una representación tridimensional de los scores, enmarcados dentro de un cubo que indica el límite de aceptación (Figura 11). De esta manera termina la etapa de creación de “scores” y se obtienen dos archivos con el mismo nombre y extensiones *.pca y *.lib.

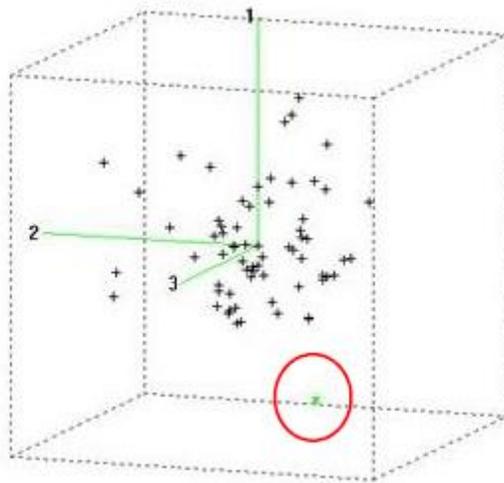


Figura 11. Representación tridimensional de la población de muestras según la distancia de Mahalanobis global. Las muestras anómalas (outliers) aparecen enmarcadas.

Para el desarrollo de las ecuaciones se utilizó el método de regresión de Cuadrados Mínimos Parciales Modificados (MPLS) (Foss NIRSystems, 2004). En esta etapa se establecieron las condiciones para la configuración de opciones del software WINISI III en la obtención de los modelos: corrección de dispersión (SNV y Detrend); tratamiento matemático (1,4,4,1 o 2,4,4,1); rango de longitud de onda (1104 – 2496, 4) correspondiente a la región NIR; máximo número de términos (recomendado por el software); grupos para la validación cruzada (calculado por el software); número de constituyentes (2, Brix y Pol); tres pasos de eliminación de muestras atípicas (outliers) con valores críticos de T igual a 2.5, H de 10, y X igual a 10. Además, se utilizaron como opciones “Normal cross validation display” y “Until user presses continue” con la finalidad que después del cálculo de la variable el algoritmo haga una pausa y se le ordene la opción “continuar” para avanzar con la regresión. Como resultado de esto se despliega una ventana mostrando las muestras de calibración ordenadas de menor a mayor absoluto de la diferencia entre el valor de laboratorio de referencia y el que predice NIR. En este punto se evaluaron las muestras que se quedan en la calibración, muestras con valores de $GH > 3$ y $T > 2.5$ son eliminadas, hecho esto el software vuelve a realizar el cálculo ahora sin las muestras eliminadas, y así se repite la eliminación de muestras dos veces más, para continuar con el siguiente constituyente, siguiendo el procedimiento

anterior. Al término del cual ya se cuenta con una ecuación de calibración (archivo con extensión *.eqa).

5.7. Validación Cruzada

Mediante validación cruzada se obtuvieron los parámetros estadísticos para determinar la calidad de predicción de cada ecuación de calibración desarrollada, como son: SECV (Error estándar de la validación cruzada, estimado del error “real” de la predicción) y 1-VR (Coeficiente de determinación de la validación cruzada, estimación de R^2). Además de considerarse el criterio adicional del índice RPD (SD/SECV).

Los mejores modelos de calibración fueron elegidos de acuerdo con su menor valor de SECV (mientras más tienda a 0 es mejor), mayor valor de 1-VR (mientras más cerca este de 1 mayor es la predicción) y el mayor índice RPD (Valores por debajo de 3 corresponden a ecuaciones poco confiables, valores superiores a 5 indican una muy buena ecuación) (Williams, 2001; Fearn, 2002; Ibañez y Alomar, 2008).

5.8. Validación Externa

Para verificar la precisión del modelo de calibración NIRS, se evaluó el comportamiento de las ecuaciones obtenidas, en la predicción de los parámetros porcentaje de Pol y °Brix, sobre un grupo de muestras de jugo de caña de azúcar diferentes a las usadas en la calibración, con variabilidad para el parámetro en estudio (valores altos, medios y bajos) y analizadas bajo las mismas condiciones que las del conjunto de calibración.

Las mejores ecuaciones de calibración se seleccionaron por su menor valor de error estándar de la predicción SEP (tendiente a 0), y mayor valor de coeficiente de determinación RSQ (R^2 tendiente a 1) (Alomar y Fuchslocher, 1998).

5.9. Análisis de referencia primario

Una vez obtenidas del trapiche las muestras de jugo de caña de azúcar son analizadas siguiendo la metodología registrada en el Manual del azúcar de caña (Spencer y Meade, 1967). Los parámetros que se evalúan para la determinación del estado de la madurez son:

Brix refractométrico: Transferir una pequeña cantidad de jugo (aproximadamente 0.2 mL) al receptáculo destinado a colocar la muestra en el equipo, cerrar el compartimento y leer. La lectura refractométrica a 20 °C expresa el porcentaje de sustancia seca. Se utilizó un refractómetro modelo RA-620, marca KEM (Electronics Manufacturing CO., LTD.) con compensador de temperatura a 20 °C.

Porcentaje de Pol en jugo: Colocar 200 mL de jugo en un vaso de precipitado, agregar 3.0 gramos de subacetato de plomo, mezclar y dejar reposar 15 minutos, posteriormente filtrar usando papel filtro plegado, desechar los primeros 20 mL del filtrado y recoger el resto en un vaso de precipitado, cargar con este el tubo polarimétrico de 200 mm y leer (L1). Se utilizó un polarímetro automático modelo MCP 500, marca Anton Paar. Para obtener el porcentaje de Pol se utilizó la siguiente ecuación:

$$\text{Porcentaje de Pol} = \frac{0.26 * L1}{(0.004209 * \text{°Brix}) + 0.9955}$$

Donde:

L1 = Lectura obtenida del polarímetro

°Brix = lectura obtenida mediante el método Brix refractométrico

5.10. Predicción de valores para °Brix y porcentaje de Pol

A partir de las 4686 muestras del conjunto sin dato químico, se realizó una predicción mediante las ecuaciones desarrolladas para observar el comportamiento de estas.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este apartado se analizan los resultados obtenidos de la caracterización química de las muestras empleadas para la construcción de los modelos de °Brix y porcentaje de Pol, los estadísticos obtenidos de los cuatro modelos de predicción desarrollados, y los resultados de la validación externa de los modelos desarrollados.

6.1. Composición química de las muestras

La concentración promedio del grupo de muestras de caña de azúcar utilizadas en la calibración, para las variables °Brix y porcentaje de Pol en jugo, se muestra en el Cuadro 4. El número de muestras consideradas en las calibraciones fueron 1083 para ambas variables, las cuales corresponden a las etapas de prezafra y zafra 2017.

El amplio rango observado en la concentración de °Brix y porcentaje de Pol de las muestras (Cuadro 4), representa el rango típico de los jugos de caña de azúcar para la zona de la provincia de Tucumán, Argentina. La amplia variación en los dos parámetros de estudio en el grupo de calibración fue una condición óptima para desarrollar ecuaciones de predicción, con alta representatividad de la realidad tal como menciona Murray (1988).

Cuadro 4. Composición química promedio de muestras de jugo de caña de azúcar usadas para desarrollar calibraciones de la Espectroscopía en el Infrarrojo Cercano (NIRS).

Parámetro	Número de muestras	Concentración		
		Media	Desviación estándar	Rango (%)
°Brix	1083	16.18	±2.49	9.07 – 21.82
Pol %	1083	13.35	±3.14	4.09 – 20.1

Es importante considerar un conjunto de muestras grande para llevar a cabo la validación externa de los modelos de predicción desarrollados, puesto que una limitada cantidad puede ser poco representativa para determinar la exactitud de los modelos de calibración. Lo que se espera de un conjunto de muestras de validación para obtener una evaluación adecuada, es una distribución uniforme de la composición provista en todo el rango del parámetro a evaluar. En el Cuadro 5 se presenta la concentración

promedio y el rango para las dos variables de estudio en el conjunto de muestras utilizadas para la validación externa.

Cuadro 5. Composición química promedio de muestras de jugo de caña de azúcar usadas para la validación externa.

Parámetro	Número de muestras	Concentración		
		Media	Desviación estándar	Rango (%)
°Brix	182	16.27	±2.27	10.65 – 21.46
Pol %	182	13.52	±2.86	5.51 – 19.7

A partir de los resultados de referencia del conjunto de muestras de calibración y validación externa (Cuadro 4 y 5) se observa una gran amplitud en los rangos, debido a la heterogeneidad de las muestras. Para la variable porcentaje de Pol el rango observado en el Cuadro 4 y 5, es suficiente para poder determinar el estado de madurez de los tallos de caña de azúcar, pues en México, de acuerdo con la LDSCA (2005) y Salgado y colaboradores (2003) consideran a un tallo de caña de azúcar como maduro cuando éste presenta un porcentaje de Pol >12.5 %. En el caso de los °Brix el rango observado en el Cuadro 4 y 5 necesita ser complementado hasta valores de 24 %, ya que se considera a un tallo de caña de azúcar en estado de madurez óptima cuando éste presenta valores de °Brix entre 18-22 %.

6.2. Espectros NIRS de las muestras de jugo de caña de azúcar

Los espectros NIRS básicamente contienen información sobre la composición orgánica de cada muestra de jugo de caña de azúcar (absorción de grupos como sacarosa, ácidos orgánicos, aminoácidos, etc). En la Figura 12, se muestran los espectros de las 1083 muestras de jugo de caña de azúcar usadas en la calibración, y colectados mediante el software ISlscan 2.21, en el rango de longitudes de onda de 400 a 2500 nm, correspondiente a las regiones visible-NIR del espectro electromagnético. El patrón espectral es similar en todas las muestras de la población, aunque se observa una pequeña diferencia en los valores de absorción al principio de la región visible (400–700 nm). La absorción es bastante fuerte alrededor de 1460 nm y 1940 nm debido a la presencia de moléculas de agua, estos picos de absorción coinciden con los observados por Rober y Cadet (1998), Johnson (2001), Hua-Zhou *et al.* (2014). Para reducir la

interferencia de las moléculas de agua se necesitó utilizar el suavizado como pretratamiento de los datos espectrales.

