

MÁSTER EN TECNOLOGÍAS
AVANZADAS PARA EL
DESARROLLO
AGROFORESTAL

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Caracterización mediante FTIR de tres variedades de Remolacha
(*Beta vulgaris* L.)



Universidad de Valladolid

Alumno:

Abílio Santos Malengue

Tutor:

Salvador Hernández Navarro

Directores:

Paula Carrión Prieto

Luis Fernando Sánchez Sastre



Universidad de Valladolid

**ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍAS AGRARIAS
MASTER EN TECNOLOGÍAS AVANZADAS PARA EL DESARROLLO
AGROFORESTAL**

**TRABAJO DE FIN DE MÁSTER
CARACTERIZACIÓN MEDIANTE FTIR DE TRES VARIEDADES DE
REMOLACHA (BETA VULGARIS L.)**

POR: ABILIO SANTOS MALENGUE

TUTOR:

SALVADOR HERNÁNDEZ NAVARRO

DIRECTORES DE TESIS:

PAULA CARRIÓN PRIETO

LUIS FERNANDO SÁNCHEZ SASTRE

PALENCIA · JULIO DE 2016

Contenido

Resumen	5
Abstract	5
1. Introducción	6
1.1. Área de estudio	7
1.2. Variedades utilizadas	7
1.3. Espectroscopia de absorción infrarroja.....	9
1.3.1. Espectroscopia IR con transformada de Fourier (FT-IR)	10
2. Objetivos	11
2.1. General.....	11
2.2. Específicos	11
3. Material y métodos	11
3.1. Preparación de muestras	11
3.2. Análisis y caracterización de las muestras.....	14
4. Resultados y discusión	16
4.1. Espectros.....	16
4.2. Área de pico	25
5. Conclusiones	28
6. Agradecimientos	28
7. Referencias bibliográficas	29

Índice de figuras

Figura 1. Situación de Castilla y León dentro de la Península Ibérica y de las azucareras que operan actualmente. Fuente: (Sánchez Sastre, 2016).	8
Figura 2. Localización del mapa del experimento. LN: Laguna de Negrillos; M: Magaz de pisuera; P: Pampliega; V: Vertavillos; VV: Villavieja. Fuente: (Sánchez Sastre, 2016).	8
Figura 3. Principales vibraciones moleculares en espectrometría infrarroja.	10
Figura 4. Pesado de la muestra	12
Figura 5. Imágenes de los distintos pasos para la preparación de la pastilla con KBr.	12
Figura 6. Caracterización de las muestras con FTIR	14
Figura 7. Espectros de absorción de la totalidad de las muestras de raíz de remolacha en el infrarrojo medio.	16
Figura 8. Espectros de absorción de las medias por localidad y variedad de la raíz de remolacha en el infrarrojo medio, con corrección de línea base.	16

Figura 9. Espectros de absorción de las medias por localidad y variedad de la raíz de remolacha, y de sus respectivas medias anuales, en el rango de la huella dactilar con corrección de base.	17
Figura 10. Comparación de la huella dactilar de las variedades Sandrina (rojo) y Dulzata (azul) de (i) Tordesillas y (ii) Magaz de Pisuerga, de 2011	17
Figura 11. Histograma de absorciones a distintos números de onda de la variedad Dulzata en 2011 en las distintas localidades.....	20
Figura 12. Histograma de absorciones a distintos números de onda de la variedad Sandrina en 2011 en las distintas localidades.....	20
Figura 13. Histograma de absorciones a distintos números de onda de la variedad Amalia en 2012 en las distintas localidades.	21
Figura 14. Histograma de absorciones a distintos números de onda de la variedad Sandrina en 2012 en las distintas localidades.....	21
Figura 15. Histograma comparativo de absorciones a distintos números de onda en 2011 y 2012.....	22
Figura 16. Estructura de la sacarosa.	22
Figura 17. Áreas utilizadas para variedad Sandrina 2011	25
Figura 18. Áreas utilizadas para variedad Dulzata 2011	26
Figura 19. Áreas utilizadas para variedad Sandrina 2012.....	26
Figura 20. Áreas utilizadas para variedad Amalia 2012.....	26
Figura 21. Espectros de absorción de las variedades Sandrina (rojo) y Dulzata (morado) de Laguna de Negrillos (León) en 2011, en el MIR.....	32
Figura 22. Huella dactilar de los espectros de absorción de las variedades Sandrina (rojo) y Dulzata (morado) de Laguna de Negrillos (León) en 2011, en el MIR.....	32
Figura 23. Espectros de absorción de las variedades Sandrina (rojo) y Dulzata (azul) de Magaz de Pisuerga (Palencia) en 2011, en el MIR.....	33
Figura 24. Huella dactilar de los espectros de absorción de las variedades Sandrina (rojo) y Dulzata (azul) de Magaz de Pisuerga (Palencia) en 2011, en el MIR.....	33
Figura 25. Espectros de absorción de las variedades Sandrina (rojo) y Dulzata (azul) de Tordesillas (Valladolid) en 2011, en el MIR.....	33
Figura 26. Huella dactilar de los espectros de absorción de las variedades Sandrina (rojo) y Dulzata (azul) de Tordesillas (Valladolid) en 2011, en el MIR.....	34
Figura 27. Espectros de absorción de las variedades Sandrina (rojo) y Amalia (azul) de Laguna (Valladolid) en 2012, en el MIR.....	34
Figura 28. Huella dactilar de los espectros de absorción de las variedades Sandrina (rojo) y Amalia (azul) de Laguna (Valladolid) en 2012, en el MIR.	34
Figura 29. Espectros de absorción de las variedades Sandrina (rojo) y Amalia (azul) de Pampliega (Burgos) en 2012, en el MIR.....	35
Figura 30. Huella dactilar de los espectros de absorción de las variedades Sandrina (rojo) y Amalia (azul) de Pampliega (Burgos) en 2012, en el MIR.	35
Figura 31. Espectros de absorción de las variedades Sandrina (rojo) y Amalia (azul) de Vertavillo (Palencia) en 2012, en el MIR.	35
Figura 32. Huella dactilar de los espectros de absorción de las variedades Sandrina (rojo) y Amalia (azul) de Vertavillo (Palencia) en 2012, en el MIR.....	36
Figura 33. Espectros de absorción de las variedades Sandrina (rojo) y Amalia (azul) de Villavieja (Valladolid) en 2012, en el MIR.....	36

Figura 34. Huella dactilar de los espectros de absorción de las variedades Sandrina (rojo) y Amalia (azul) de Villavieja (Valladolid) en 2012, en el MIR.....	36
Figura 35. Representación espacial del análisis de distancias mínimas correspondiente al primer elemento codificado: variedad Dulzata de Laguna de Negrillos en 2011.....	37
Figura 36. Representación espacial del análisis de distancias mínimas correspondiente al segundo elemento codificado: variedad Sandrina de Laguna de Negrillos en 2011. 38	
Figura 37. Representación espacial del análisis de distancias mínimas correspondiente al tercer elemento codificado: variedad Dulzata de Magaz de Pisuegra en 2011.	38
Figura 38. Representación espacial del análisis de distancias mínimas correspondiente al cuarto elemento codificado: variedad Sandrina de Magaz de Pisuegra en 2011. ...	39
Figura 39. Representación espacial del análisis de distancias mínimas correspondiente al quinto elemento codificado: variedad Dulzata de Tordesillas en 2011.	39
Figura 40. Representación espacial del análisis de distancias mínimas correspondiente al sexto elemento codificado: variedad Sandrina de Tordesillas en 2011.	40
Figura 41. Representación espacial del análisis de distancias mínimas correspondiente al séptimo elemento codificado: variedad Amalia de Laguna en 2012.....	40
Figura 42. Representación espacial del análisis de distancias mínimas correspondiente al octavo elemento codificado: variedad Sandrina de Laguna en 2012.	41
Figura 43. Representación espacial del análisis de distancias mínimas correspondiente al noveno elemento codificado: variedad Amalia de Pampliega en 2012.	41
Figura 44. Representación espacial del análisis de distancias mínimas correspondiente al décimo elemento codificado: variedad Sandrina de Pampliega en 2012.	42
Figura 45. Representación espacial del análisis de distancias mínimas correspondiente al undécimo elemento codificado: variedad Amalia de Vertavillo en 2012.	42
Figura 46. Representación espacial del análisis de distancias mínimas correspondiente al decimosegundo elemento codificado: variedad Sandrina de Vertavillo en 2012.....	43
Figura 47. Representación espacial del análisis de distancias mínimas correspondiente al decimotercero elemento codificado: variedad Amalia de Villavieja en 2012.	43
Figura 48. Representación espacial del análisis de distancias mínimas correspondiente al decimocuarto elemento codificado: variedad Sandrina de Villavieja en 2012.	44
<i>Figura 49. Función de transformación para la evaluación del impacto ambiental mediante el Promedio diario del nivel de inmisión.....</i>	<i>46</i>

Índice de Tablas

Tabla 1. Mayores productores de cultivo en hectárea de remolacha en la EU.	6
Tabla 2. Regiones Espectrales del infrarrojo.	9
Tabla 3. Composición de las pastillas de las raíces de la remolacha para su análisis por FTIR	13
Tabla 4- Información de recogida del espectro	14
Tabla 5. Codificación utilizada.....	15
Tabla 6. Asignaciones de las vibraciones de los grupos funcionales de diferentes especies químicas y para diferentes variedades de remolacha	18
Tabla 7. Valores de absorbancia para la longitud de onda seleccionada (cm^{-1}) y para cada muestra y variedad de remolacha codificada.	19

Tabla 8. Correlaciones entre localidades y variedades de 2011	24
Tabla 9. Correlaciones entre localidades y variedades de 2012	24
Tabla 10. Análisis de vecindad entre muestras para cada una de ellas.	25

Resumen

El Trabajo de Fin de Máster realizado consiste en Caracterizar mediante FTIR los compuestos orgánicos en tres variedades de Remolacha (*Beta vulgaris* L.). Las muestras preparadas fueran analizadas y caracterizadas mediante espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR), utilizando un espectrofotómetro de la casa Thermo Scientific, modelo Nicolet iS50 FT-IR con un rango de lectura de 400-4000 cm^{-1} perteneciente al Laboratorio de Técnicas Instrumentales (LTI) sito en el Campus de Palencia y perteneciente a la Universidad de Valladolid (UVa), que es actualmente, la más utilizada por los científicos para el análisis de compuestos químicos en distintas áreas de conocimiento. Usando de forma conveniente, el FTIR permitió determinar y analizar los distintos compuestos presentes en la remolacha, que es la materia prima más importante para la producción de azúcar, tanto a nivel nacional como en todo el espacio europeo. Se ha constatado que el contenido de sacarosa difiere según localidades, en unas la variedad Sandrina tiene mayores registros y en otras, es Dulzata o Amalia. Sin embargo, la producción de la misma puede relacionarse con el área de pico, de modo que es Sandrina la más idónea para su explotación ya que ofrecerá un mayor rendimiento económico.

Palabras claves: Compuestos orgánicos, FTIR, Remolacha, Sacarosa.

Abstract

This Master's Thesis consists of the characterize with FTIR of compounds in three varieties of beet (*Beta vulgaris* L.). The samples prepared were analyzed and characterized by infrared spectroscopy with Fourier transform (FTIR) using a spectrophotometer house Thermo Scientific, model IS50 Nicolet FT-IR with a read range of 400-4000 cm^{-1} belonging to Laboratory Techniques instrumentals (LTI) located in the Campus of Palencia and belonging to the University of Valladolid (UVa), which is currently the most used by scientists for analysis of chemical compounds in different areas of knowledge. Conveniently using the FTIR allowed to determine and analyze the various compounds present in the beets, which is the most important sugar production, both nationally and throughout the European area raw material. It was found that the sucrose content differs depending on locations in a variety Sandrina has higher and other records, it is Dulzata or Amalia. However, the production of it may be related to the peak area, so it is Sandrina the most suitable for exploitation as it will provide greater economic performance.

Keywords: Organic Compounds, FTIR, Beetroot, Sucrose.



1. Introducción

La mayor parte de las plantas verdes contienen azúcar en una u otra proporción pero industrialmente solo ofrecen interés la caña y la remolacha azucarera (Sánchez Sastre, 2016). La remolacha (*Beta vulgaris* L.) pertenece a la familia de las Quenopodiáceas y se considera originaria de las regiones mediterráneas y Asia occidental. Presenta la raíz tuberosa de forma globular que se desarrolla casi a la superficie del suelo, acentuadamente con sabor dulce y color púrpura (Silva et al., 2015). Según Tamaro y Caballero, (1977) la remolacha se adapta en cualquier clima pero es propia para cultivarse en regiones altitudinales, bajas e intermedias, y climas relativamente fríos o templados en altitudes superiores a los 500 metros sobre el nivel de mar debido a su sensibilidad a las bajas temperaturas.

Las condiciones de cosecha están dadas por un punto óptimo de madurez de la raíz en relación con el porcentaje de sacarosa que llega a almacenar. Por lo tanto debe tenerse mucho cuidado con la fecha en que se debe efectuar la cosecha de remolacha, ya que esta tiene una influencia determinante en el contenido de azúcar. Cuando se cosecha temprano puede haber fuerte ahorro de agua de riego pero el contenido de azúcar puede bajar, en cambio, cuando la se cosecha es tardía, el contenido de azúcar es más alto, pero los costos por concepto de agua y mano de obra para efectuar el riego aumenta considerablemente (Morales, 2010).