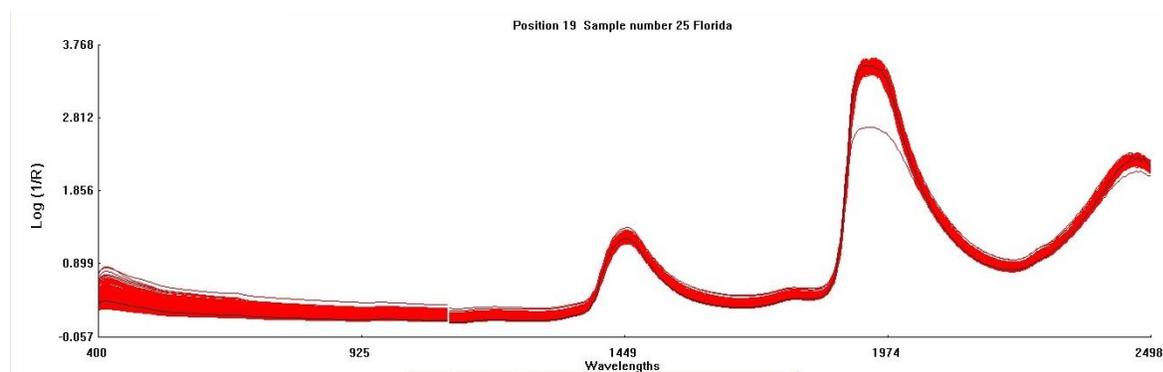


Figura 12. Espectros de las 1083 muestras de jugo de caña de azúcar usadas en la calibración en NIRS.

6.3. Modelos de predicción para °Brix y porcentaje de Pol

En este trabajo se utilizó la región NIR de 1100–2500 nm para la calibración. En la creación de puntuaciones (“scores”), se utilizó un Análisis de Componentes Principales (PCA), que permitió detectar muestras fuera de rango (“outliers”). A los espectros se les aplicó tratamiento cada 4 nm, obteniendo un total de 346 puntos espectrales.

Para °Brix en jugo se aplicó a los espectros un tratamiento matemático SNV y Detrend y arreglo en primera derivada (1, 4, 4, 1), para desarrollar un modelo de predicción. De las 1083 muestras usadas para la calibración, el software seleccionó 1031 muestras espectralmente diferentes y eliminó 52 muestras aberrantes (outliers) para construir el modelo de calibración. Se obtuvo un valor del error estándar de validación cruzada (SECV) de 0.1477, mayor a 0.130 obtenido por Larrahondo y colaboradores (2001a) en muestras de jugo de caña de azúcar, representativas de la industria azucarera colombiana, usando un espectrofotómetro Foss NIRSystems 6500, la diferencia en el valor SECV se puede deber principalmente al rango de longitud de onda (2000-2350 nm) utilizado por Larrahondo y colaboradores (2001a) el cual elimina la información de los espectros en el segmento de 1100-1999 nm a diferencia de este trabajo el cual considera el segmento de 1100-2500 nm, además para el caso específico de este modelo de calibración utiliza un tratamiento matemático en primera derivada diferente al de segunda derivada utilizado por Larrahondo y colaboradores (2001a). Por el contrario el SECV

obtenido en esta investigación fue menor a los obtenidos por Schäffler, (2001), Valderrama y colaboradores (2007) y Zossi y colaboradores (2010), quienes reportaron valores de 0.473, 0.300 y 0.253, respectivamente; la obtención de un valor más alto de SECV por Schäffler (2001) puede deberse a que utilizó muestras de jugo mixto de caña de azúcar las cuales son representativas de la industria azucarera sudafricana, un conjunto de muestras (745) menor, un equipo Foss NIRSystems 5000 para obtención de los espectros diferente al usado en este trabajo, y al hecho de haber aplicado o no un pretratamiento a los espectros, ya que no mencionan esa parte de la metodología en su trabajo; por su parte Valderrama y colaboradores (2007) usaron 1003 muestras de jugo de caña de azúcar, obtenidas mediante prensa hidráulica y posteriormente filtradas a través de algodón, las muestras las obtuvieron de la caña de azúcar transportada en los camiones que ingresan a la planta de alcohol Cocamar – Cooperativa Agroindustrial, ubicada en la ciudad de São Tome, Paraná, Brasil, los espectros se recogieron en un equipo Foss NIRSystems 5000 en un rango de longitud de onda de 1100 a 2500 nm, la diferencia del valor de SECV observado por estos autores con respecto al presente trabajo, se debe principalmente a que el software PLS-Toolbox versión 3.5 para Matlab 6.5 basado en el método de regresión PLS1 se limita al uso de los valores de una sola variable, mientras que el método MPLS utilizado en este trabajo usa los valores de todas las variables a evaluar, ajusta mejor y es más preciso; en el caso de Zossi y colaboradores (2010) utilizaron un número mayor de muestras (2335) de jugo primario de caña de azúcar provenientes de la zona cañera de Tucumán, Argentina, las muestras fueron analizadas en un espectrómetro Foss NIRSystems 6500 en un rango de longitud de onda de 400-2500 nm, se les dio un tratamiento matemático a los espectros mediante un procedimiento normal estándar (SNV) y 2ª derivada, usando un modelo matemático de cuadrados parciales mínimos (PLS), la diferencia en el valor de SECV encontrado con respecto a este trabajo se puede deber al hecho de que para el desarrollo de este modelo en el presente trabajo se utilizó un tratamiento SNV y Detrend, 1ª derivada, y un modelo matemático de cuadrados parciales mínimos modificado (MPLS), este último es más estable y preciso que PLS, porque los residuales se estandarizan después de cada iteración, usando tanto componentes principales como valores de referencia.

En el caso del coeficiente de determinación (R^2) el valor obtenido de 0.9971 resultó mayor a los obtenidos por Larrahondo *et al.* (2001a), Schäffler, (2001), Valderrama *et al.* (2007) y Zossi *et al.* (2010), quienes obtuvieron valores de 0.990, 0.983, 0.990 y 0.986 respectivamente, esta diferencia se debe principalmente al tratamiento matemático (SNV y Detrend) y al método de regresión (MPLS) utilizados en este trabajo, los cuales tienen mayor ajuste y exactitud en los modelos de calibración.

De igual manera, se desarrolló un modelo de predicción para °Brix en jugo, aplicando un tratamiento matemático SNV y Detrend y arreglo en segunda derivada (2, 4, 4, 1) a los espectros, a partir de 1026 muestras que el software seleccionó de las 1083 muestras seleccionadas para la construcción del modelo de calibración. Con este modelo se obtuvo un valor del error estándar de validación cruzada (SECV) de 0.1505, mayor a 0.130 obtenido por Larrahondo y colaboradores (2001a), y menor a los obtenidos por Schäffler, (2001), Valderrama y colaboradores (2007) y Zossi y colaboradores (2010), quienes observaron valores de 0.473, 0.300 y 0.253, respectivamente. Se observa que al aumentar el grado de la derivada en el tratamiento matemático para el desarrollo del modelo de predicción el SECV aumenta (Cuadro 6). En el caso del coeficiente de determinación (R^2) el valor obtenido de 0.9972 resultó mayor a los obtenidos por Larrahondo y colaboradores (2001a), Schäffler, (2001), Valderrama y colaboradores (2007) y Zossi y colaboradores (2010), quienes obtuvieron valores de 0.990, 0.983, 0.990 y 0.986 respectivamente, esto debido a los aspectos ya mencionados en el análisis de resultados del modelo con tratamiento matemático en primera derivada. Con respecto al valor de R^2 no se observa diferencia al utilizar primera o segunda derivada en el tratamiento matemático en el desarrollo del modelo de predicción.

En el caso del porcentaje de Pol en jugo se desarrolló el modelo de predicción aplicando a los espectros, en primer lugar, un tratamiento matemático SNV y Detrend y arreglo en primera derivada (1, 4, 4, 1). De las 1083 muestras usadas para la calibración, el software seleccionó 1020 muestras espectralmente diferentes y eliminó 63 muestras aberrantes (outliers) para construir el modelo de calibración. Se obtuvo un valor del error estándar de validación cruzada (SECV) de 0.3219, mayor a los observados por Larrahondo y colaboradores (2001a) y Zossi y colaboradores (2010), quienes obtuvieron 0.140 y 0.287

respectivamente, y menor a 0.507 y 0.440 obtenidos por Schäffler, (2001) y Valderrama y colaboradores (2007). Para el caso del coeficiente de determinación (R^2) el valor obtenido de 0.9905 resultó ligeramente mayor a los obtenidos por Larrahondo y colaboradores (2001a), Schäffler, (2001), Valderrama y colaboradores (2007) y Zossi y colaboradores (2010), quienes obtuvieron valores de 0.990, 0.982, 0.990 y 0.987 respectivamente, esta diferencia se debe principalmente al tratamiento matemático (SNV y Detrend, 1ª derivada) y al método de regresión (MPLS) utilizados en este trabajo, los cuales tienen mayor ajuste y exactitud en los modelos de calibración.

En segundo lugar, se desarrolló un modelo de predicción para el porcentaje de Pol en jugo aplicando un tratamiento matemático SNV y Detrend y arreglo en segunda derivada (2, 4, 4, 1) a los espectros. En este caso, de las 1083 muestras usadas para la calibración, el software seleccionó 1029 muestras espectralmente diferentes y eliminó 54 muestras aberrantes (outliers) para construir el modelo de calibración. El valor del error estándar de validación cruzada (SECV) fue de 0.3464, mayor a 0.140 y 0.287 obtenidos por Larrahondo y colaboradores (2001a) y Zossi y colaboradores (2010), y menor a 0.507 y 0.440 observados por Schäffler, (2001) y Valderrama y colaboradores (2007). Para el caso del coeficiente de determinación (R^2) el valor obtenido de 0.9888 resultó mayor a los obtenidos por Schäffler, (2001) y Zossi y colaboradores (2010), quienes obtuvieron valores de 0.982 y 0.987 respectivamente, y menor a 0.99 mencionado por Larrahondo y colaboradores (2001a) y Valderrama y colaboradores (2007). Se observa que, al aumentar el grado de la derivada en el tratamiento matemático para el desarrollo del modelo de predicción, el SECV aumenta al mismo tiempo que el R^2 disminuye (Cuadro 6).

La calibración de los parámetros °Brix y porcentaje de Pol evaluados fue adecuada (Cuadro 6), debido al bajo error estándar de calibración (SEC), bajo error estándar de validación cruzada (SECV) y un significativo coeficiente de determinación (R^2) obtenidos. En el Cuadro 6, también se observa que los valores RPD para °Brix y porcentaje de Pol son mayores a 5, por lo tanto, como lo establece Williams (2001), los modelos desarrollados presentan un alto poder de predicción, sobretodo, es evidente que los modelos desarrollados para °Brix tienen un mayor poder de predicción que los

obtenidos para porcentaje de Pol, esto se explica por el hecho de que el método de referencia primario empleado en la determinación de los °Brix incorpora menor cantidad de error en el análisis, al prácticamente ser una medición directa sobre el refractómetro, a diferencia de la obtención del porcentaje de Pol, el cual involucra una serie de pasos antes de la lectura en el polarímetro y mayor manipulación por el analista, y por tanto, la incorporación de una mayor cantidad de error en el análisis, considerando que la predicción con NIRS es un método secundario que depende completamente de la precisión y exactitud de los valores de referencia de los métodos primarios.

Los resultados obtenidos muestran que cualquiera de los cuatro modelos desarrollados (Cuadro 6) es apropiado para predecir el parámetro evaluado (°Brix, porcentaje de Pol). No obstante, los modelos obtenidos mediante el tratamiento SNV y Detrend con arreglo 1, 4, 4, 1 resultaron ser mejores para la predicción de las variables evaluadas dados las mayores R², RPD y menor SECV.

Los valores máximos y mínimos de cada parámetro indican los rangos dentro de los cuales la ecuación tiene capacidad de lectura. Cuando se presentan valores fuera de estos rangos se recomienda una extensión de la ecuación incluyendo nuevas muestras que abarquen los valores requeridos calibrar.

Cuadro 6. Parámetros estadísticos de muestras de caña de azúcar seleccionadas para la calibración.

Parámetro	Tratamiento matemático	n	Media	SD	Rango	R ²	SEC	SECV	RPD
°Brix en jugo	SNV y Detrend 1, 4, 4, 1	1031	16.21	±2.49	8.75 – 23.67	0.9971	0.1334	0.1477	16.9
°Brix en jugo	SNV y Detrend 2, 4, 4, 1	1026	16.21	±2.48	8.78 – 23.65	0.9972	0.1301	0.1505	16.5
Pol % en jugo	SNV y Detrend 1, 4, 4, 1	1020	13.35	±3.12	3.98 – 22.72	0.9905	0.3037	0.3219	9.7
Pol % en jugo	SNV y Detrend 2, 4, 4, 1	1029	13.38	±3.12	4.03 – 22.73	0.9888	0.3260	0.3464	9.0

n = número de muestras.

SD = desviación estándar de los valores de referencia.

SEC = Error estándar de la calibración.

SECV = Error estándar de validación cruzada, estimado del error “real” de la predicción.

R² = Coeficiente de determinación de la calibración.

RPD = Desviación predictiva residual (SD/SECV).

6.4. Validación cruzada

En la validación interna realizada durante el desarrollo de obtención de las ecuaciones de calibración mediante validación cruzada, muestras con valores estadísticos $T > 2.5$ y $H > 3$ fueron consideradas como “outliers” y eliminadas del conjunto de datos. Por lo tanto, el modelo de calibración se construyó para el subconjunto restante. En el Cuadro 7 se detalla el número de muestras eliminadas por el software durante el desarrollo de la validación cruzada, en los tres pasos de eliminación, para cada uno de los tratamientos estudiados.

Cuadro 7. Eliminación de muestras en el proceso de validación cruzada.

Parámetro	Tratamiento matemático	Muestras eliminadas			Total	Muestras utilizadas para el modelo
		Paso 1	Paso 2	Paso 3		
°Brix en jugo	SNV y Detrend 1, 4, 4, 1	19	22	11	52	1031
°Brix en jugo	SNV y Detrend 2, 4, 4, 1	22	11	14	47	1026
Pol	SNV y Detrend	33	19	11	63	1020
% en jugo	1, 4, 4, 1					
Pol	SNV y Detrend	30	17	7	54	1029
% en jugo	2, 4, 4, 1					

6.5. Validación externa de los modelos

Los estadísticos resultantes de la validación externa de los modelos desarrollados, utilizando 182 muestras de jugo de caña de azúcar se muestran en el Cuadro 8. Los valores de comparación entre el método de referencia primario y las predicciones NIRS para estimar los contenidos de los °Brix en jugo de caña de azúcar se muestran en las Figuras 13 y 14 y se incluyen en los Cuadros 1 y 2 (Anexo I). Los valores del error estándar de predicción (SEP) fueron 0.159 y 0.179 para el modelo con tratamiento matemático SNV y Detrend y arreglo 1, 4, 4, 1; y SNV y Detrend y arreglo 2, 4, 4, 1, respectivamente. Estos valores son menores a los obtenidos por Zossi *et al.* (2010) y Valderrama *et al.* (2007), quienes obtuvieron valores de 0.213 y 0.280, respectivamente; Schäffler (2001) y Larrahondo *et al.* (2001a) obtuvieron un valor de 0.15 similar al

obtenido en este estudio con el tratamiento en primera derivada (SNV y Detrend y arreglo 1, 4, 4, 1).

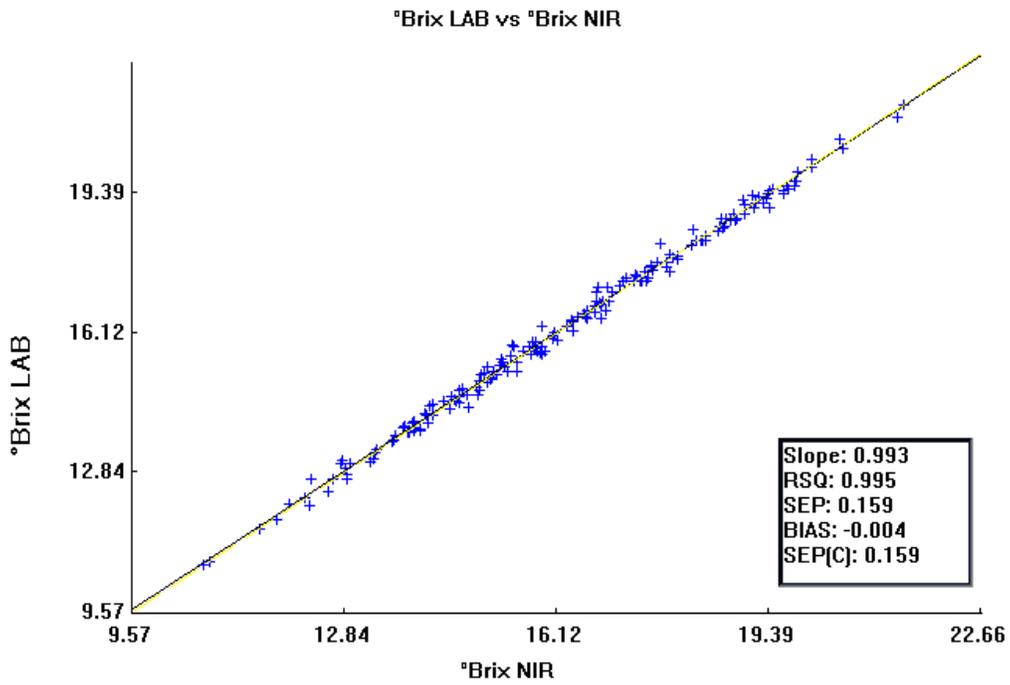


Figura 13. Validación externa del modelo de °Brix en jugo, donde se muestran los valores predichos por NIRS (°Brix NIR) vs valores del método de referencia primario (°Brix LAB), tratamiento matemático 1, 4, 4, 1.

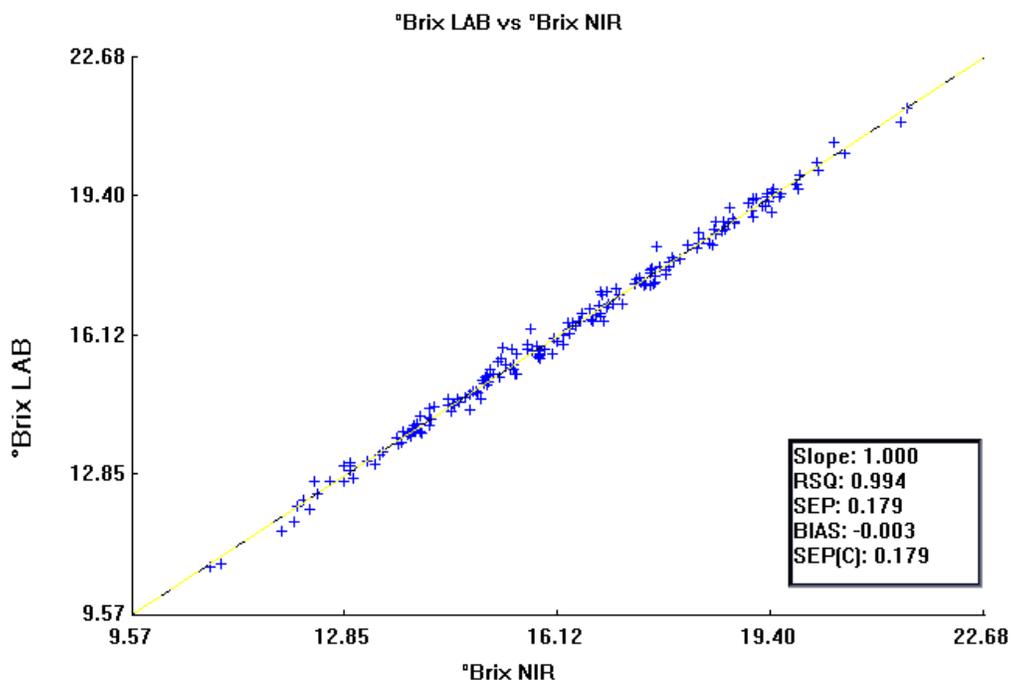


Figura 14. Validación externa del modelo de °Brix en jugo, donde se muestran los valores predichos por NIRS (°Brix NIR) vs valores del método de referencia primario (°Brix LAB), tratamiento matemático 2, 4, 4, 1.

Los valores del coeficiente de determinación (R^2) fueron de 0.995 y 0.994 para el modelo con tratamiento matemático SNV y Detrend y arreglo 1, 4, 4, 1, y SNV y Detrend y arreglo 2, 4, 4, 1, respectivamente. Valores similares a los reportados por Larrahondo *et al.* (2001a) y Valderrama *et al.* (2007); y mayores a los obtenidos por Schäffler (2001) y Zossi *et al.* (2010) que fueron de 0.978 y 0.987, respectivamente.

Estos valores bajos de SEP y altos coeficientes de determinación (R^2) (Cuadro 8) indican que cualquiera de los dos modelos de calibración predice con un bajo nivel de incertidumbre los °Brix en muestras de jugo de caña de azúcar en el rango de variación observado para este parámetro.

Por otra parte, los valores de comparación entre el método de referencia primario y las predicciones NIRS para estimar los porcentajes de Pol en jugo de caña de azúcar se incluyen en las Figuras 15 y 16 y los Cuadros 3 y 4 (Anexo I).