La remolacha es utilizada, bien para el cultivo como forraje, o bien como materia prima para la producción de azúcar, siendo ésta última utilizada largamente en Europa (Silva et al., 2015). La tabla 1 presenta el cultivo (EU) de la remolacha -por hectárea- en la Unión Europea.

Tabla 1. Mayores productores de cultivo en hectárea de remolacha en la EU.

Tiempo/ Países	2005	2007	2010	2013
Alemania	389880	370480	299130	285030
Bulgaria	534610	493130	370490	254410
España	1079420	1043910	989800	965000
Francia	567140	527350	516100	472210
Grecia	833590	860150	723060	709500
Hungría	714790	626320	576810	491330
Italia	1728530	1679440	1620880	1010330
Letonia	128670	107750	83390	81800
Polonia	2476470	2390960	1506620	1429010
Portugal	323920	275080	305270	264420
Reino Unido	286750	226660	186800	185190
Rumania	4254150	3931350	3859040	3629660

Nota: Fuente: Eurostat, 2015

La remolacha es la principal materia prima cultivada en España para la producción de azúcar (Azucarera, 2016). Según información de MAGRAMA (2016), en España, en la campaña 2013/14, se han cultivado 26605 ha, con una producción de 2135 millones



de toneladas (Mt) de remolacha de recolección invernal-Zona Norte y 8.662 ha, con una producción de 749502 t de remolacha de recolección estival-Zona Sur.

En cuanto a las comunidades autónomas productoras, el orden en importancia de mayor a menor es el siguiente (datos campaña 2013/14):

- Castilla y León: 86,3% de la producción de remolacha invernal. Destacan Valladolid con 7042 ha / 584056 t y de León con 5218 ha / 401037 t.
- Andalucía: Produce prácticamente la totalidad de la remolacha de recolección estival de España. Destaca Sevilla con 5739 ha / 531154 t y Cádiz con 2795 ha / 210550 t de recolección estival.
- País Vasco: Toda su producción se concentra en Álava con 2.240 ha / 163520 t de remolacha de recolección invernal.
- La Rioja: 1257 ha / 115300 t de remolacha de recolección invernal.
- Navarra: 118 ha / 12780 t de remolacha de recolección invernal.

1.1. Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en la comunidad de Castilla y León, ubicada en la parte septentrional de la meseta central. Con una superficie que supera los 94000 km² representa cerca de 20% del territorio peninsular (Lanuza, 2006), correspondiente a la quinta parte del territorio español, dentro del cual ocupa una situación crucial en los grandes ejes que conectan la capital del país con las regiones de la España atlántica (Atlas de España, 1993). La región de Castilla y León es la mayor comunidad autónoma productora, en orden e importancia, con 86,3% de la producción de remolacha invernal. Destacando las provincias de Valladolid con 7042 ha / 584056 t y León con 5218 ha / 401037 t (MAGRAMA, 2014). Según Sánchez Sastre (2016), son cuatro las azucareras que funcionan actualmente: Olmedo (Valladolid), Toro (Zamora), La Bañeza (León), y Miranda de Ebro (Burgos). Figura1.

1.2. Variedades utilizadas

La producción de raíces de remolacha azucarera y su composición química puede ser en gran parte dependiente de factores agronómicos, específicos para la producción y la variedad, aunque la ubicación del cultivo también podría ser importante (Gumienna et al., 2016). En el cultivo de remolacha aparecen todos los años nuevas variedades, en general más productivas que las variedades antiguas. En España, la lista de variedades recomendadas por la Asociación para la Investigación de la Mejora del Cultivo de la Remolacha Azucarera (AIMCRA), fundada en 1966 en Aula Dei (Zaragoza) por iniciativa de la industria azucarera como entidad privada, sin ánimo de lucro y sin fines comerciales. Es la mejor herramienta del agricultor a la hora de elegir entre las mejores variedades del mercado, visto que solo por usar en la siembra una variedad recomendada por ella incrementa más de un 5% su rendimiento, en contraste con utilizar una variedad no recomendada (AIMCRA, 2014).



Figura 1. Situación de Castilla y León dentro de la Península Ibérica y de las azucareras que operan actualmente. Fuente: (Sánchez Sastre, 2016).

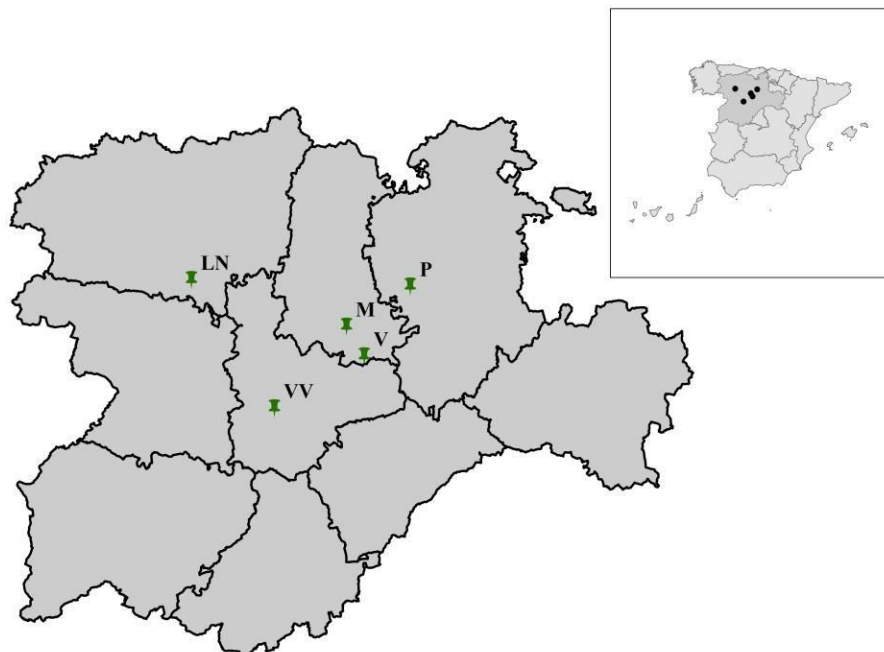


Figura 2. Localización del mapa del experimento. LN: Laguna de Negrillos; M: Magaz de pisuera; P: Pampiega; V: Vertavillos; VV: Villavieja. Fuente: (Sánchez Sastre, 2016).



Para la determinación de la composición química de la remolacha, fueron utilizadas tres variedades, Sandrina, Amalia y Dulzata respectivamente. Las mismas fueron sembradas durante un estudio que se llevó cabo durante dos campañas 2010-2011 y 2011-2012. En la primera campaña se utilizaron las variedades Sandrina y Dulzata y en la segunda Sandrina y Amalia (de comportamiento similar a Dulzata, para su posible comparativa). Las parcelas de ensayo pudieron establecerse gracias a la colaboración de AIMCRA, en 3 zonas distintas de Castilla y León la primera campaña y en cuatro zonas durante la segunda (figura 2). Dichas parcelas pertenecen a agricultores particulares que manejan el cultivo bajo las recomendaciones técnicas de AIMCRA (Sánchez Sastre, 2016).

Las mismas variedades hacen parte de la lista de variedades recomendadas por la misma asociación (AIMCRA) por tener mayor peso, mayor cantidad de azúcar por hectárea y también mayor porcentaje de pureza (AIMCRA, 2015). Según el servicio agronómico y de cultivo de la sociedad cooperativa general agropecuaria (ACOR, 2014) la Sandrina formó parte de una lista de trece variedades ensayadas durante tres o más años, y verificaron que la misma presenta tolerancia a la podredumbre seca (*Rhizoctonia solani*), como no se puede predecir con antelación si va a haber o no ataque del mismo hongo, ni su intensidad, es muy efectiva la utilización de las variedades tolerantes.

1.3. Espectroscopia de absorción infrarroja

La espectrometría de absorción en el infrarrojo es una técnica de análisis que se ha demostrado de gran precisión y rapidez y es muy versátil y de bajo coste (Herrera, 2009).

El infrarrojo comprende aproximadamente la parte del espectro electromagnético situado entre las regiones del visible y microondas (Silverstein, Webster and Kiemle, 2010). Las regiones del infrarrojo pueden ser vistas en la tabla 2.

Tabla 2. Regiones Espectrales del infrarrojo.
Fuente: (Silverstein, Webster and Kiemle, 2010).

Región	Intervalo del longitud de onda, μm	número de onda, cm^{-1}	frecuencia, Hz
Cercano - NIR	0,78 a 2,5	12800 a 4000	$3,8 \times 10^{14}$ a $1,2 \times 10^{14}$
Medio - MIR	2,5 a 50	4000 a 200	$3,8 \times 10^{14}$ a $1,2 \times 10^{14}$
Lejano - FIR	50 a 1000	200 a 10	$3,8 \times 10^{14}$ a $1,2 \times 10^{14}$

En la figura 3, se presentan las principales vibraciones moleculares en infrarrojo. El signo positivo indica movimiento hacia el lector y el signo negativo indica lo contrario. Una molécula presenta un modo de vibración característico y aparece en el espectro de absorción, es decir, absorbe radiación infrarroja durante la vibración (y/o rotación) y el momento dipolar molecular es variado. Sólo en estas circunstancias habrá interacción entre la molécula y el campo eléctrico de la radiación incidente (Sala, 2008).

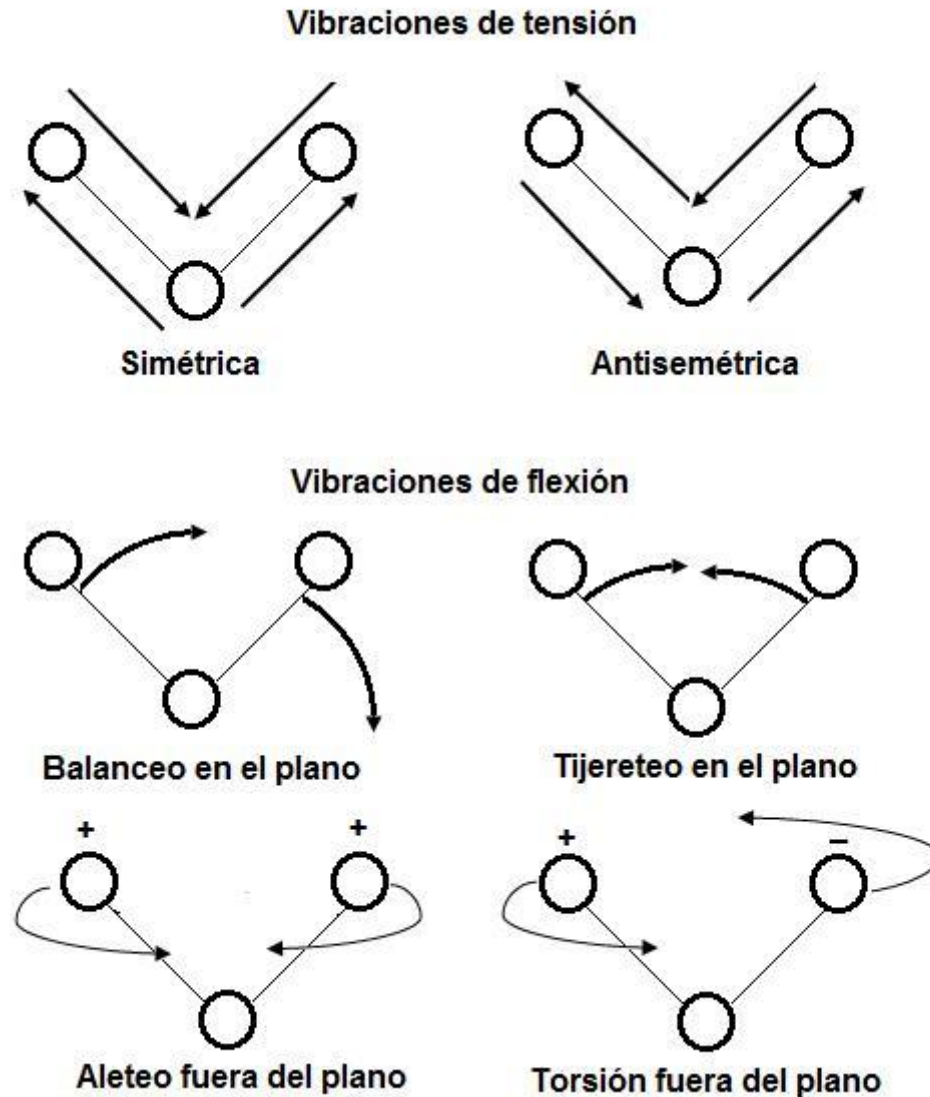


Figura 3. Principales vibraciones moleculares en espectrometría infrarroja. Fuente Adaptado desde (Skoog et al., 2002)

1.3.1. Espectroscopia IR con transformada de Fourier (FT-IR)

Particularmente, en la región del espectro infrarrojo medio (MID) se pueden observar cambios en las bandas de absorción asociadas a determinadas especies químicas. En la región infrarroja MID, se ofrece información acerca de los grupos funcionales de moléculas de estructura desconocida. La espectroscopia infrarroja acoplada a análisis multivariable ofrece un número de ventajas importantes sobre los métodos químicos tradicionales: no es destructiva, es rápida, disminuye el uso de reactivos tóxicos y perjudiciales para el medio ambiente, es un método de rutina, requiere una mínima cantidad de muestra y la precisión es alta (Cozzolino et al., 2011).