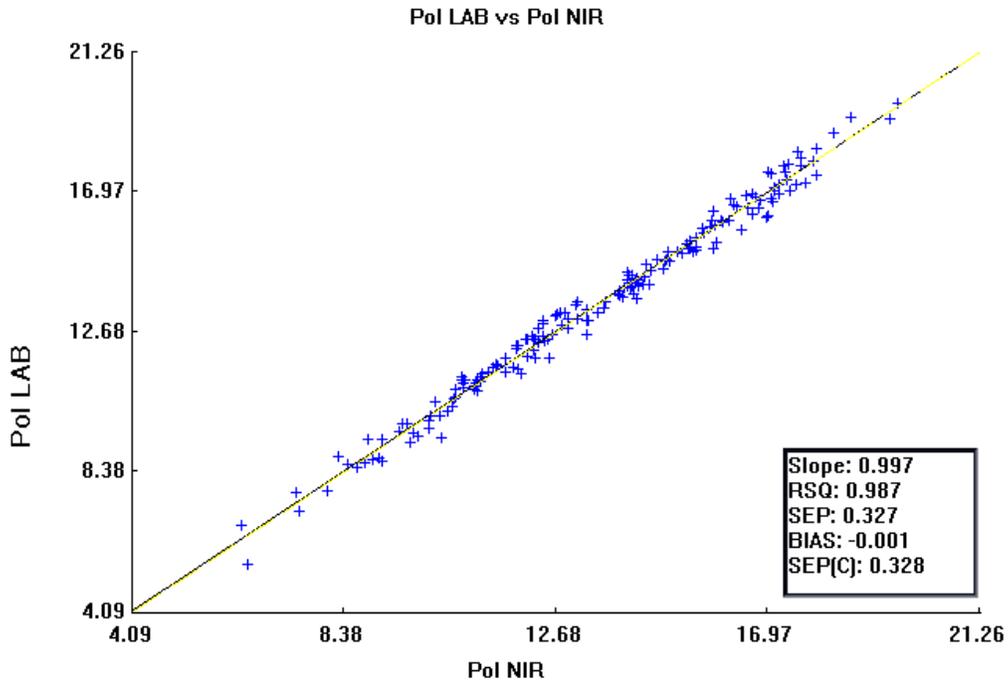


Figura 15. Validación externa del modelo para porcentaje de Pol en jugo, mostrando los valores predichos por NIRS (Pol NIR) vs valores del método de referencia primario (Pol LAB), tratamiento matemático 1, 4, 4, 1.

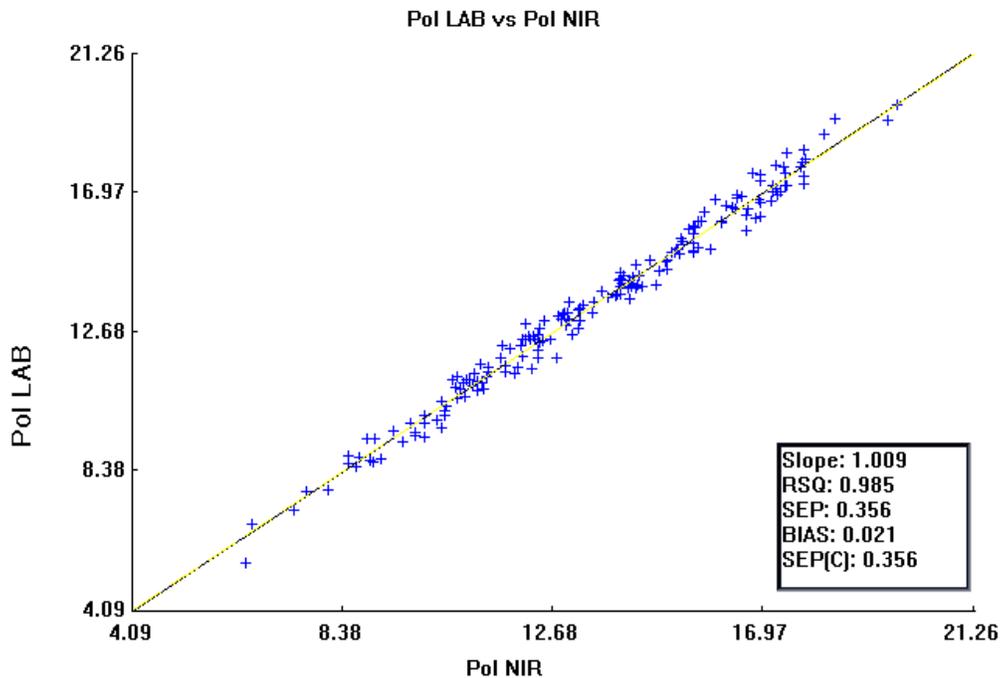


Figura 16. Validación externa del modelo para porcentaje de Pol en jugo, mostrando los valores predichos por NIRS (Pol NIR) vs valores del método de referencia primario (Pol LAB), tratamiento matemático 2, 4, 4, 1.

Los valores del error estándar de predicción (SEP) fueron 0.327 y 0.356 para el modelo con tratamiento matemático SNV y Detrend y arreglo 1, 4, 4, 1, y SNV y Detrend y arreglo 2, 4, 4, 1, respectivamente. Estos valores son menores al 0.420 obtenido por Valderrama *et al.* (2007), y mayores a los de Larrahondo *et al.* (2001a), Schäffler (2001) y Zossi *et al.* (2010), quienes obtuvieron valores de 0.150, 0.140 y 0.231, respectivamente.

Para el caso de los valores del coeficiente de determinación (R^2), estos fueron de 0.987 y 0.985 para el modelo con tratamiento matemático SNV y Detrend y arreglo 1, 4, 4, 1, y SNV y Detrend y arreglo 2, 4, 4, 1, respectivamente, similares al reportado por Zossi *et al.* (2010) de 0.988, mayores a 0.979 reportado por Schäffler, (2001) y menores a 0.99 obtenido por Valderrama *et al.* (2007) y Larrahondo *et al.* (2001a).

Los valores obtenidos en este estudio (Cuadro 8), muestran bajos errores estándar de determinación (SEP) y altos coeficientes de determinación (R^2) que indican que cualquiera de los dos modelos de calibración predice con un bajo nivel de incertidumbre, el porcentaje de Pol en jugo de caña de azúcar.

Cuadro 8. Parámetros estadísticos de muestras seleccionadas para la validación de los modelos.

Parámetro	Tratamiento matemático	n	R^2	SEP
°Brix en jugo	SNV y Detrend 1, 4, 4, 1	182	0.995	0.159
°Brix en jugo	SNV y Detrend 2, 4, 4, 1	182	0.994	0.179
Pol % en jugo	SNV y Detrend 1, 4, 4, 1	182	0.987	0.327
Pol % en jugo	SNV y Detrend 2, 4, 4, 1	182	0.985	0.356

n = número de muestras.

R^2 = Coeficiente de determinación.

SEP = Error estándar de predicción.

Para °Brix y porcentaje de Pol se destaca en este estudio la alta relación entre datos predichos por NIRS y los datos de referencia, lo que conlleva a elevar considerablemente la calidad de predicción de las ecuaciones generadas. La confiabilidad se ve robustecida por el elevado número de muestras utilizadas en calibración y validación, así como el amplio rango de variación en los valores de los parámetros °Brix de 8.75 – 23.67 y porcentaje de Pol 3.98 – 22.72. Estos rangos son más amplios que los utilizados por

Larrahondo *et al.* (2001a), Schäffler (2001), Valderrama *et al.* (2007) y Zossi *et al.* (2010) para generar las ecuaciones de predicción. La amplia variación de la composición del grupo de calibración es una condición determinante para desarrollar ecuaciones de predicción, con alta representatividad de la realidad tal como lo indica Murray (1988).

6.6. Predicción de valores de °Brix y porcentaje de Pol

Una vez que se obtuvieron las ecuaciones para °Brix y porcentaje de Pol, se utilizó el conjunto de espectros que no contaban con datos químicos de estos parámetros obtenidos, mediante los métodos de referencia primarios para predecir los valores de los parámetros evaluados. Los resultados estadísticos se muestran en el Cuadro 9. Dentro de este grupo no existieron muestras fuera del rango de variación utilizado para la calibración con el grupo de muestras inicial.

Cuadro 9. Estadísticos de predicción de las ecuaciones desarrolladas en muestras de jugo de caña de azúcar.

Parámetro	Ecuación	Número de muestras	Concentración predicha NIRS		
			Media	Desviación estándar	Rango (%)
°Brix en jugo	SNV y Detrend 1, 4, 4, 1	4686	17.14	±1.62	9.81 – 20.81
°Brix en jugo	SNV y Detrend 2, 4, 4, 1	4686	17.15	±1.62	9.78 – 20.88
Pol	SNV y Detrend	4686	14.68	±1.99	5.62 – 19.16
% en jugo	1, 4, 4, 1				
Pol	SNV y Detrend	4686	14.69	±1.97	5.51 – 19.28
% en jugo	2, 4, 4, 1				

Lo anterior indica que es posible utilizar las ecuaciones NIRS generadas para predecir la concentración de los °Brix y porcentaje de Pol en muestras donde se tienen datos químicos de referencia y también en muestras que no se cuente con estos, siempre y cuando se encuentren dentro del rango de variación observado en el grupo utilizado para la calibración.

CONCLUSIONES

Con base en la hipótesis general, la cual plantea que *la tecnología de Espectroscopía de Infrarrojo Cercano (NIRS) permite generar modelos para predecir °Brix y porcentaje de Pol, de manera rápida y confiable, durante el proceso de control de la madurez de los tallos de caña de azúcar previo a la cosecha, con resultados similares a los obtenidos con los métodos de referencia convencionales se concluye:*

- La tecnología NIRS permite obtener los modelos con bajo nivel de incertidumbre para predecir la calidad del jugo de caña de azúcar (°Brix y porcentaje de Pol) en el proceso de control del estado de madurez del cultivo.
- Los valores obtenidos con los métodos de referencia primarios y con las ecuaciones generadas con los modelos presentan una alta relación, reducen el tiempo de obtención de resultados, se disminuye el uso de reactivos químicos, contribuyendo así, al cuidado del ambiente, y optimizando el control sobre la calidad del estado de madurez de los cultivos de caña de azúcar para la cosecha y fabricación del azúcar.
- Los espectros NIRS dan información suficiente para generar modelos de estimación para °Brix y porcentaje de Pol en jugo. El mejor modelo de predicción para °Brix en jugo es el que presenta un R^2 de 0.9971, SEC de 0.1334, SECV de 0.1477, SEP de 0.159 y RPD de 16.9 correspondiente al realizado con un tratamiento matemático SNV y Detrend, y arreglo en primera derivada (1,4,4,1). En el caso del porcentaje de Pol en jugo el mejor modelo de predicción corresponde al desarrollado con tratamiento matemático SNV y Detrend, y arreglo en primera derivada (1,4,4,1), con un R^2 de 0.9905, SEC de 0.3037, SECV de 0.3219, SEP de 0.327 y RPD de 9.7.

Estos resultados obtenidos empleando la tecnología NIRS son muy satisfactorios, ya que muestran la fiabilidad del reemplazo de las determinaciones convencionales de °Brix y porcentaje de Pol en jugo en los laboratorios de campo de los ingenios azucareros. Permitiéndoles determinar el estado de madurez del cultivo de caña de azúcar, y con ello, pueden establecer de manera eficaz el momento idóneo de la cosecha de la caña de azúcar, para obtener el máximo aprovechamiento de la sacarosa, lo cual redundará en

el beneficio tanto de productores como de los ingenios azucareros encargados del proceso de extracción del azúcar de la caña.

LITERATURA CITADA

- Alomar, D. y Fuchslocher, R. 1998. Fundamentos de la espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) como método de análisis de forrajes. *Agro Sur* 26(1): 88-104.
- Armenta, S., Garrigues, S. and De la Guardia, M. 2007. Partial least squares-near infrared determination of pesticides in comercial formulations. *Vibrational Spectroscopy* 44: 273-278.
- Artursson, T., A. Hagman, S. Björk, J. Trygg, S. Wold and S. P. Jacobsson. 2000. Study of preprocessing methods for the determination of crystalline phases in binary mixtures of drug substances by X-ray power diffraction and multivariate calibration. *Applied Spectroscopy* 54(8): 1222-1230.
- Barnes, R. J., Dhanoa, M. S. and Lister, S. J. 1989. Standard normal variate transformation and de-trending of near-infrared diffuse reflectance spectra. *Applied Spectroscopy* 43: 772-777.
- Berding, N., G. A. Brotherton, D. G. le Brocq and J. C. Skinner. 1991. Near Infrared Reflectance Spectroscopy for analysis of sugarcane from clonal evaluation trials: II. Expressed Juice. *Crop Science* 31: 1024-10.
- Bergera, G., Jarén, C. y Arazuri, S. 2006a. Introducción a la espectroscopía de infrarrojo cercano en la horticultura. *Horticultura Internacional* 52: 58-63
- Bergera, G., Jarén, C., Arazuri, S. y Arana, I. 2006b. Instrumentación para la espectroscopía de infrarrojo cercano. *Horticultura: Revista de industria, distribución y socioeconomía hortícola: frutas, hortalizas, flores, plantas, árboles ornamentales y viveros* 194: 30-33.
- Bertrand, D. and Dufour, E. 2000. *La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques*. Editions Tec & Doc, Paris, France. 566 p.
- Brereton, R. G. 2000. Introduction to multivariate calibration in analytical chemistry. *The Analyst* 125: 2125-2154.
- Burns, D. A. and Ciurczak, E. W. 1992. *Handbook of near infrared analysis*. Eds., Marcel Dekker, New York, USA. 681 p
- Cadet, F., D. Bertrand, P. Robert, J. Maillot, J. Dieudonné and C. Rouch. 1991. Quantitative determination of sugar cane sucrose by multidimensional statistical analysis of their mid-Infrared attenuated total reflectance spectra. *Applied Spectroscopy* 45: 166-172.

- Campbell, J. A., Hansen, R. and Wilson, J. R. 1999. Cost effective colorimetric microtitre plate enzymatic assays for sucrose, glucose and fructose in sugarcane tissue extracts. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 79: 232–236.
- Carlini, P., Massantini, R. and Mencarelli, F. 2000. Measurement of soluble solids in cherry and apricot by PLS regression and wavelength selection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 5236–5242.
- Chen, J. C. P. 1991. *Manual de Azúcar de Caña*. Edit. Limusa. México. 1200 p.
- CONADESUCA. 2015. *Zafra 2014/2015: Resultados*. SAGARPA. México, D.F. 4 p.
- Cozzolino, D., Smith, H. E. and Gishen, M. 2003. Feasibility study on the use of visible and near-infrared spectroscopy together with chemometrics to discriminate between commercial white wines of different varietal origins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 7703-7708.
- Cozzolino, D., Cynkar, W. U., Shah, N. and P. Smith. 2011. Multivariate data analysis applied to spectroscopy: Potential application to juice and fruit quality. *Food Research International* 44: 1888-1896.
- De Brujin, J. M. 1997. Development and application of automatic NIRS in factory laboratories. *Zuckerindustrie* 11: 878–882.
- De Maesschalck, R., Jouan-Rimbaud, D. and Massart, D. L. 2000. The Mahalanobis distance. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 50: 1-18.
- Dongare, M. L., P. B. Buchade and A. D. Shaligram. 2015. Refractive Index based optical Brix measurement technique whit equilateral angle prism for sugar and allied industries. *Optik – International Journal for Light and Electron Optics* 126(20): 2383-2384.
- Edye, L. and M. Clarke. 1996. Sugar cane quality analyses by near infrared spectroscopy. *Proceedings of the South African Sugar Technologists Association* 70: 127-130.
- Fearn, T. 2002. Assessing calibrations: SEP, RPD, RER and R^2 . *NIR News* 13: 12-14.
- Filho, J. L. L., Pandey, P. C. and Weetal, H. H. 1996. An amperometric flow injection analysis enzyme sensor for sucrose using a tetracyanoquinodimethane modified graphite paste electrode. *Biosensors and Bioelectronics* 11: 719–723.
- Fonseca, B. I. 2012. Caracterización y tratamiento de la señal espectroscópica NIRS obtenida in-situ/on-line, para el desarrollo de modelos quimiometricos y su

- aplicación en la valoración nutritiva del ensilado de maíz. Trabajo Fin de Máster. Universidad de Oviedo. España. 19 p.
- Foss NIRSystems. 2004. WINISI® manual del programa. Disponible en: <http://www.winisi.com/> , consultada el 30/10/2017.
- Fuchs, M., González, V., Rea, R., Zambrano, A. Y., De Sousa, V.O., Díaz, E., Gutiérrez, Z. y Castro, L. 2005. Mejoramiento de la caña de azúcar mediante la inducción de mutaciones en cultivos de callos. *Agronomía Tropical* 55(51): 133-149.
- Galea, G. F. A. 2015. Desarrollo de un modelo predictivo usando tecnología NIRS para determinar las extracciones del triticale de doble aptitud (forraje y grano). Tesis Doctoral. Universidad de Extremadura, Badajoz, España. 76 p.
- Golcher, A. A., R. F. Hasbach y M. J. J. Infante. 1984. Manual para analistas de laboratorio azucarero. Azúcar, S.A.-Geplacea-PNUD. México. 180 p.
- Heise, H. M. and Winzen, R. 2002. Fundamental chemometric methods, in: H. W. Siesler, Y. Ozaki, S. Kawata, H. M. Heise (Eds.), *Near-Infrared Spectroscopy: Principles, Instruments, Applications*, Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, Alemania. pp 125–162.
- Hua-Zhou Chen, Jiang Wen-Bei, Jie-Chao Chen, Ling-Hui Li and Ya-Juan Huo. 2014. Modeling NIR Spectroscopic Quantitative Optimization determination of sugar in brix initial-cane juice pressure. *Revista Internacional de Investigación Técnica y Aplicaciones* 2(6): 69-72.
- Ibáñez, S. M. L. and D. Alomar. 2008. Prediction of the chemical composition and fermentation parameters of pasture silage by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS). *Chilean Journal of Agricultural Research* 68(4): 352-359.
- Johnson, T. P. 2001. Cane sugar analysis by near infrared (NIR) to determine grower payment. *Journal American Society of Sugar Cane Technologists* 21: 62-72.
- Kawano, S., Watanabe, H. and Iwamoto, M. 1992. Determination of sugar content in intact peaches by near infrared spectroscopy with fiber optics in interactance mode. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* 61: 445-451.
- Kawano, S. 2002. Sampling and sample presentation, in: H. W. Siesler, Y. Ozaki, S. Kawata, H. M. Heise (Eds.), *Near-Infrared Spectroscopy: Principles, Instruments, Applications*, Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, Alemania. pp 115–124.
- Kawata, S. 2002. New techniques in near-infrared spectroscopy, in: H. W. Siesler, Y. Ozaki, S. Kawata, H. M. Heise (Eds.), *Near-Infrared Spectroscopy: Principles, Instruments, Applications*, Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, Alemania. pp 75–84.

- Kennedy, J. F., Pimentel, M. C. B., Melo Eduardo, H. M. and Lima-Filho, J. L. 2007. Sucrose biosensor as an alternative tool for sugarcane field samples. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 87: 2266–2271.
- Kumar, A. J., Gowri, N. M., Raju, R. V., Nirmala, G., Bellubbi, B. S. and Krishna, T. R. 2006. Study of fiber optic sugar sensor. *Pramana Journal of Physics* 67(2): 383–387.
- Larrahondo, J. E., F. Palau, A. Navarrete and C. Ramírez. 2001a. Applications of near infrared spectroscopy in the sugarcane industry of Colombia. *Proceedings International Society Sugar Cane Technologists* 1: 163–165.
- Larrahondo, J. E., F. Palau, A. Navarrete and C. Ramírez. 2001b. The potential of near infrared spectroscopy in the sugarcane industry of Colombia. *Proceedings International Society of Sugar Cane Technologists* 1: 17–21.
- LDSCA, 2005. *Ley de Desarrollo Sustentable de la Caña de Azúcar*, Diario Oficial de la Federación, México. 43 p.
- Lourenço, N. D., Lopes, J. A., Almeida, C. F., Sarraguça, M. C. and Pinheiro, H. M. 2012. Bioreactor monitoring whit Spectroscopy and chemometrics: A review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 404(4): 1211-1237.
- Luypaert, L, S. Heuerding, S. de Jong and D. L. Massart. 2002. An evaluation of direct ortogonal signal correction and other preprocessing methods for the classification of clinical study lots of a dermatological cream. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 30: 453-466.
- Macho, S. A. 2002. *Metodologías analíticas basadas en espectroscopia de infrarrojo y calibración multivariante. Aplicación a la industria petroquímica*. Tesis doctoral. Universidad ROVIRA I VIRGILI. Tarragona, España. 22 p.
- Madsen II, L. R., B. E. White and P. W. Rein. 2003. Evaluation of a near infrared spectrometer for the direct analysis of sugar cane. *Journal American Society of Sugarcane Technologists* 23: 80-92.
- Martens, H. and Martens, M. 2001. *Multivariate analysis of quality: an introduction*. John Wiley and Sons Inc., Chichester, UK. 466 p.
- Massart, D. L., Vandeginste, B. G. M., Deming, S. M., Michotte, Y. and Kaufman, L. 1997. In: B. G. M. Vandenginste and S. C. Rutan, *Handbook of Chemometrics and Qualimetrics: Part A*, 1ª ed., El sevier Science B. V., Amsterdam, The Netherlands, pp 1-20.