2. Objetivos

2.1. General

Determinar mediante la técnica de espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) las absorciones de enlaces en moléculas orgánicas presentes en la remolacha (*Beta vulgaris* L.), la materia prima más importante para la producción de azúcar.

2.2. Específicos

- Analizar las absorciones de enlaces en moléculas o especies químicas presentes en la remolacha azucarera de diferente procedencia, variedad y año.
- Establecer la variedad que presenta un mayor contenido en sacarosa para su comercialización.

3. Material y métodos

La espectrometría de absorción infrarroja es un método instrumental empleado principalmente en química analítica y basado en la interacción de la radiación electromagnética con una muestra u objeto, para identificarlo o caracterizarlo (Curran, Dungan y Peterson, 2001). Dada la alteración de la radiación al interactuar con las especies químicas presentes, a una frecuencia específica a lo largo del tiempo, se pueden medir cambios en el carácter o la cantidad de un enlace particular. Esto es especialmente útil para medir el grado de polimerización en los azúcares y/o en la células presente en la remolacha (Armenta, Garrigues y de la Guardia, 2007).

3.1. Preparación de muestras

En el presente trabajo fin de master, se utilizaron las muestras procesadas en la tesis doctoral *Analysis of the influence of environmental variables on carbon content of sugar beet crop and estimation of nitrogen content in leaves by vegetation indices*, de D. Luis Fernando Sánchez Sastre por la Universidad de Valladolid y se tuvo en cuenta la metodología para la Identificación del Impacto de Variables Climáticas en el Contenido de Carbono en Raíz de Remolacha Azucarera. De acuerdo con la Tesis referida, se tuvo en cuenta la determinación del contenido de carbono, y los parámetros de localización, la variedad (una de alta riqueza en azúcar y menor producción y otra con mayor producción pero menor riqueza en azúcar), y el nivel de abonado (el óptimo recomendado y el doble de éste, pero únicamente durante la primera campaña).

Para cada uno de los dos años objeto de estudio (2011 y 2012), y en la época de cosecha se procedía a recoger las plantas de forma aleatoria, y en el laboratorio se procesaban: limpieza; separación por raíz, corona y hojas; pesaje en fresco; secado en estufa; peso seco; pulverización en molino de cuchillas; homogenización de muestras; pesaje de precisión de las muestras. (Sánchez Sastre, 2016).

Para el presente estudio de espectroscopia vibracional, se seleccionan 36 plantas de las 170 procesadas por el D. Sánchez Sastre, 2016. Para poder cuantificar y mejorar la precisión de la técnica de FTIR, se prepararon las muestras dispersas en una matriz

de bromuro potásico (KBr). Previamente las muestras fueron secadas en una estufa durante las 24 horas.

Se utilizó una balanza analítica de precisión de décimas de miligramo, y se fue pesando una cantidad de aproximadamente 35 mg de muestra. Las muestras se completaban con KBr hasta unos 750 mg (figura 4). La composición de las pastillas de KBr de las muestras analizadas de raíces de la remolacha, mediante FTIR, se muestra en la tabla 3. Los códigos de las tablas representan las diversas localidades donde fueran cogidas, siendo Laguna de Negrillos (L), Magaz de Pisuerga (M), Plampliega (P), Tordesillas (T), Vertadillo (VT) y Villavieja (W).

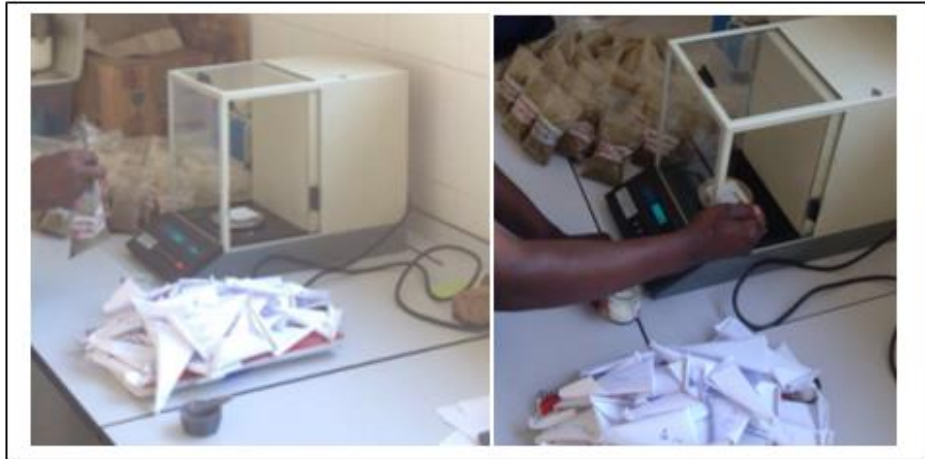


Figura 4. Pesado de la muestra

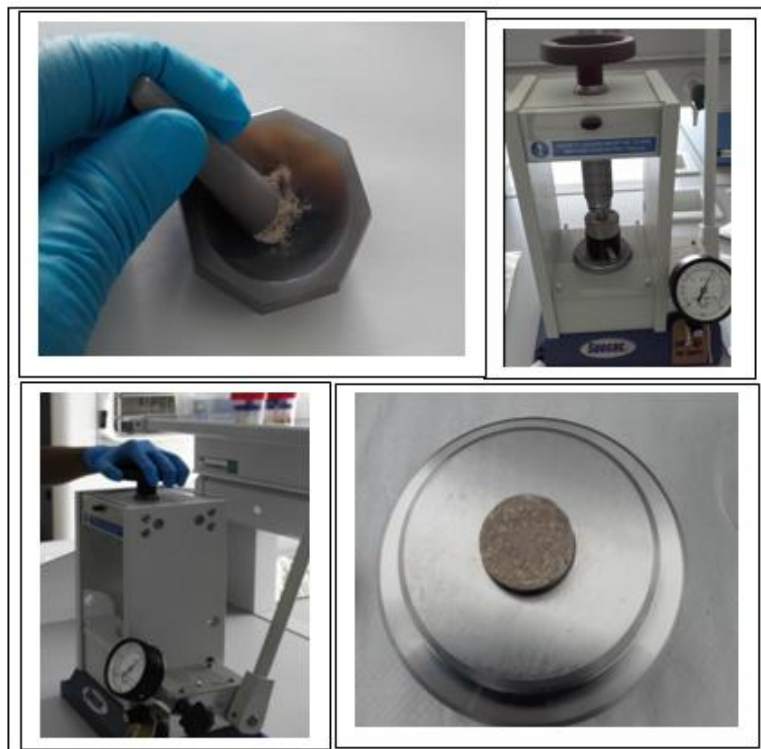


Figura 5. Imágenes de los distintos pasos para la preparación de la pastilla con KBr

Para la preparación de las pastillas de KBr se precisa de un mortero de ágata, toallas de papel, guantes desechables, pinza, prensa *Specac* y etanol. El procedimiento



consiste en obtener un polvo fino y homogéneo para su posterior prensado. La válvula empleada permite aplicar una presión de aproximadamente 10 atmosferas durante 3 minutos. La figura 5 muestra el resumen de preparación de la pastilla.

Tabla 3. Composición de las pastillas de las raíces de la remolacha para su análisis por FTIR

Código	Peso muestra (mg)	Mezcla remolacha/KBr (mg)	Porcentaje (%)
L2AR	38	748	5,08
L5BR	39	724	5,38
L9BR	42	735	5,71
LS1.1R	41	722	5,67
L-S1.3R	40	731	5,47
M11BR	33	730	4,52
M2BR	35	731	4,78
M3AR	36	729	4,93
M5AR	42	747	5,62
M5BR	32	732	4,37
M6AR	34	730	4,65
M7AR	34	751	4,52
M9AR	38	730	5,20
PA2.3R	37	740	5,00
PS1.3R	32	734	4,35
PS4.1R	34	750	4,53
PS4.2R	34	732	4,64
PS4.3R	35	736	4,75
T5AR	44	750	5,86
T5BR	38	731	5,19
T8BR	34	743	4,57
T9BR	42	810	5,18
T10AR	35	731	4,78
T11BR	32	544	5,88
VTA3.1R	37	741	4,99
VTA4.1R	35	738	4,74
VTA12R	35	759	4,61
VTS23R	43	762	5,64
VTS31R	39	730	5,34
VTS41R	36	728	4,94
WA21R	33	740	4,45
WA31R	39	734	5,31
WA33R	40	736	5,43
WA42R	51	804	6,34
WS21R	37	745	4,97
WS33R	38	744	5,10

3.2. Análisis y caracterización de las muestras

Las muestras preparadas fueran analizadas y caracterizadas mediante espectroscopia infrarroja con trasformada de Fourier (FTIR), utilizando un espectrofotómetro de *Thermo Scientific*, modelo Nicolet iS50 FT-IR con un rango de lectura de $400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ perteneciente al Laboratorio de Técnicas Instrumentales (LTI) sito en el Campus de Palencia y perteneciente a la Universidad de Valladolid (UVa). Figura 6.



Figura 6. Caracterización de las muestras con FTIR

Se utilizó el programa OMNIC 9.3.32 (*Thermo Scientific*) para la recogida y análisis de los espectros. En la tabla siguiente se recoge información sobre las características de los espectros registrados.

Tabla 4- Información de recogida del espectro

Número de barridos de muestra	32
Duración de la recogida	47,3 s
Resolución:	4 cm^{-1}
Número de puntos de barrido	16672
Frecuencia del láser	$15798,3\text{ cm}^{-1}$



Las muestras analizadas se agruparon mediante un promedio espectral de muestras coincidentes en variedad, procedencia y año. De las 36 muestras, finalmente se ofrecen 14 espectros (Figura 7), con corrección de la línea base para el correcto estudio de las vibraciones moleculares (Figura 8), y su posterior relación con área de picos. Para el análisis estadístico, se utilizó el programa IBM SPSS Statistics 24.0 y se siguió la codificación especificada en la tabla 5.

Tabla 5. Codificación utilizada

Número	Localidad	Provincia	Variedad	Año	Código
1	Laguna de Negrillos	León	Dulzata	2011	LD DUL
2	Laguna de Negrillos		Sandrina	2011	LD SAN
3	Magaz de Pisuerga	Palencia	Dulzata	2011	MP DUL
4	Magaz de Pisuerga		Sandrina	2011	MP SAN
5	Tordesillas	Valladolid	Dulzata	2011	TOR DUL
6	Tordesillas		Sandrina	2011	TOR SAN
7	Laguna	Valladolid	Amalia	2012	LAG AM
8	Laguna		Sandrina	2012	LAG SAN
9	Pampliega	Burgos	Amalia	2012	PAM AM
10	Pampliega		Sandrina	2012	PAM SAN
11	Vertavillo	Palencia	Amalia	2012	VER AM
12	Vertavillo		Sandrina	2012	VER SAN
13	Villavieja	Valladolid	Amalia	2012	VILL AM
14	Villavieja		Sandrina	2012	VILL SAN

4. Resultados y discusión

4.1. Espectros

Los distintos espectros se recogieron en el infrarrojo medio, entre 4000 y 400 cm^{-1} . En la figura 7, se observan todas las muestras analizadas con sus distintos grupos funcionales y las longitudes de onda de los picos de absorción. Para la comparación de los espectros hemos llevado a cabo la corrección tanto de la escala (a una común), como de la línea base. La figura 8 representa los espectros con tales correcciones y la figura 9 muestra la región de la huella dactilar, que es aquella región del espectro en la que pequeñas diferencias en la estructura y la constitución de una molécula dan por resultado cambios importantes en la distribución de los picos de absorción. Como consecuencia, la correspondencia de dos espectros en esta región constituye una prueba de su identidad (Martínez, 2007).

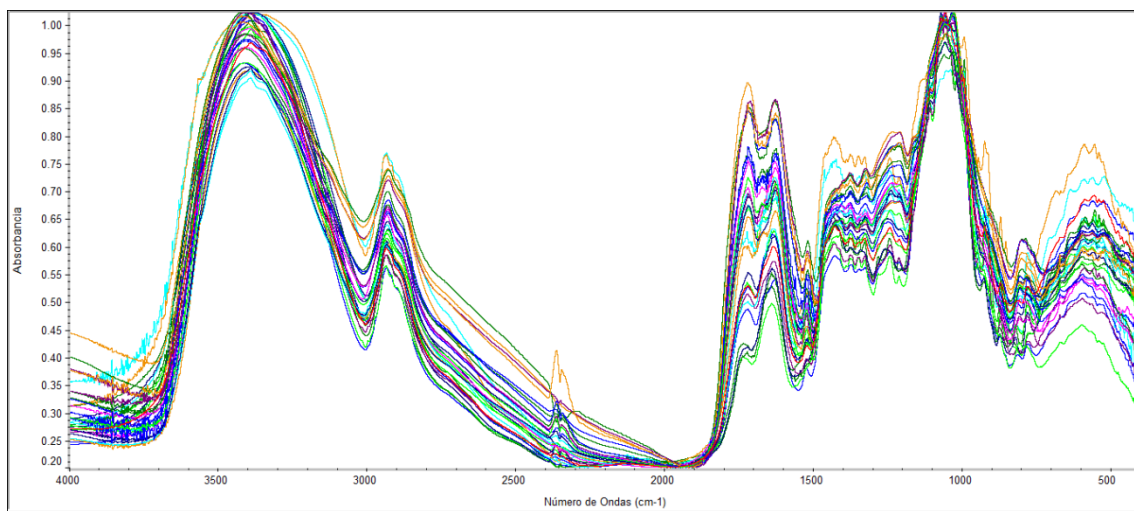


Figura 7. Espectros de absorción de la totalidad de las muestras de raíz de remolacha en el infrarrojo medio.

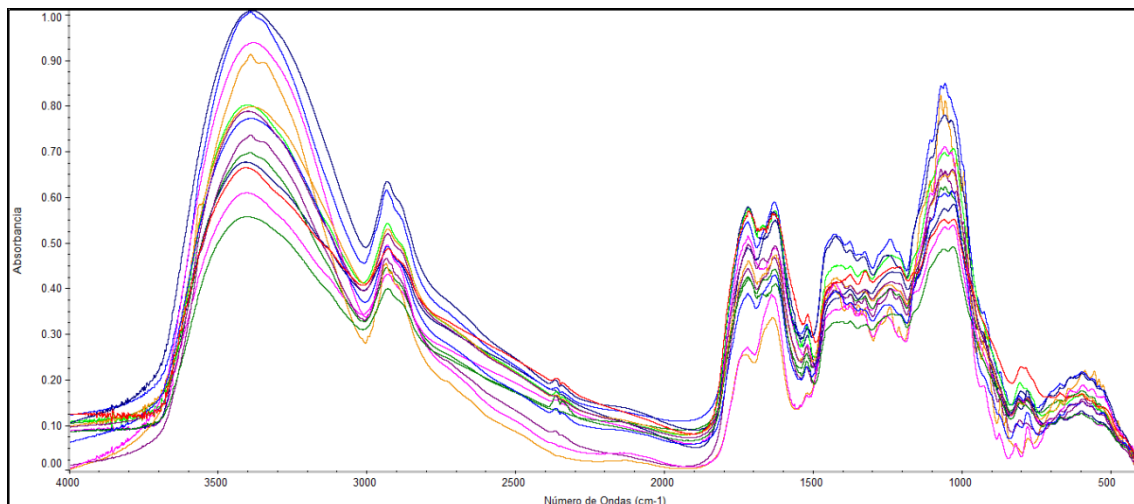


Figura 8. Espectros de absorción de las medias por localidad y variedad de la raíz de remolacha en el infrarrojo medio, con corrección de línea base.

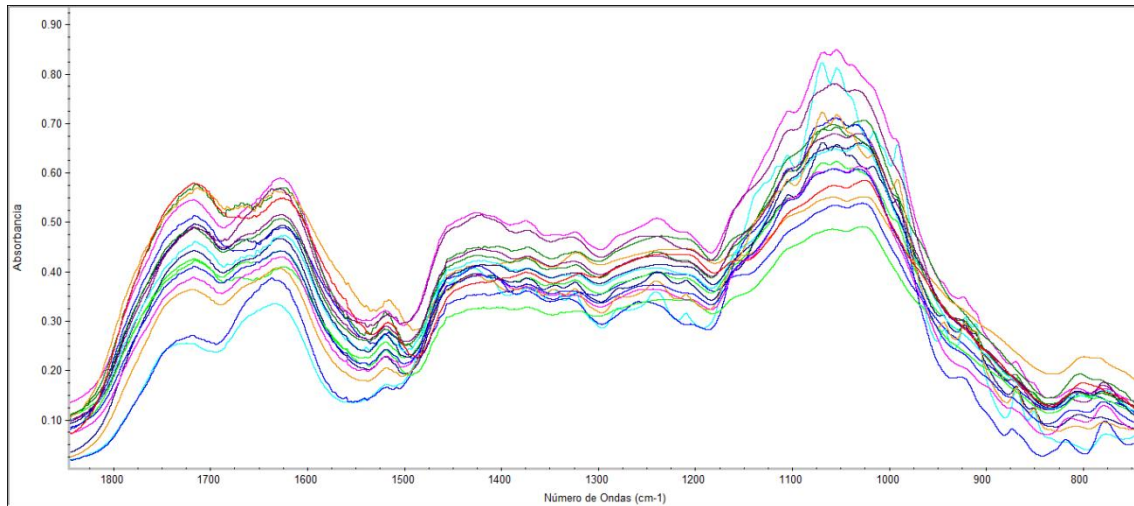


Figura 9. Espectros de absorción de las medias por localidad y variedad de la raíz de remolacha, y de sus respectivas medias anuales, en el rango de la huella dactilar con corrección de base.

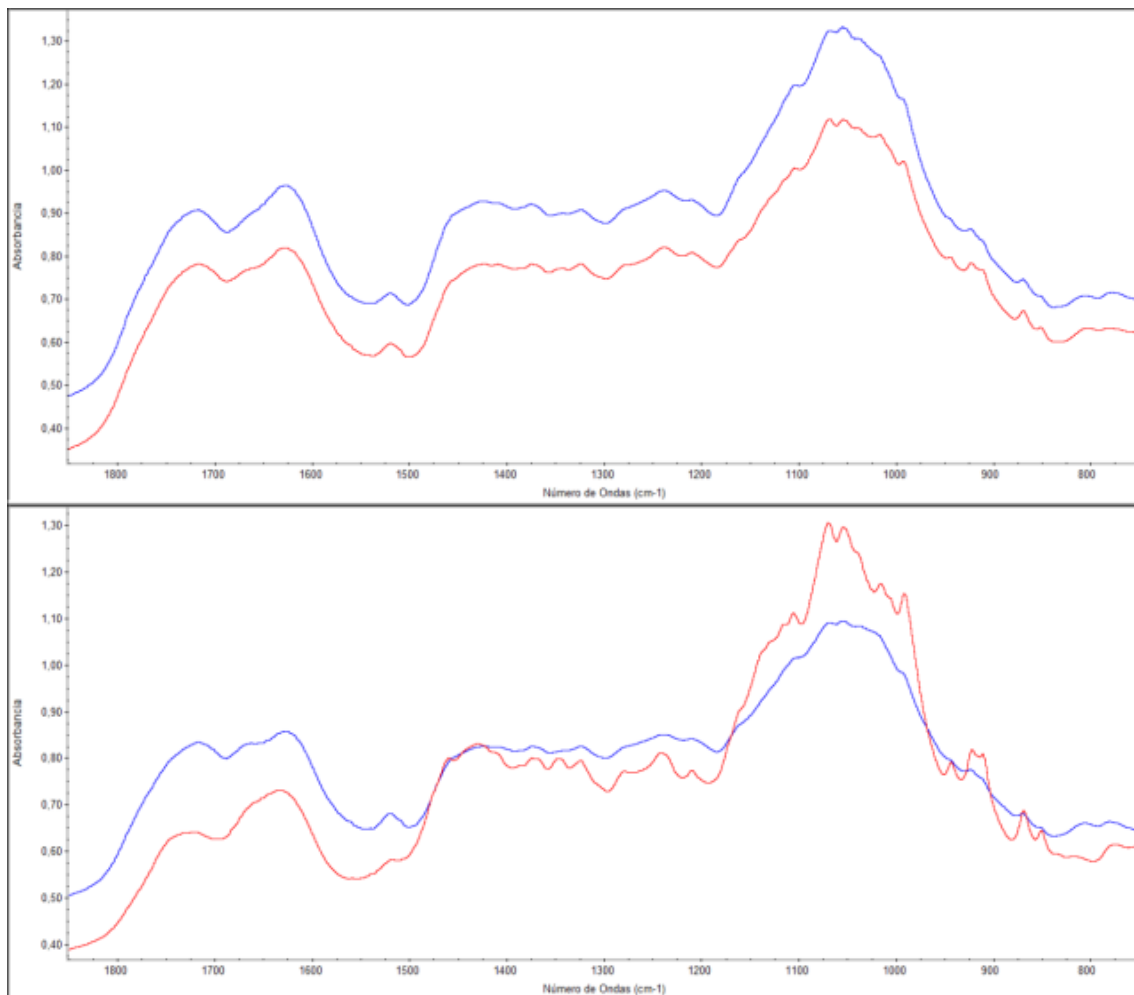


Figura 10. Comparación de la huella dactilar de las variedades Sandrina (rojo) y Dulzata (azul) de (i) Tordesillas y (ii) Magaz de Pisuerga, de 2011

Comparando las variedades de remolacha en la localidad de Tordesillas, se aprecia una mayor absorbancia espectral de los grupos funcionales de la variedad de Dulzata (en azul) y una menor absorbancia de los de la variedad Sandrina (en rojo), en toda la



región del infrarrojo medio. En cambio, en otras localidades (Magaz de Pisuerga) difieren las absorbancias según la zona observada (figura 10).

En Laguna de Negrillos, los espectros de las dos variedades son muy similares, entrelazándose según la zona observada. En Magaz de Pisuerga, como se ha dicho, únicamente tiene mayor absorbancia las vibraciones de los grupos funcionales presentes en la variedad Sandrina y en Tordesillas es la absorbancia de la variedad Dulzata claramente superior en todo el espectro. En cuanto a las localidades de 2012, en Laguna de Negrillos, la absorbancia de las vibraciones de los grupos funcionales de la variedad Sandrina es mucho mayor, salvo en los enlaces presentes en la sacarosa, que se iguala en absorbancia con Amalia. En Vertavillo se diferencian dos regiones de la huella dactilar; de 1800 a 1700 cm^{-1} , la absorbancia de los enlaces en la variedad Amalia es algo mayor que Sandrina, y de 1700 a 800 cm^{-1} , es la variedad Sandrina mayor, sobre todo en las vibraciones de los enlaces presentes en la sacarosa. Tanto en Pampliega como en Vertavillo, la absorbancia de la variedad Sandrina es muy superior a la de Amalia. Ver Anexo I, figuras 18 a 31.

La remolacha tiene grupos funcionales CH con bandas intensas de absorción en el rango de número de onda de 3,000 a 2,800 cm^{-1} y especialmente de 1500 a 900 cm^{-1} (Damazio et al., 2015). Éste último intervalo se corresponde con la región de la huella dactilar. En cuanto a la sacarosa, se presentan vibraciones de los enlaces C-H, O-H, C-C, y C-O, con picos de absorción relativamente pequeños (Pan et al., 2015), y los picos de absorción más intensos corresponden a las vibraciones de los grupos funcionales (CH₂-OH) que se presentan a 1056 cm^{-1} (Garrigues, 2000).

En la tabla 6 se recogen las vibraciones y números de onda de diferentes especies químicas presentes en las variedades de remolacha azucarera según Garrigues, 2000; Salas et al., 2008; Bekiaris et al., 2015 y Ftirsearch, 2016; y en la tabla 7 se reflejan los valores de las absorbancias para las longitudes de onda seleccionadas y de cada muestra y variedad codificada.

Tabla 6. Asignaciones de las vibraciones de los grupos funcionales de diferentes especies químicas y para diferentes variedades de remolacha

Número de onda (cm^{-1})	Grupos funcionales	Especie química
3292	CH, NH o NH ₂	Pectina
2921	CH, CH ₂ , CH ₃	Celulosa
1619	COO	Lignina
1415	COO, CH=CH ₂ , CO, COOH, C-CH ₃	Hemicelulosa
1319	CH ₃ -Si	Celulosa
1080	CH ₂ -OH	Sacarosa
1056	CH ₂ -OH	Sacarosa
1030	CH ₂ -OH,	Hemicelulosa
980	CH=CH ₂	Eteno



Tabla 7. Valores de absorbancia para la longitud de onda seleccionada (cm^{-1}) y para cada muestra y variedad de remolacha codificada.

Código muestra	3292	2921	1619	1415	1319	1080	1056	1030	980
2011 LN DUL	0,556	0,428	0,483	0,351	0,356	0,508	0,532	0,536	0,385
2011 LN SAN	0,621	0,485	0,543	0,376	0,395	0,544	0,573	0,58	0,433
2011 MP DUL	0,643	0,438	0,434	0,388	0,378	0,587	0,619	0,602	0,442
2011 MP SAN	0,837	0,433	0,315	0,386	0,341	0,722	0,798	0,7	0,534
2011 TOR DUL	0,926	0,603	0,578	0,512	0,474	0,784	0,844	0,802	0,576
2011 TOR SAN	0,68	0,454	0,457	0,389	0,37	0,603	0,651	0,616	0,466
2012 LAG AM	0,738	0,537	0,562	0,447	0,437	0,667	0,696	0,703	0,505
2012 LAG SAN	0,602	0,484	0,554	0,411	0,435	0,53	0,549	0,548	0,434
2012 PAM AM	0,884	0,487	0,362	0,403	0,332	0,672	0,708	0,694	0,454
2012 PAM SAN	0,955	0,628	0,553	0,508	0,462	0,742	0,778	0,765	0,548
2012 VER AM	0,518	0,396	0,404	0,323	0,318	0,469	0,484	0,488	0,361
2012 VER SAN	0,755	0,527	0,467	0,419	0,389	0,623	0,647	0,655	0,462
2012 VILL AM	0,727	0,487	0,421	0,388	0,348	0,588	0,606	0,612	0,413
2012 VILL SAN	0,727	0,515	0,487	0,411	0,394	0,627	0,652	0,658	0,464

Como se observa en la figura 11, los grupos funcionales de la variedad Dulzata recogida en 2011, presenta mayores valores de absorbancia en la localidad de Tordesillas en todos los picos analizados.