- McCarthy, S. G. 2003. The integration of sensory control for a sugar cane harvester, PhD Thesis: Faculty of engineering and surveying, University of Southern Queensland, Australia. pp 87-90.
- McClure, W. F. 2003. 204 years of infrared technology: 1800-2003. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* 11: 487-518.
- Meade, G. P. and Chen, J. C. P. 1985. *Cane sugar handbook: a manual for cane sugar manufactutrers and their chemists*, 11th ed. Wiley, New York. 1134 p.
- Mehrotra, R. and Siesler, H. W. 2003. Application of mid Infrared/Near Infrared Spectroscopy in sugar industry. *Applied Spectroscopy Reviews* 38(3): 307-354.
- Meyer, J. H. and R. A. Wood. 1988. Rapid analysis of cane juice by near infra-red reflectance. *Proceedings of South African Sugar Technologists Association* 62: 203-207.
- Miller, C. 2001. Chemical principles of near infrared tecchnology. In: *Near infradred techcnology in the agricultural and food industries*. Editado por Phil Williams y Karl Norris. American Association of Cereal Chemists. St Paul, Minnesota. USA. pp 19-37.
- Murray, I. 1988. Aspects of the interpretatión of Near Infrared Spectra. *Food Science and Technology Today* 2(2): 135-140.
- Murray, I. 1993. Forage analysis by near infrared reflectance spectroscopy. En: Davis, A., Baker, R., Grant, S. and Laidlaw, A. eds. *Sward Management Handbook*. 2nd ed. The British Grassland Society, UK. pp 285-312.
- Murray, I. 1999. NIR spectroscopy of food: simple things, subtle things and spectra. *NIR News* 10(2): 10-12.
- Murua, M. G. y E. G. Virla. 2004. Presencia invernal de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidade) en el área maicera de la provincia de Tucumán, Argentina. *Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata* 105(2): 46-52.
- Næs, T., Isaksson, T., Fearn, T., Davies, T., 2004. *A User-friendly guide to multivariate calibration and classification*. NIR publications, Chichester, UK. 344 p.
- Nawi, N. M., T. Jensen and G. Chen. 2012a. The application of spectroscopic methods to predict sugarcane quality based on stalk cross-sectional scanning. *Journal of American Society of Sugar Cane Technologists* 32: 16–27.
- Nawi, N. M., T. Jensen, G. Chen and C. Baillie. 2012b. Prediction of sugar content along the height of sugarcane internodes using Vis/NIR. In *Proceedings of the CIGR-*

- AgEng: Agriculture and Engineering for a healthier Life, Valencia, Spain. <https://eprints.usq.edu.au/21603/>, consultada el 4/09/2017.
- Nawi, N. M., G. Chen, T Jensen and S. A. Mehdizadeh. 2013. Prediction and classification of sugar content of sugarcane based on skin scanning using visible and shortwave near infrared. *Biosystems Engineering* 115: 154–161.
- Nawi, N. M., Chen, G. and Jensen, T. 2014. In-field measurement and sampling technologies for monitoring quality in the sugarcane industry: a review. *Precision Agriculture* 15: 684–703.
- Nicolai, B. M., Beullens, K., Bobelyn, E., Peirs, A., Saeys, W., Theron, K. I. and Lammertyna, J. 2007. Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIR spectroscopy: A review. *Postharvest Biology and Technology* 46(2): 99-118.
- O’Shea, M. G., S. P. Staunton, D. Donald and J. Simpson. 2011. Developing laboratory near infra-red (NIR) instruments for the analysis of sugar factory products. *Proceedings of the Australian Society Sugar Cane Technology* 33: 278–285.
- Ochola, P., E. O. Apunda and E. O. Yewa. 2015. Evaluation of Near Infrared Spectroscopy for sugarcane quality determination in Western Kenya. *Chemistry and Materials Research* 7(9): 30–36.
- Ongin’jo, E. and C. O. Olweny. 2011. Determination of optimum harvesting age for sugarcane ratoon crop at the Kenyan Coast. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research* 1(2): 113-118.
- Osborne, B. G., Fearn, T. and Hindle, P. 1993. *Practical NIR Spectroscopy with applications in food and beverage analysis*. Longman Scientific and Technical, London, Essex, UK. pp 1-12.
- Osborne, B. G. 2000. Near Infrared Spectroscopy in food analysis. En R.A. Meyer sed., *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, John Wiley & Sons Ltd, Chichester, UK. pp 1-14.
- Pasquini, C. 2003. Near Infrared Spectroscopy: Fundamentals, Practical aspects and Analytical applications. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 14(2): 198-219.
- Pereira, L. 2009. Qualidade tecnológica, produtividade e margem de contribuição agrícola da cana-de-açúcar em função da aplicação de reguladores vegetais no início da. *Ciencia Rural* 39(3): 726-732.
- Purcell, D. E., M. G. O’Shea and S. Kokot. 2007. Role of chemometrics for at-field application of NIR spectroscopy to predict sugarcane clonal performance. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 87: 113-124.

- Reeves, J. 2000. Use of near infrared reflectance spectroscopy. En: D'Mello, J. (ed) Farm Animal Metabolism and Nutrition. CABI. Wallingford, UK. pp 185-207.
- Reich, G. 2005. Near infrared spectroscopy and imaging: Basic principles and pharmaceutical application. *Advanced Drug Delivery Reviews* 57: 1109-1143.
- Robert, C and Cadet, F. 1998. Analysis of Near-Infrared Spectra of some carbohydrates. *Applied Spectroscopy Reviews* 33(3): 253-266
- Roggo, Y., Chalus, P., Maurel, L., Lema-Martinez, C., Edmond, A. and Jent, N. 2007. A review of near infrared spectroscopy and chemometrics in pharmaceutical technologies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 44: 683-700.
- Romero, E. R., Digonzelli, P. A. y Scandaliaris, J. 2009. Manual del cañero. 1ª ed. Las talitas: Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres. Tucumán, Argentina. 232 p.
- Salgado, G. S., R. E. Núñez, J. J. C. Peña, J. D. B. Etchevers, D. J. L. Palma y M. R. H. Soto. 2003. Manejo de la fertilización en el rendimiento, calidad del jugo y actividad de invertasas en caña de azúcar. *Interciencia* 28(10): 476-480.
- Salgado-García, S., L. C. Lagunes-Espinoza, E. R. Escobar, G. C. F. Ortiz, A. L. Bucio, E. M. Aranda-Ibañez. 2013. Caña de azúcar: producción sustentable, Ed. del Colegio de Postgraduados, México. pp 341-347.
- Salgado-García, S., M. Castelán-Estrada, E. M. Aranda-Ibañez, H. Ortiz-Laurel, L. C. Lagunes-Espinoza y S. Córdova-Sánchez. 2016. Calidad de jugos de caña de azúcar según el ciclo de cultivo en Chiapas, México. *Agroproductividad* 9(7): 1-14.
- Schaare, P. N. and Fraser, D. G. 2000. Comparison of reflectance, interactance and transmission modes of visible-near infrared spectroscopy for measuring internal properties of kiwifruit (*Actinidia chinensis*). *Postharvest Biology and Technology* 20: 175–184.
- Schäffler, K. J. and J. H. Meyer. 1996. Near infrared analysis of shredded cane: a potential replacement for direct analysis of cane. *Proceedings South African Sugarcane Technologists Association* 70: 131-139.
- Schäffler, K. J. 2000. Trials and tribulations of implementing NIRS for raw sugar factory liquors. *Proceedings South African Sugarcane Technologists Association* 74: 361–368.
- Schäffler, K. J. 2001. Automated routine analysis of quality parameters in sugarcane juices and molasses by NIR. *Proceedings South African Sugarcane Technologists Association* 75: 318-321.

- Serway, R. 1999. Física. 4ª ed. en español. Traducido por G. Nagore. McGraw Hill. México. 1463 p.
- Shenk, J. S. and Westerhaus, M. O. 1995a. Analysis of Agriculture and Food products by Near Infrared Reflectance Spectroscopy. Monograph, NIRSystems, Inc., 12101 Tech Road, Silver Spring. MD 20904, USA. pp 406-449.
- Shenk, J. S. and Westerhaus, M. O. 1995b. Routine operation, calibration, development and network system management manual. NIR Systems Inc., Silver Spring, MD, USA. pp 247-277.
- Shenk, J. S. and Westerhaus, M. O. 1996. Calibration the ISI way. In: Davies, A.M.C., Williams, P. eds., Near Infrared Spectroscopy: The Future Waves. NIR Publications, Chichester, West Sussex, UK. pp 198-202.
- Siesler, H. W. 2002. Introduction, in: H. W. Siesler, Y. Ozaki, S. Kawata, H. M. Heise (Eds.), Near-Infrared Spectroscopy: Principles, Instruments, Applications, Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, Alemania. pp 1–10.
- Skoog, D. A., F. J. Holler and T. A. Nieman. 2001. Principios de análisis instrumental. 5ª ed., McGraw-Hill. Madrid, España. pp 322-325.
- Spencer, G. L. y Meade, G. P. 1967. Manual del Azúcar de Caña. 9ª Edición. Editorial Montaner y Simón S.A. España. 940 p.
- Staunton, S. P., P. J. Lethbridge, S. C. Grimley, R. W. Streamer, J. Rogers and D. L. Mackintosh. 1999. On line cane analysis by near infra-red spectroscopy. Proceedings of the Australian Society of Sugar Cane Technologists 21: 20–27.
- Subirós, R. F. 2000. El cultivo de la caña de azúcar. 1ª Reimpresión de la 1ª ed. EUNED (Ed.). San José, C. R. 448 p.
- Taira, E., M. Ueno, N. Furukawa, A. Tasaki, Y. Komaki, J. Nagai and K. Saengprachatanarug. 2013. Networking system employing near infrared spectroscopy for sugarcane payment in Japan. Journal of near infrared spectroscopy 21(6): 477-483.
- Thakur, M. S. and K. V. Ragavan. 2013. Biosensors in food processing. Journal of Food Science and Technology 50(4): 625-641.
- Tsuchikawa, S. 2007. A review of recent near infrared research for wood and paper. Applied Spectroscopy Reviews 42: 43-71.