También de 2011 y reflejado en la figura 12, la variedad Sandrina varía la absorbancia con el número de onda analizado en mayor medida que atendiendo a la localidad. De tal modo, la remolacha de Magaz de Pisuerga registra valores mucho mayores de absorbancia en relación a los grupos funcionales presentes en la pectina, sacarosa, hemicelulosa y eteno (3292 y $1080\text{-}980\text{ cm}^{-1}$). Por otro lado, no se encuentran diferencias en las absorbancias a 1415 cm^{-1} del grupo funcional CH_2OH de la sacarosa en raíz de la variedad Sandrina en 2011.

Respecto a los números de onda 2921 de celulosa, 1619 de lignina y 1319 cm^{-1} de celulosa, Laguna de Negrillos es quién registra más absorbancia para las tres longitudes de onda, seguido de Tordesillas y Magaz de Pisuerga; y por lo tanto, quién presenta mayor rendimiento en materiales lignocelulósicos..

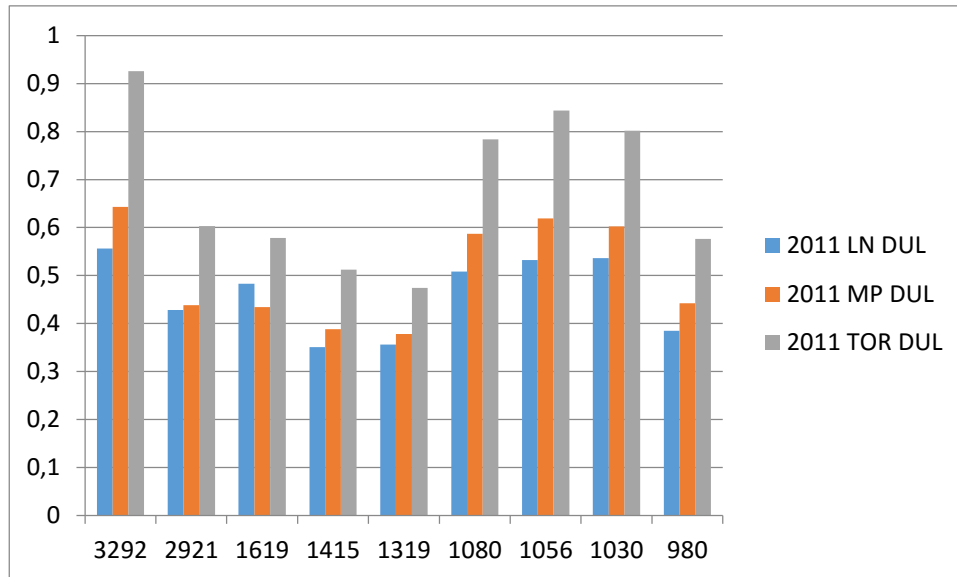


Figura 11. Histograma de absorciones a distintos números de onda de la variedad Dulzeta en 2011 en las distintas localidades.

Al igual que la variedad Sandrina de 2011, la variedad Amalia de 2012 tiene unas absorbancias de distinta magnitud según el compuesto analizado. En la figura 13 vemos que las muestras de Pampliega presentan mayor contenido de pectina que el resto, que en el caso de la celulosa Laguna es quien tiene mayores valores (a diferencia del resto que son similares), y que en el rango 1080-980 cm⁻¹, correspondiente a la sacarosa y la hemicelulosa, son Pampliega y Laguna quienes ofrecen registros similares con aproximadamente una décima de diferencia entre ellos, seguidos por la localidad de Villavieja y por último, Vertavillo.

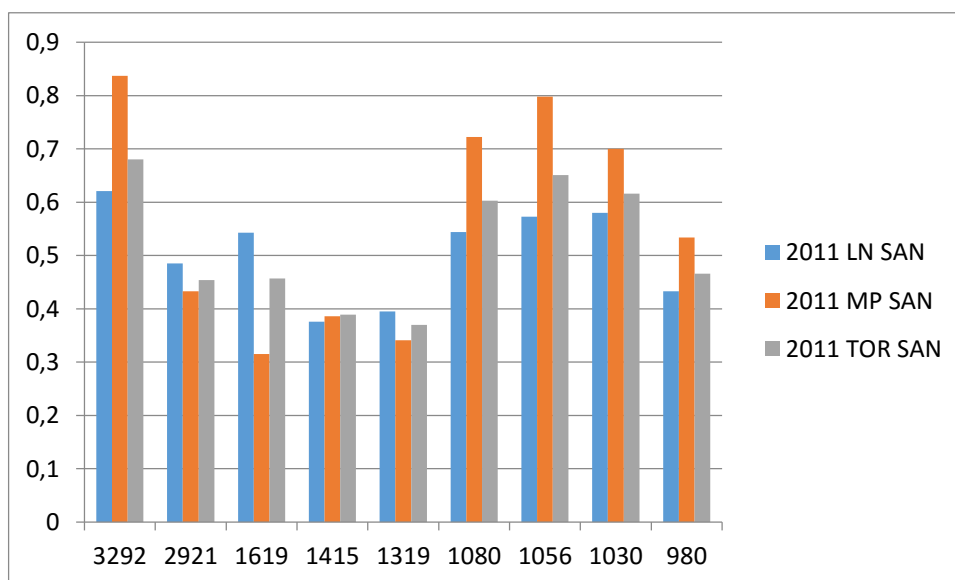


Figura 12. Histograma de absorciones a distintos números de onda de la variedad Sandrina en 2011 en las distintas localidades.

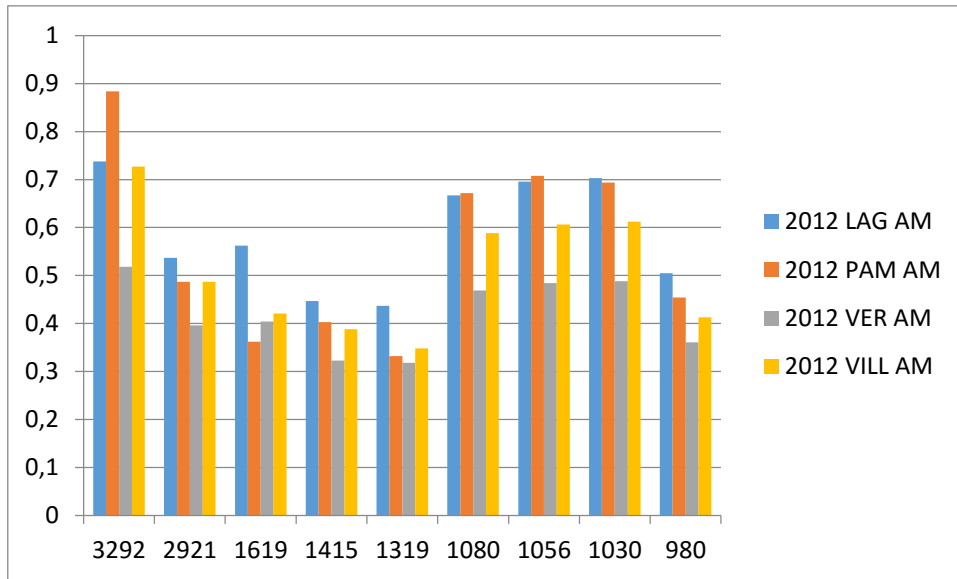


Figura 13. Histograma de absorciones a distintos números de onda de la variedad Amalia en 2012 en las distintas localidades.

Por último, la variedad Sandrina en 1012 difiere de la variedad anterior en que el orden de magnitud de los registros se mantiene constante (exceptuando el contenido de lignina en 1619 cm^{-1}). La localidad de Pampliega difiere hasta en dos décimas los valores de absorbancia en algunos puntos, seguido de Villavieja y Vertavillo con valores muy próximos entre sí y dejando en último lugar Laguna, salvo para el contenido de lignina antes mencionado, con absorbancia similar a la de Pampliega. Figura 14.

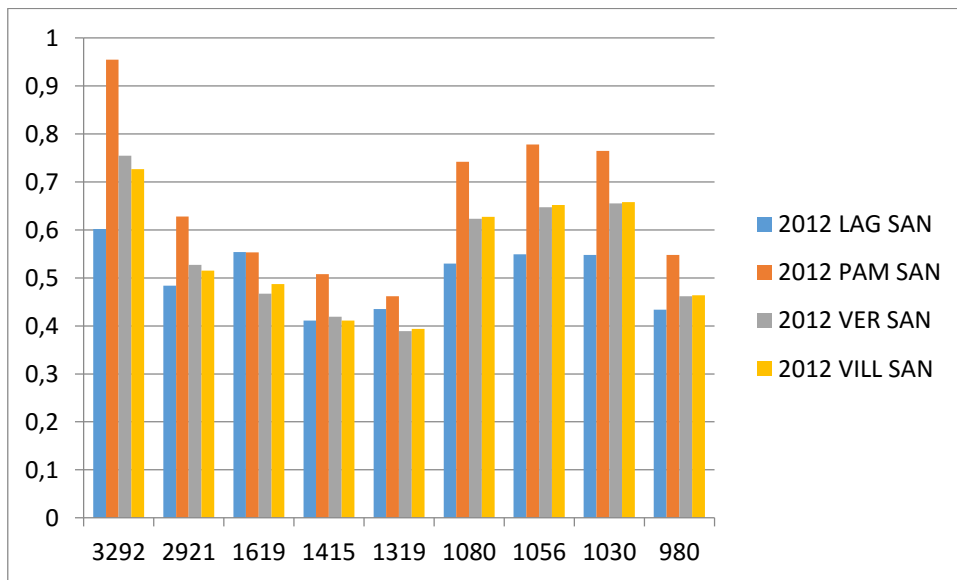


Figura 14. Histograma de absorciones a distintos números de onda de la variedad Sandrina en 2012 en las distintas localidades.

Analizando la comparativa anual (figura 15) y dadas las desviaciones que presentan los datos considerados, se considera precipitado utilizar un registro temporal debido a la mayor influencia a nivel geográfico que el propio año de cosecha. Es por ello por lo que se centrará el estudio en las diferencias por variedad y localidad.

Además, dada la importancia económica de la sacarosa tanto a nivel regional como nacional (y cuya estructura química observamos en la figura 16), se ha realizado el análisis de distancia mínima (o de vecino próximo) centralizado en número de onda de la misma, 1056 cm^{-1} .

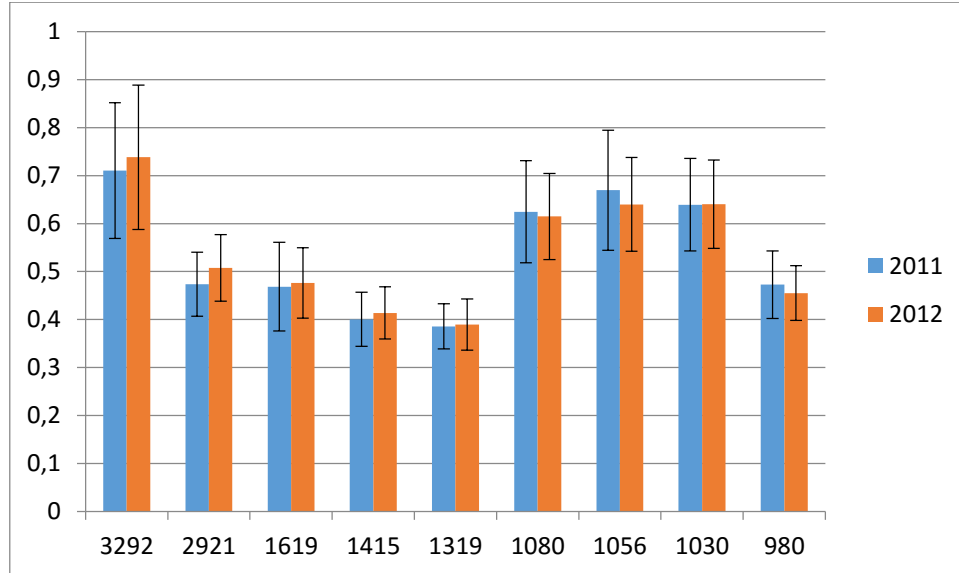


Figura 15. Histograma comparativo de absorciones a distintos números de onda en 2011 y 2012.

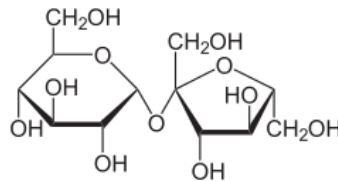


Figura 16. Estructura de la sacarosa.

El análisis de correlaciones bivariadas muestra una estrecha relación entre los valores de las muestras, tanto en las variedades utilizadas en 2011 como las de 2012. En las tablas 7 y 8 se puede comprobar que el nivel de significación está por debajo del 0,01. Dado que se pretende una mayor profundización, se ha realizado un estudio de distancias mínimas o de vecindad, con el fin de conocer qué combinaciones variedad/localidad son más próximas:

- 1. Laguna de Negrillos, variedad Dulzata, 2011; su vecino más próximo es Vertavillo, var. Amalia 2012, seguido de la variedad Sandrina de la misma localidad y de la variedad Dulzata de Magaz de Pisuegra.
- 2. Laguna de Negrillos, variedad Sandrina, 2011; su vecino más próximo es Villavieja, var. Amalia 2012, seguido de la variedad Sandrina de Laguna y de la variedad Dulzata de Magaz de Pisuegra.
- 3. Magaz de Pisuegra, variedad Dulzata, 2011; su vecino más próximo es Tordesillas, var. Sandrina 2012, seguido de la variedad Amalia de la localidad de Villavieja y de la variedad Sandrina de Laguna de Negrillos.
- 4. Magaz de Pisuegra, variedad Sandrina, 2011; su vecino más próximo es Pampliega, var. Amalia 2012, seguido de la variedad Sandrina de Tordesillas y de la variedad Dulzata de Magaz de Pisuegra 2011.