- Valderrama, P., J. W. B. Braga and R. J. Poppi. 2007. Validation of Multivariate Calibration Models in the Determination of Sugar Cane Quality Parameters by Near Infrared Spectroscopy. *Journal of Brazilian Chemical Society* 18(2): 259-266.
- Wagih, M. E., A. Ala and Y. Musa. 2004. Evaluation of sugarcane varieties for maturity earliness and selection for efficient sugar accumulation. *Sugar Tech* 6(4): 297-304.
- Westerhaus, M., Workman, J., Reeves, J. B. and Mark, H. 2004. Quantitative Analysis, in: *Near-Infrared spectroscopy in agriculture*. Roberts, C.A., Workman, J., Reeves, J.B. eds. ASA, CSSA, SSSA, Inc., Madison, Wisconsin, USA. pp 133-174.
- Williams, P. C. and Sobering, D. C. 1996. How Do We Do It: A Brief Summary of the Methods We Use in Developing near Infrared Calibration. In: Davis, A.M.C. and Williams, P., Eds., *Near Infrared Spectroscopy: The Future Waves*, NIR Publications, Chichester. pp 185-188.
- Williams, P. C. 2001. Implementation of Near-Infrared technology. In *Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*, 2^a edition, Williams, P.C., Norris, K. eds. American Association of Cereal Chemists, Inc., St. Paul, Minnesota, USA. pp 145-169.
- Williams, P. C. and Norris, K. 2001. *Near-infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*, 2^a edition. American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, Minnesota, USA. 312 p
- Wold, S., Sjöström, M. and Eriksson, L. 2001. PLS regression: a basic tool of chemometrics. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 58: 109-130.
- Workman, J. Jr. and Shenk, J. 2004. Understanding and using the near-infrared spectrum as an analytical method. In: Roberts, C. A., Workman, J., Reeves III, J. B. Eds., *Near-Infrared Spectroscopy in Agriculture*. ASA, CSSA, SSSA, Inc., Madison, Wisconsin, USA. pp 3-10.
- Zossi, S., M. R. Ruiz, N. Sorol y M. Sastre. 2010. Espectroscopia por infrarrojo cercano (NIRS). Su aplicación en análisis de jugos de caña de azúcar. *Revista Industrial y Agrícola de Tucumán* 87(1): 1-6.

ANEXO I. Comparación de valores obtenidos por el método convencional vs predichos por NIRS

Cuadro 1. Comparación valores °Brix obtenidos por el método convencional (LAB) vs predichos por NIR (modelo SNV y Detrend, 1, 4, 4, 1).

Muestra	LAB	NIR
1	12.1	11.99
2	16.63	16.60
3	12.69	12.67
4	15.8	15.89
5	11.5	11.54
6	14.81	14.66
7	14.49	14.56
8	18.78	18.89
9	19.34	19.14
10	13.77	13.81
11	15.67	15.82
12	16.06	16.05
13	18.26	18.33
14	19.47	19.45
15	12.77	12.89
16	14.78	14.93
17	16.84	16.84
18	14.32	14.46
19	16.44	16.79
20	19.3	19.24
21	19.57	19.67
22	14.63	14.50
23	15.12	14.96
24	19.66	19.80
25	19.23	19.00
26	19.5	19.69
27	15.31	15.31
28	14	13.88
29	19.38	19.61
30	17.53	17.48
31	16.36	16.38
32	19.03	19.41
33	17.69	17.57
34	13.82	14.01

Continuación Cuadro 1

35	12.68	12.88
36	15.65	15.87
37	17.38	17.19
38	16.78	16.80
39	18.78	18.73
40	15.57	15.40
41	13.06	12.94
42	16.5	16.57
43	18.38	18.41
44	16.12	16.07
45	13.29	13.31
46	17.75	17.67
47	17.31	17.31
48	13.59	13.60
49	16.62	16.88
50	15.34	15.25
51	15.62	15.71
52	15.41	15.29
53	18.2	17.72
54	17.54	17.87
55	14.21	14.10
56	14.36	14.76
57	17.65	17.56
58	15.8	15.68
59	17.16	16.90
60	13.88	13.95
61	15.67	15.59
62	10.74	10.77
63	15.07	15.11
64	18.75	18.80
65	17.44	17.35
66	14.5	14.38
67	14.75	14.62
68	13.87	13.90
69	17.95	17.87
70	15.77	15.80
71	14.82	14.87
72	15.12	15.19

Continuación Cuadro 1

73	13.84	14.02
74	16.84	16.74
75	18.26	18.26
76	20.42	20.54
77	12.68	12.32
78	9.4	10.33
79	11.69	11.44
80	15.79	15.46
81	16.27	15.88
82	17.31	17.42
83	14.01	14.14
84	13.09	13.24
85	17.34	17.51
86	15.92	16.12
87	19.9	19.84
88	18.58	18.68
89	11.73	11.79
90	17.47	17.34
91	17.08	16.98
92	15.84	15.43
93	16.26	16.28
94	14.18	14.19
95	14.54	14.54
96	19.45	19.61
97	12.04	12.31
98	16.4	16.34
99	14.41	14.16
100	16.16	16.37
101	14.65	14.72
102	15.68	15.93
103	16.41	16.36
104	17.16	16.76
105	19.15	19.20
106	18.75	18.87
107	17.22	17.09
108	14.99	14.92
109	19.46	19.39
110	19.16	19.30

Continuación Cuadro 1

111	18.17	18.20
112	21.46	21.48
113	18.53	18.22
114	13.76	13.85
115	16.47	16.44
116	15.88	15.74
117	17.87	17.90
118	17.75	17.82
119	16.56	16.54
120	18.5	18.60
121	16.44	16.59
122	16.74	16.70
123	14.95	15.04
124	17.65	17.82
125	12.25	12.24
126	15.01	15.09
127	15.91	15.79
128	20.17	20.06
129	18.27	18.42
130	17.38	17.52
131	19.05	19.17
132	19.67	19.78
133	15.59	15.88
134	20.01	20.05
135	15.21	15.37
136	13.04	12.78
137	18.62	18.63
138	15.19	15.13
139	15.42	15.49
140	15.3	15.04
141	17.57	17.59
142	18.61	18.70
143	15.16	14.99
144	18.89	19.03
145	16.61	16.71
146	10.65	10.66
147	18.88	18.84
148	16.45	16.60
149	21.15	21.39
150	13.87	13.74
151	15.96	16.07

Continuación Cuadro 1

152	20.66	20.48
153	17.85	17.98
154	19.28	19.37
155	13.93	13.78
156	15.22	15.49
157	18.29	18.37
158	13.12	12.80
159	19.57	19.79
160	18.78	18.66
161	17.91	17.98
162	13.55	13.59
163	14.64	14.90
164	17.32	17.41
165	16.81	16.78
166	19.13	19.01
167	13.83	13.91
168	14.44	14.20
169	19.34	19.13
170	12.4	12.59
171	17.08	16.72
172	19.38	19.39
173	15.51	15.25
174	13.16	13.29
175	14.02	13.91
176	12.92	12.85
177	16.86	16.92
178	14.46	14.62
179	13.38	13.34
180	14.16	14.12
181	17.33	17.13
182	15.76	15.78

Cuadro 2. Comparación valores °Brix obtenidos por el método convencional (LAB) vs predichos por NIR (modelo SNV y Detrend, 2, 4, 4, 1).

Muestra	LAB	NIR
1	12.1	12.09
2	16.63	16.49
3	12.69	12.60
4	15.8	15.90
5	11.5	11.85
6	14.81	14.80
7	14.49	14.56
8	18.78	18.89
9	19.34	19.14
10	13.77	13.81
11	15.67	15.82
12	16.06	16.05
13	18.26	18.33
14	19.47	19.45
15	12.77	12.89
16	14.78	14.93
17	16.84	16.84
18	14.32	14.46
19	16.44	16.79
20	19.3	19.24
21	19.57	19.67
22	14.63	14.50
23	15.12	14.96
24	19.66	19.80
25	19.23	19.00
26	19.5	19.69
27	15.31	15.31
28	14	13.88
29	19.38	19.61
30	17.53	17.48
31	16.36	16.38
32	19.03	19.41
33	17.69	17.57
34	13.82	14.01
35	12.68	12.88
36	15.65	15.87
37	17.38	17.19

Continuación Cuadro 2

38	16.78	16.80
39	18.78	18.73
40	15.57	15.40
41	13.06	12.94
42	16.5	16.57
43	18.38	18.41
44	16.12	16.07
45	13.29	13.31
46	17.75	17.67
47	17.31	17.31
48	13.59	13.60
49	16.62	16.88
50	15.34	15.25
51	15.62	15.71
52	15.41	15.29
53	18.2	17.72
54	17.54	17.87
55	14.21	14.10
56	14.36	14.76
57	17.65	17.56
58	15.8	15.68
59	17.16	16.90
60	13.88	13.95
61	15.67	15.59
62	10.74	10.77
63	15.07	15.11
64	18.75	18.80
65	17.44	17.35
66	14.5	14.38
67	14.75	14.62
68	13.87	13.90
69	17.95	17.87
70	15.77	15.80
71	14.82	14.87
72	15.12	15.19
73	13.84	14.02
74	16.84	16.74
75	18.26	18.26
76	20.42	20.54
77	12.68	12.32
78	9.4	10.33

Continuación Cuadro 2

79	11.69	11.44
80	15.79	15.46
81	16.27	15.88
82	17.31	17.42
83	14.01	14.14
84	13.09	13.24
85	17.34	17.51
86	15.92	16.12
87	19.9	19.84
88	18.58	18.68
89	11.73	11.79
90	17.47	17.34
91	17.08	16.98
92	15.84	15.43
93	16.26	16.28
94	14.18	14.19
95	14.54	14.54
96	19.45	19.61
97	12.04	12.31
98	16.4	16.34
99	14.41	14.16
100	16.16	16.37
101	14.65	14.72
102	15.68	15.93
103	16.41	16.36
104	17.16	16.76
105	19.15	19.20
106	18.75	18.87
107	17.22	17.09
108	14.99	14.92
109	19.46	19.39
110	19.16	19.30
111	18.17	18.20
112	21.46	21.48
113	18.53	18.22
114	13.76	13.85
115	16.47	16.44
116	15.88	15.74
117	17.87	17.90
118	17.75	17.82
119	16.56	16.54

Continuación Cuadro 2

120	18.5	18.60
121	16.44	16.59
122	16.74	16.70
123	14.95	15.04
124	17.65	17.82
125	12.25	12.24
126	15.01	15.09
127	15.91	15.79
128	20.17	20.06
129	18.27	18.42
130	17.38	17.52
131	19.05	19.17
132	19.67	19.78
133	15.59	15.88
134	20.01	20.05
135	15.21	15.37
136	13.04	12.78
137	18.62	18.63
138	15.19	15.13
139	15.42	15.49
140	15.3	15.04
141	17.57	17.59
142	18.61	18.70
143	15.16	14.99
144	18.89	19.03
145	16.61	16.71
146	10.65	10.66
147	18.88	18.84
148	16.45	16.60
149	21.15	21.39
150	13.87	13.74
151	15.96	16.07
152	20.66	20.48
153	17.85	17.98
154	19.28	19.37
155	13.93	13.78
156	15.22	15.49
157	18.29	18.37
158	13.12	12.80
159	19.57	19.79
160	18.78	18.66

Continuación Cuadro 2

161	17.91	17.98
162	13.55	13.59
163	14.64	14.90
164	17.32	17.41
165	16.81	16.78
166	19.13	19.01
167	13.83	13.91
168	14.44	14.20
169	19.34	19.13
170	12.4	12.59
171	17.08	16.72
172	19.38	19.39
173	15.51	15.25
174	13.16	13.29
175	14.02	13.91
176	12.92	12.85
177	16.86	16.92
178	14.46	14.62
179	13.38	13.34
180	14.16	14.12
181	17.33	17.13
182	15.76	15.78

Cuadro 3. Comparación valores Pol obtenidos por el método convencional (LAB) vs predichos por NIR (modelo SNV y Detrend, 1, 4, 4, 1).