- 5. Tordesillas, variedad Dulzata, 2011; su vecino más próximo es Pampliega, var. Sandrina 2012, seguido de la variedad Amalia de Laguna y de la variedad Sandrina de Vertavillo.
- 6. Tordesillas, variedad Sandrina, 2011; su vecino más próximo es Magaz de Pisuega, var. Dulzata 2011, seguido de la variedad Amalia de Villavieja 2012 y de la variedad Amalia de Pampliega 2012.
- 7. Laguna, variedad Amalia, 2012; su vecino más próximo es Vertavillo, var. Amalia 2012, seguido de la variedad Sandrina de Villavieja 2012 y de la variedad Amalia de Pampliega 2012.
- 8. Laguna, variedad Sandrina, 2012; su vecino más próximo es Laguna de Negrillos, var. Sandrina 2011, seguido de la variedad Amalia de Villavieja 2012 y de la variedad Dulzata de Magaz de Pisuega.
- 9. Pampliega, variedad Amalia, 2012; su vecino más próximo es Villavieja, var. Sandrina 2012, seguido de la variedad Sandrina de Tordesillas 2011 y de la variedad Sandrina de Vertavillo 2012.
- 10. Pampliega, variedad Sandrina, 2012; su vecino más próximo es Villavieja, var. Sandrina 2012, seguido de la variedad Sandrina de Tordesillas 2011 y de la variedad Sandrina de Vertavillo 2012.
- 11. Vertavillo, variedad Amalia, 2012; su vecino más próximo es Laguna de Negrillos, var. Dulzata de 2011, la variedad Sandrina de la misma localidad y de la variedad Dulzata de Magaz de Pisuega.
- 12. Vertavillo, variedad Sandrina, 2012; su vecino más próximo es Villavieja, var. Sandrina 2012, seguido de la variedad Amalia de Laguna y de la variedad Amalia de Pampliega 2012.
- 13. Villavieja, variedad Amalia, 2012; su vecino más próximo es Laguna de Negrillos, var. Sandrina 2011, seguido de la variedad Sandrina de Tordesillas 2011 y de la variedad Sandrina de Laguna 2012.
- 14. Villavieja, variedad Sandrina, 2012; su vecino más próximo es Vertavillo, var. Sandrina 2012, seguido de la variedad Amalia de Pampliega 2012 y de la variedad Amalia de Villavieja.

En la tabla 10 se muestra dicho análisis, relacionando cada muestra con su vecino más cercano y la distancia correspondiente. En el Anexo 2 se encuentra además la representación de cada variedad/localidad en el espacio. A pesar de que las variables utilizadas hayan sido la totalidad de los números de onda analizados, para la representación espacial únicamente han podido ser seleccionados tres de ellos, siendo 2921, 1415 y 1056 cm^{-1} , celulosa, hemicelulosa y sacarosa respectivamente. No obstante, el pico elegido para su mejor observación en un mapa cuadrante, ha sido el de la sacarosa.



Tabla 8. Correlaciones entre localidades y variedades de 2011

		2011 LN DUL	2011 LN SAN	2011 MP DUL	2011 MP SAN	2011 TOR DUL	2011 TOR SAN
2011 LN DUL	Pearson Correlation	1	,991**	,924**	,788*	,926**	,932**
	Sig. (2-tailed)		,000	,000	,012	,000	,000
	N	9	9	9	9	9	9
2011 LN SAN	Pearson Correlation	,991**	1	,890**	,748*	,903**	,906**
	Sig. (2-tailed)	,000		,001	,021	,001	,001
	N	9	9	9	9	9	9
2011 MP DUL	Pearson Correlation	,924**	,890**	1	,961**	,992**	,996**
	Sig. (2-tailed)	,000	,001		,000	,000	,000
	N	9	9	9	9	9	9
2011 MP SAN	Pearson Correlation	,788*	,748*	,961**	1	,953**	,957**
	Sig. (2-tailed)	,012	,021	,000		,000	,000
	N	9	9	9	9	9	9
2011 TOR DUL	Pearson Correlation	,926**	,903**	,992**	,953**	1	,994**
	Sig. (2-tailed)	,000	,001	,000	,000		,000
	N	9	9	9	9	9	9
2011 TOR SAN	Pearson Correlation	,932**	,906**	,996**	,957**	,994**	1
	Sig. (2-tailed)	,000	,001	,000	,000	,000	
	N	9	9	9	9	9	9

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

* . Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

Tabla 9. Correlaciones entre localidades y variedades de 2012

		2012 LAG AM	2012 LAG SAN	2012 PAM AM	2012 PAM SAN	2012 VER AM	2012 VER SAN	2012 VILL AM	2012 VILL SAN
2012 LAG AM	Pearson Correlation	1	,907**	,929**	,949**	,998**	,971**	,962**	,990**
	Sig. (2-tailed)		,001	,000	,000	,000	,000	,000	,000
	N	9	9	9	9	9	9	9	9
2012 LAG SAN	Pearson Correlation	,907**	1	,756*	,841**	,920**	,849**	,840**	,875**
	Sig. (2-tailed)	,001		,018	,004	,000	,004	,005	,002
	N	9	9	9	9	9	9	9	9
2012 PAM AM	Pearson Correlation	,929**	,756*	1	,985**	,925**	,983**	,986**	,968**
	Sig. (2-tailed)	,000	,018		,000	,000	,000	,000	,000
	N	9	9	9	9	9	9	9	9
2012 PAM SAN	Pearson Correlation	,949**	,841**	,985**	1	,954**	,994**	,996**	,981**
	Sig. (2-tailed)	,000	,004	,000		,000	,000	,000	,000
	N	9	9	9	9	9	9	9	9
2012 VER AM	Pearson Correlation	,998**	,920**	,925**	,954**	1	,974**	,966**	,991**
	Sig. (2-tailed)	,000	,000	,000	,000		,000	,000	,000
	N	9	9	9	9	9	9	9	9
2012 VER SAN	Pearson Correlation	,971**	,849**	,983**	,994**	,974**	1	,999**	,995**
	Sig. (2-tailed)	,000	,004	,000	,000	,000		,000	,000
	N	9	9	9	9	9	9	9	9
2012 VILL AM	Pearson Correlation	,962**	,840**	,986**	,996**	,966**	,999**	1	,990**
	Sig. (2-tailed)	,000	,005	,000	,000	,000	,000		,000
	N	9	9	9	9	9	9	9	9
2012 VILL SAN	Pearson Correlation	,990**	,875**	,968**	,981**	,991**	,995**	,990**	1
	Sig. (2-tailed)	,000	,002	,000	,000	,000	,000	,000	
	N	9	9	9	9	9	9	9	9

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

* . Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).



Tabla 10. Análisis de vecindad entre muestras para cada una de ellas.
 Se muestra el vecino más cercano y su distancia correspondiente.

Focal Record	Nearest Neighbors			Nearest Distances		
	1	2	3	1	2	3
1	11	2	3	0,485	0,603	0,628
2	13	8	3	0,224	0,394	0,496
3	6	13	2	0,225	0,429	0,496
4	9	6	3	0,706	0,837	0,996
5	10	7	12	0,427	1,214	1,611
6	3	13	9	0,225	0,0379	0,451
7	12	14	9	0,411	0,491	0,638
8	2	13	3	0,394	0,400	0,606
9	14	6	12	0,403	0,451	0,512
10	14	6	12	0,427	1,113	1,475
11	1	2	3	0,485	1,071	1,080
12	14	7	9	0,137	0,411	0,512
13	2	6	8	0,224	0,379	0,400
14	12	9	13	0,137	0,403	0,428

Nota: 1: Laguna de Negrillos, variedad Dulzata, 2011; 2: Laguna de Negrillos, variedad Sandrina, 2011; 3: Magaz de Pisuerga, variedad Dulzata, 2011; 4: Magaz de Pisuerga, variedad Sandrina, 2011; 5: Tordesillas, variedad Dulzata, 2011; 6: Tordesilla, variedad Sandrina, 2011; 7: Laguna, variedad Amalia, 2012; 8: Laguna, variedad Sandrina, 2012; 9: Pampliega, variedad Amalia, 2012; 10: Pampliega, variedad Sandrina, 2012; 11: Vertavillo, variedad Amalia, 2012; 12: Vertavillo, variedad Sandrina, 2012; 13: Villavieja, variedad Amalia, 2012; 14: Villavieja, variedad Sandrina, 2012.

4.2. Área de pico

Se ha relacionado el área bajo la curva correspondiente al pico de sacarosa, previa corrección de la base de cada espectro, con el fin de establecer una relación entre variedades dentro del mismo año. Figura 17, 18, 19 y 20.