Muestra	LAB	NIR
1	7.8	8.03
2	14.17	14.17
3	8.8	9.08
4	13.03	13.28
5	11.5	11.54
6	14.81	14.66
7	14.49	14.56
8	18.78	18.89
9	19.34	19.14
10	13.77	13.81
11	15.67	15.82
12	16.06	16.05
13	18.26	18.33
14	19.47	19.45
15	12.77	12.89
16	14.78	14.93
17	16.84	16.84
18	14.32	14.46
19	16.44	16.79
20	19.3	19.24
21	19.57	19.67
22	14.63	14.50
23	15.12	14.96
24	19.66	19.80
25	19.23	19.00
26	19.5	19.69
27	15.31	15.31
28	14	13.88
29	19.38	19.61
30	17.53	17.48
31	16.36	16.38
32	19.03	19.41
33	17.69	17.57
34	13.82	14.01
35	12.68	12.88
36	15.65	15.87
37	17.38	17.19

Continuación Cuadro 3

38	16.78	16.80
39	18.78	18.73
40	15.57	15.40
41	13.06	12.94
42	16.5	16.57
43	18.38	18.41
44	16.12	16.07
45	13.29	13.31
46	17.75	17.67
47	17.31	17.31
48	13.59	13.60
49	16.62	16.88
50	15.34	15.25
51	15.62	15.71
52	15.41	15.29
53	18.2	17.72
54	17.54	17.87
55	14.21	14.10
56	14.36	14.76
57	17.65	17.56
58	15.8	15.68
59	17.16	16.90
60	13.88	13.95
61	15.67	15.59
62	10.74	10.77
63	15.07	15.11
64	18.75	18.80
65	17.44	17.35
66	14.5	14.38
67	14.75	14.62
68	13.87	13.90
69	17.95	17.87
70	15.77	15.80
71	14.82	14.87
72	15.12	15.19
73	13.84	14.02
74	16.84	16.74
75	18.26	18.26
76	20.42	20.54
77	12.68	12.32
78	9.4	10.33

Continuación Cuadro 3

79	11.69	11.44
80	15.79	15.46
81	16.27	15.88
82	17.31	17.42
83	14.01	14.14
84	13.09	13.24
85	17.34	17.51
86	15.92	16.12
87	19.9	19.84
88	18.58	18.68
89	11.73	11.79
90	17.47	17.34
91	17.08	16.98
92	15.84	15.43
93	16.26	16.28
94	14.18	14.19
95	14.54	14.54
96	19.45	19.61
97	12.04	12.31
98	16.4	16.34
99	14.41	14.16
100	16.16	16.37
101	14.65	14.72
102	15.68	15.93
103	16.41	16.36
104	17.16	16.76
105	19.15	19.20
106	18.75	18.87
107	17.22	17.09
108	14.99	14.92
109	19.46	19.39
110	19.16	19.30
111	18.17	18.20
112	21.46	21.48
113	18.53	18.22
114	13.76	13.85
115	16.47	16.44
116	15.88	15.74
117	17.87	17.90
118	17.75	17.82
119	16.56	16.54

Continuación Cuadro 3

120	18.5	18.60
121	16.44	16.59
122	16.74	16.70
123	14.95	15.04
124	17.65	17.82
125	12.25	12.24
126	15.01	15.09
127	15.91	15.79
128	20.17	20.06
129	18.27	18.42
130	17.38	17.52
131	19.05	19.17
132	19.67	19.78
133	15.59	15.88
134	20.01	20.05
135	15.21	15.37
136	13.04	12.78
137	18.62	18.63
138	15.19	15.13
139	15.42	15.49
140	15.3	15.04
141	17.57	17.59
142	18.61	18.70
143	15.16	14.99
144	18.89	19.03
145	16.61	16.71
146	10.65	10.66
147	18.88	18.84
148	16.45	16.60
149	21.15	21.39
150	13.87	13.74
151	15.96	16.07
152	20.66	20.48
153	17.85	17.98
154	19.28	19.37
155	13.93	13.78
156	15.22	15.49
157	18.29	18.37
158	13.12	12.80
159	19.57	19.79
160	18.78	18.66

Continuación Cuadro 3

161	17.91	17.98
162	13.55	13.59
163	14.64	14.90
164	17.32	17.41
165	16.81	16.78
166	19.13	19.01
167	13.83	13.91
168	14.44	14.20
169	19.34	19.13
170	12.4	12.59
171	17.08	16.72
172	19.38	19.39
173	15.51	15.25
174	13.16	13.29
175	14.02	13.91
176	12.92	12.85
177	16.86	16.92
178	14.46	14.62
179	13.38	13.34
180	14.16	14.12
181	17.33	17.13
182	15.76	15.78

Cuadro 4. Comparación valores Pol obtenidos por el método convencional (LAB) vs predichos por NIR (modelo SNV y Detrend, 2, 4, 4, 1).

Muestra	LAB	NIR
1	7.8	8.1
2	14.17	14.1
3	8.8	8.7
4	13.03	13.0
5	7.73	7.6
6	11.63	11.7
7	11.37	11.0
8	16.66	16.9
9	16.86	16.5
10	9.92	10.3
11	15.67	15.82
12	16.06	16.05
13	18.26	18.33
14	19.47	19.45
15	12.77	12.89
16	14.78	14.93
17	16.84	16.84
18	14.32	14.46
19	16.44	16.79
20	19.3	19.24
21	19.57	19.67
22	14.63	14.50
23	15.12	14.96
24	19.66	19.80
25	19.23	19.00
26	19.5	19.69
27	15.31	15.31
28	14	13.88
29	19.38	19.61
30	17.53	17.48
31	16.36	16.38
32	19.03	19.41
33	17.69	17.57
34	13.82	14.01
35	12.68	12.88
36	15.65	15.87
37	17.38	17.19

Continuación Cuadro 4

38	16.78	16.80
39	18.78	18.73
40	15.57	15.40
41	13.06	12.94
42	16.5	16.57
43	18.38	18.41
44	16.12	16.07
45	13.29	13.31
46	17.75	17.67
47	17.31	17.31
48	13.59	13.60
49	16.62	16.88
50	15.34	15.25
51	15.62	15.71
52	15.41	15.29
53	18.2	17.72
54	17.54	17.87
55	14.21	14.10
56	14.36	14.76
57	17.65	17.56
58	15.8	15.68
59	17.16	16.90
60	13.88	13.95
61	15.67	15.59
62	10.74	10.77
63	15.07	15.11
64	18.75	18.80
65	17.44	17.35
66	14.5	14.38
67	14.75	14.62
68	13.87	13.90
69	17.95	17.87
70	15.77	15.80
71	14.82	14.87
72	15.12	15.19
73	13.84	14.02
74	16.84	16.74
75	18.26	18.26
76	20.42	20.54
77	12.68	12.32
78	9.4	10.33

Continuación Cuadro 4

79	11.69	11.44
80	15.79	15.46
81	16.27	15.88
82	17.31	17.42
83	14.01	14.14
84	13.09	13.24
85	17.34	17.51
86	15.92	16.12
87	19.9	19.84
88	18.58	18.68
89	11.73	11.79
90	17.47	17.34
91	17.08	16.98
92	15.84	15.43
93	16.26	16.28
94	14.18	14.19
95	14.54	14.54
96	19.45	19.61
97	12.04	12.31
98	16.4	16.34
99	14.41	14.16
100	16.16	16.37
101	14.65	14.72
102	15.68	15.93
103	16.41	16.36
104	17.16	16.76
105	19.15	19.20
106	18.75	18.87
107	17.22	17.09
108	14.99	14.92
109	19.46	19.39
110	19.16	19.30
111	18.17	18.20
112	21.46	21.48
113	18.53	18.22
114	13.76	13.85
115	16.47	16.44
116	15.88	15.74
117	17.87	17.90
118	17.75	17.82
119	16.56	16.54

Continuación Cuadro 4

120	18.5	18.60
121	16.44	16.59
122	16.74	16.70
123	14.95	15.04
124	17.65	17.82
125	12.25	12.24
126	15.01	15.09
127	15.91	15.79
128	20.17	20.06
129	18.27	18.42
130	17.38	17.52
131	19.05	19.17
132	19.67	19.78
133	15.59	15.88
134	20.01	20.05
135	15.21	15.37
136	13.04	12.78
137	18.62	18.63
138	15.19	15.13
139	15.42	15.49
140	15.3	15.04
141	17.57	17.59
142	18.61	18.70
143	15.16	14.99
144	18.89	19.03
145	16.61	16.71
146	10.65	10.66
147	18.88	18.84
148	16.45	16.60
149	21.15	21.39
150	13.87	13.74
151	15.96	16.07
152	20.66	20.48
153	17.85	17.98
154	19.28	19.37
155	13.93	13.78
156	15.22	15.49
157	18.29	18.37
158	13.12	12.80
159	19.57	19.79
160	18.78	18.66

Continuación Cuadro 4

161	17.91	17.98
162	13.55	13.59
163	14.64	14.90
164	17.32	17.41
165	16.81	16.78
166	19.13	19.01
167	13.83	13.91
168	14.44	14.20
169	19.34	19.13
170	12.4	12.59
171	17.08	16.72
172	19.38	19.39
173	15.51	15.25
174	13.16	13.29
175	14.02	13.91
176	12.92	12.85
177	16.86	16.92
178	14.46	14.62
179	13.38	13.34
180	14.16	14.12
181	17.33	17.13
182	15.76	15.78