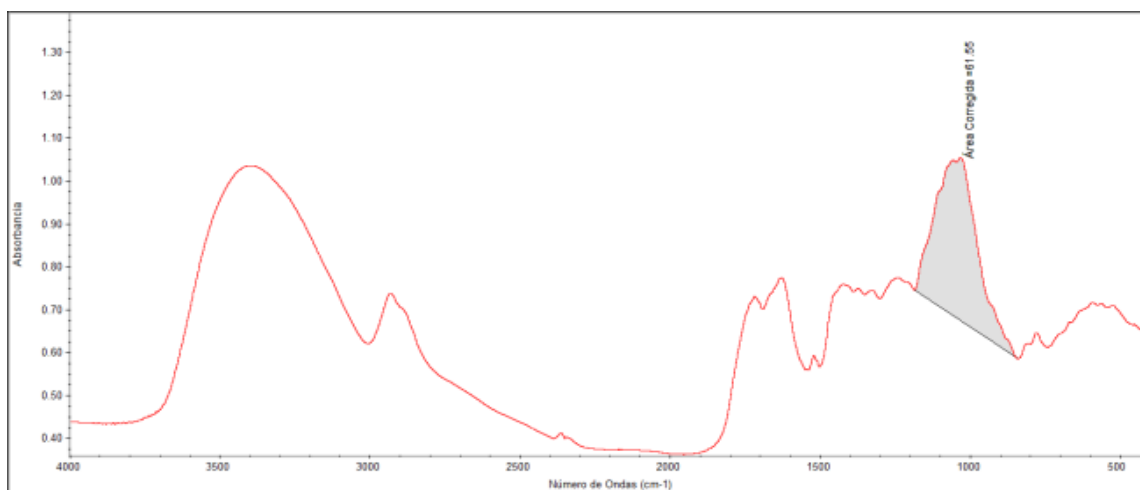


Figura 17. Áreas utilizadas para variedad Sandrina 2011

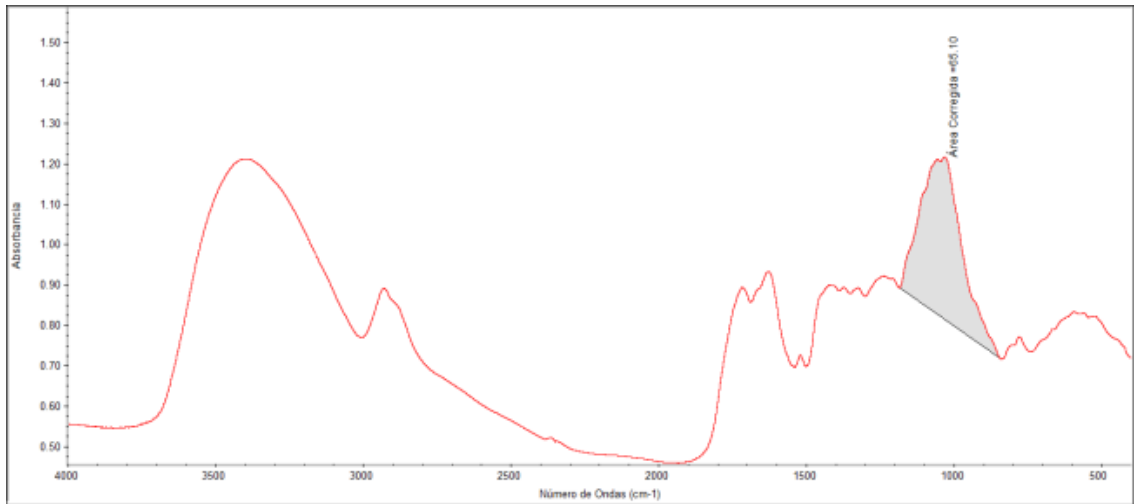


Figura 18. Áreas utilizadas para variedad Dulzata 2011

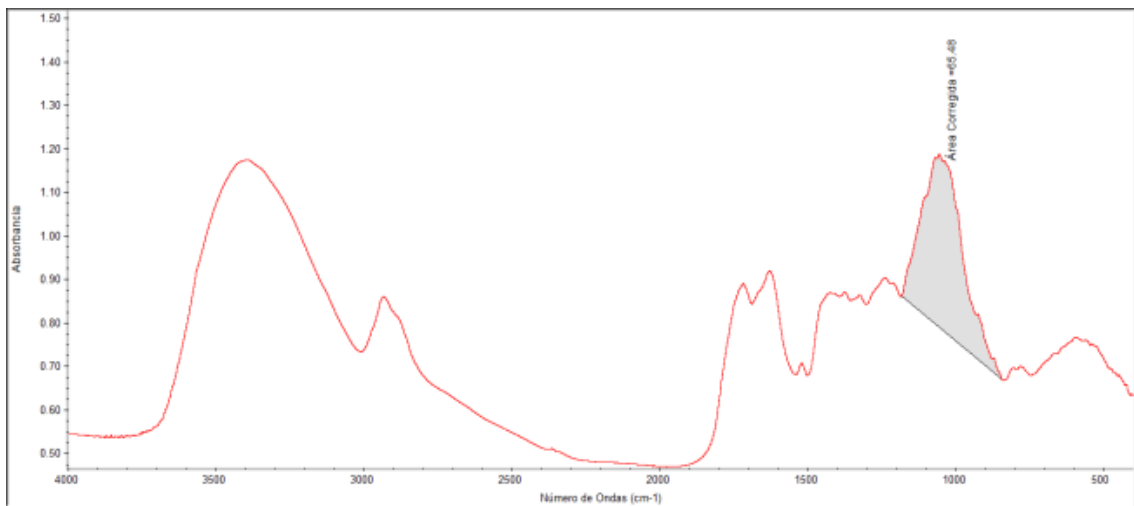


Figura 19. Áreas utilizadas para variedad Sandrina 2012

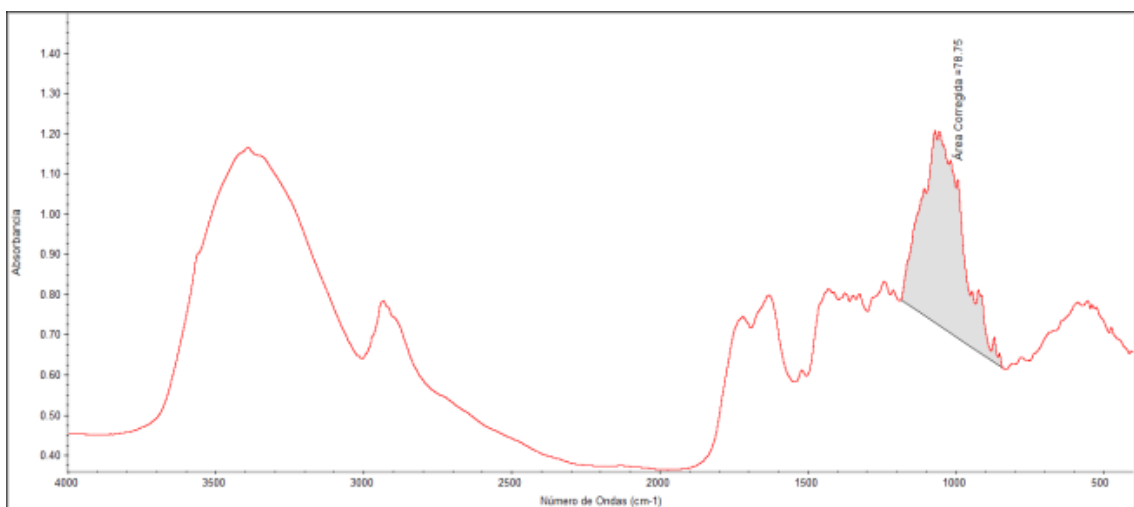


Figura 20. Áreas utilizadas para variedad Amalia 2012



A título de ejemplo, se presenta una aproximación al análisis cuantitativo utilizando patrones de muestras de raíz de variedades de remolacha. En primer lugar, se efectúa el estudio de relación de áreas para el año 2011 entre las variedades de Sandrina y Dulzata y posteriormente, para el año 2012 de las variedades Sandrina y Amalia. Se ha elegido la longitud de onda de 1056 cm^{-1} y la región de $1850\text{-}1650\text{ cm}^{-1}$.

Relación Sandrina₂₀₁₁/Dulzata

$$\mathbf{R\text{-}SD} = \frac{\text{Área}_{\text{Sandrina}}}{\text{Área}_{\text{Dulzata}}} = \frac{78,75}{65,48} = \mathbf{1,2}$$

Relación Sandrina₂₀₁₂/Amalia

$$\mathbf{R\text{-}SA} = \frac{\text{Área}_{\text{Sandrina}}}{\text{Área}_{\text{Amalia}}} = \frac{65,1}{61,55} = \mathbf{1,06}$$

De las anteriores relaciones, se ve que en ambos casos la producción de la variedad Sandrina es superior a las de Dulzata (año 2011) y Amalia (año 2012).



5. Conclusiones

Primera. Del estudio de espectroscopia infrarroja se han seleccionado las longitudes de onda y se han determinado las absorciones de enlaces específicos en moléculas orgánicas: pectina, celulosa, lignina, hemicelulosa, sacarosa y eteno (3292, 2921 y 1319, 1619, 1415 y 1030, 1080 y 1056 y 980 cm^{-1} , respectivamente); cuantificándose en base a sus absorciones -altura, área de pico y relación de áreas-.

Segunda. Del análisis estadístico mediante correlaciones bivariadas y el estudio de distancias mínimas se concluye que el lugar geográfico presenta más importancia en la producción de sacarosa que la variedad utilizada.

Tercera. De los histogramas realizados, se concluye mediante FT-IR que las absorbancias de los grupos funcionales de la sacarosa son muy superiores al resto de los grupos funcionales presentes en pectina, celulosa, lignina, hemicelulosa y eteno; y, por consiguiente, la riqueza en sacarosa predomina sobre el resto de las especies químicas.

Cuarta. El contenido de sacarosa difiere según localidades, en unas la variedad Sandrina tiene mayores absorbancias y en otras, es la variedad Dulzata o Amalia. Las relaciones altura/área para distintas longitudes de onda de las especies químicas estudiadas (pectina, celulosa, lignina, hemicelulosa y sacarosa) sirven para cuantificar la producción de sacarosa de las raíces de remolacha.

6. Agradecimientos

En primer lugar, agradezco al proyecto Dream-ACP por darme la beca. Agradezco también a toda la dirección de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad José Eduardo dos Santos por el apoyo institucional. A mis Directores Dña. Paula Carrión Prieto y D. Luis Fernando Sánchez Sastre por todo que han hecho para que este trabajo terminase, la palabra gracias no es suficiente para manifestar mi sentimiento, que Dios os bendiga. A mi tutor D. Salvador Hernández Navarro por haber aceptado desde el primer momento trabajar conmigo. Al coordinador del máster D. Henrique Relea Gangas por su atención y amistad, que fue a lo largo de este tiempo nuestro padre. A todos los profesores del Departamento de Ingeniería Agroforestal, en particular a D. Jesús Martín Gil, que siempre estuvo disponible para ayudarme. A Dña. Iosody Silva por animarnos y a toda mi familia en Angola.



7. Referencias bibliográficas

- ACOR, (2014). *Varietades de remolacha recomendadas para la campaña 2014-2015*. 1st ed. [ebook] Valladolid: Acor, p.1. Available at: <http://www.acor.es> [Accessed 12 Jun. 2016].
- AIMCRA, (2014). *Memoria Norte. Campaña 2014*. 1st ed. [ebook] España: AIMCRA. Available at: <http://www.aimcra.es/Publicaciones/Documentos/MemoriasNorte/memoria%20norte%202014DEF.pdf> [Accessed 3 Jun. 2016].
- AIMCRA, (2014). *Recomendaciones. Siembra primavera 2014*. 17th ed. [ebook] Valladolid: AIMCRA, p.1. Available at: <http://www.aimcra.es/> [Accessed 12 Jun. 2016].
- AIMCRA, (2015). *Siembra de primavera 2015. Recomendaciones*. 1st ed. [ebook] Valladolid: AIMCRA. Available at: <http://aimcra.com/Publicaciones/Revistas.aspx> [Accessed 1 Jun. 2016].
- AIMCRA, (2016). *Recomendaciones de cultivo > Adversidades de la remolacha*. [online] Available at: <http://aimcra.com/Biblioteca/Enfermedad.aspx?ID=1> [Accessed 12 Jun. 2016].
- Armenta, S., Garrigues, S. and de la Guardia, M. (2007). Partial least squares-near infrared determination of pesticides in commercial formulations. *Vibrational Spectroscopy*, 44(2), pp.273-278.
- Atlas de España. (1993). Madrid: El País-Aguilar.
- Azucarera, (2016). *Azucarera*. [online] Available at: http://www.azucarera.es/descubre_proceso.php [Accessed 2 Jun. 2016].
- Azucarera, (2016). *Plan 2020 azucarera. Recomendaciones para una siembra en abril/mayo*. 1st ed. Zamora: azucarera.es.
- Bekiaris, G., Lindedam, J., Peltre, C., Decker, S., Turner, G., Magid, J. and Bruun, S. (2015). Rapid estimation of sugar release from winter wheat straw during bioethanol production using FTIR-photoacoustic spectroscopy. *Biotechnol Biofuels*, 8(1).
- Cozzolino, D., Cynkar, W., Shah, N. and Smith, P. (2011). Multivariate data analysis applied to spectroscopy: Potential application to juice and fruit quality. *Food Research International*, 44(7), pp.1888-1896.
- Curran, P., Dungan, J. and Peterson, D. (2001). Estimating the foliar biochemical concentration of leaves with reflectance spectrometry. *Remote Sensing of Environment*, 76(3), pp.349-359.
- Damazio, D., Santos, R., Diniz, M., Mattos, E. and Dutra, R. (2015). Determinação do teor de ENB em EPDM (elastômero puro) por FT-IR de transmissão, por meio de banda relativa. *Polímeros*, 25(2), pp.181-185.



- Ftirsearch, (2016). *What is FTIRsearch.com*. [online] Available at: <http://ftirsearch.com> [Accessed 27 Jun. 2016].
- Garrigues, J. (2000). Direct ATR-FTIR determination of sucrose in beet root. *Talanta*, 51(2), pp.247-255.
- Gumienna, M., Szwengiel, A., Szczepańska-Alvarez, A., Szambelan, K., Lasik-Kurdyś, M., Czarnecki, Z. and Sitarski, A. (2016). The impact of sugar beet varieties and cultivation conditions on ethanol productivity. *Biomass and Bioenergy*, 85, pp.228-234.
- Lanuza, L. (2006). *Gran Atlas de España*. Madrid: Planeta.
- Magrama.gob.es. (2016). *Remolacha azucarera - Cultivos herbáceos e industriales - Producciones agrícolas - Agricultura - magrama.es*. [online] Available at: <http://www.magrama.gob.es/es/agricultura/temas/producciones-agricolas/cultivos-herbaceos/remolacha-azucarera/> [Accessed 30 May 2016].
- Martínez, J. (2007). *Espectroscopía infrarroja. 1-Fundamentos*. 1st ed. [ebook] p.1. Available at: <http://www.upct.es/> [Accessed 27 Jun. 2016].
- Morales, J. (2010). *La remolacha forrajera (Beta vulgaris L.) y su potencial para zonas áridas y semiáridas*. Doctorado. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. División ciencia animal.
- Pan, L., Zhu, Q., Lu, R. and McGrath, J. (2015). Determination of sucrose content in sugar beet by portable visible and near-infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, 167, pp.264-271.
- Sala, O. (2008). *Fundamentos da espectroscopia RAMAN e no infravermelho*. São Paulo: Unesp.
- Salas, Y., Colque, M., Lazo, A., Ccorymanya, R. and Obregón, C. (2008). *Obtención y caracterización fisicoquímica y funcional de las fibras dietéticas del níspero común (mespilus germanica)*. 1st ed. Revista de la Sociedad Química del Perú.
- Sanchez Sastre, L. (2016). *Analysis of the influence of environmental variables on carbon content of sugar beet crop and estimation of nitrogen content in leaves by vegetation indices*. Doctorado. Universidad de Valladolid.
- Sánchez, M. (2011). *Aportaciones al conocimiento de la dinámica de la materia orgánica edáfica en suelos calizos del páramo castellanoleonés*. Doctorado. Universidad de Valladolid.
- Sánchez, R. (2016). *Exploring the Best Solutions for Your FT-IR Applications*.
- Santos, M., Gerbino, E., Tymczyszyn, E. and Gomez-Zavaglia, A. (2015). Applications of Infrared and Raman Spectroscopies to Probiotic Investigation. *Foods*, 4(3), pp.283-305.
- Silva, A., Silva, Ê. Bassoi, L. and Klar, A. (2015). Desenvolvimento de cultivares de beterraba sob diferentes tensões da Água no solo. *Hortic. Bras.* 33(1), pp.12-18.



Silverstein, R., Webster, F. and Kiemle, D. (2010). *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*. Rio de Janeiro: Grupo Gen - LTC.

Skoog, D., Holler, F., Nieman, T. and Caracelli, I. (2002). *Princípios de análise instrumental*. Porto Alegre: Bookman.

Tamaro, D. and Caballero, A. (1977). *Manual de horticultura*. Barcelona: Gustavo Gili.



ANEXO I. Espectros de absorción

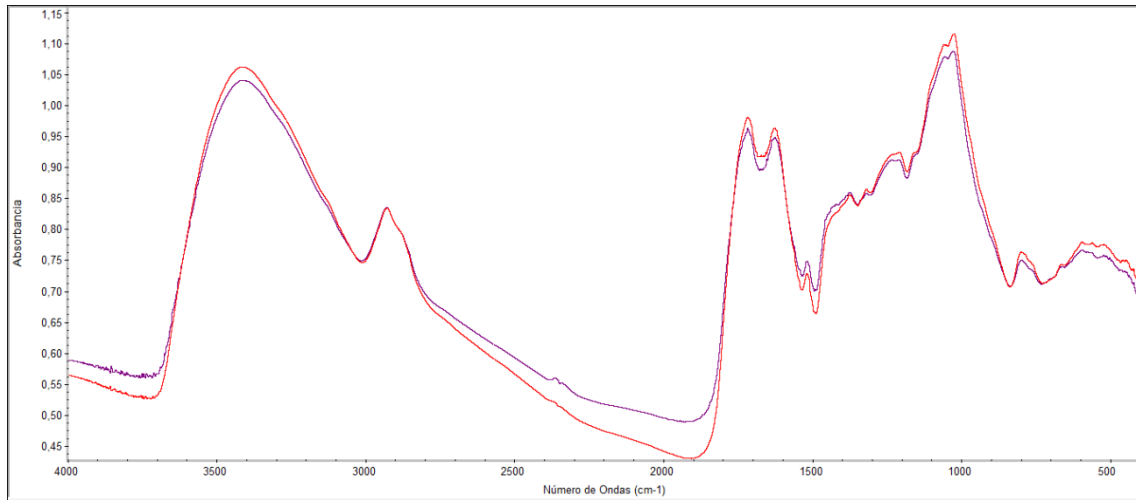


Figura 21. Espectros de absorción de las variedades Sandrina (rojo) y Dulzata (morado) de Laguna de Negrillos (León) en 2011, en el MIR.

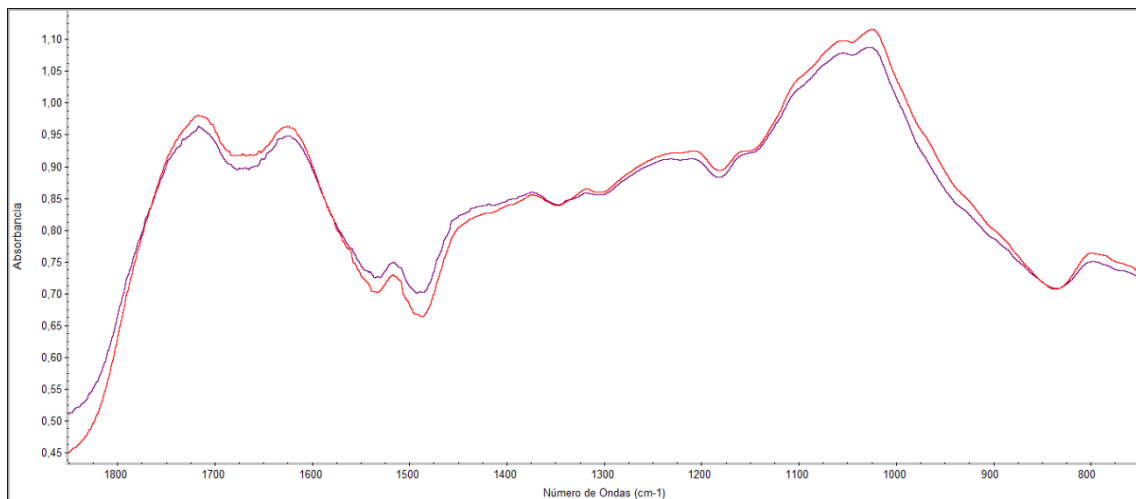


Figura 22. Huella dactilar de los espectros de absorción de las variedades Sandrina (rojo) y Dulzata (morado) de Laguna de Negrillos (León) en 2011, en el MIR.

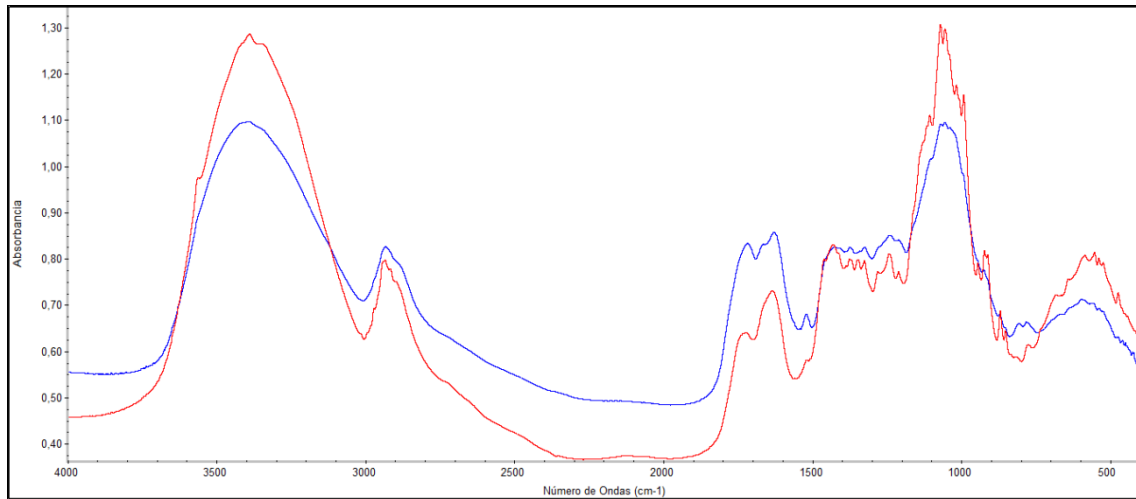


Figura 23. Espectros de absorción de las variedades Sandrina (rojo) y Dulzata (azul) de Magaz de Pisuerga (Palencia) en 2011, en el MIR.

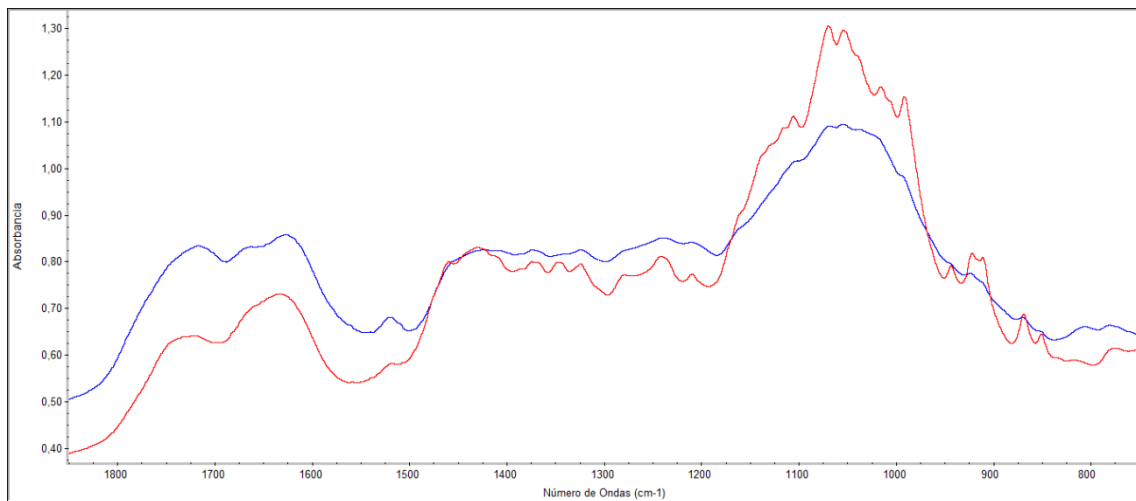


Figura 24. Huella dactilar de los espectros de absorción de las variedades Sandrina (rojo) y Dulzata (azul) de Magaz de Pisuerga (Palencia) en 2011, en el MIR.

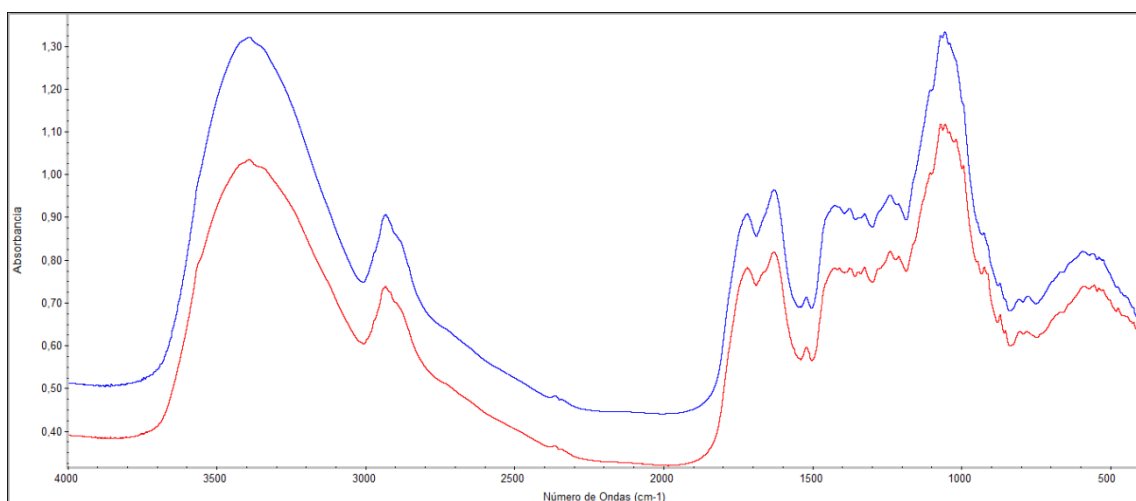


Figura 25. Espectros de absorción de las variedades Sandrina (rojo) y Dulzata (azul) de Tordesillas (Valladolid) en 2011, en el MIR.

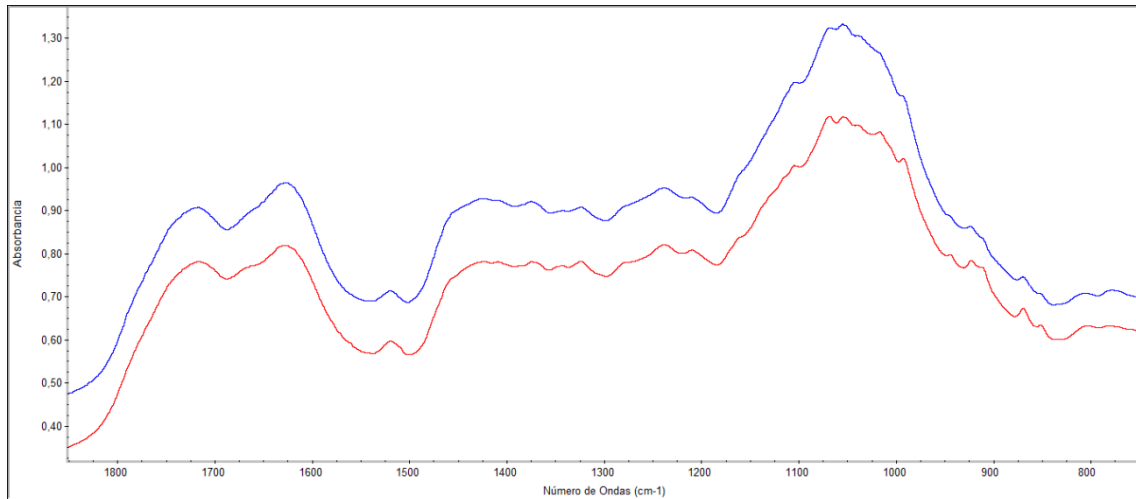


Figura 26. Huella dactilar de los espectros de absorción de las variedades Sandrina (rojo) y Dulzata (azul) de Tordesillas (Valladolid) en 2011, en el MIR.

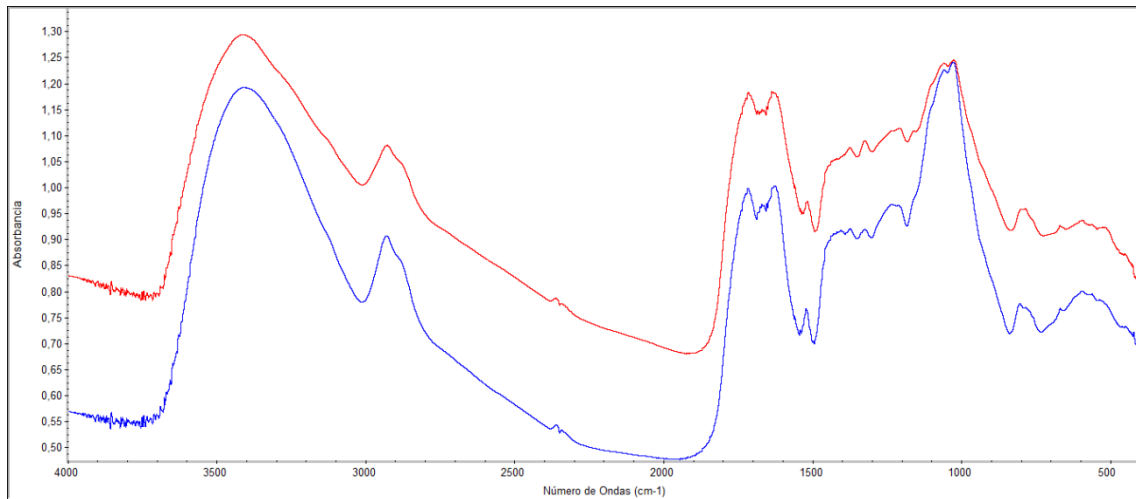


Figura 27. Espectros de absorción de las variedades Sandrina (rojo) y Amalia (azul) de Laguna (Valladolid) en 2012, en el MIR.

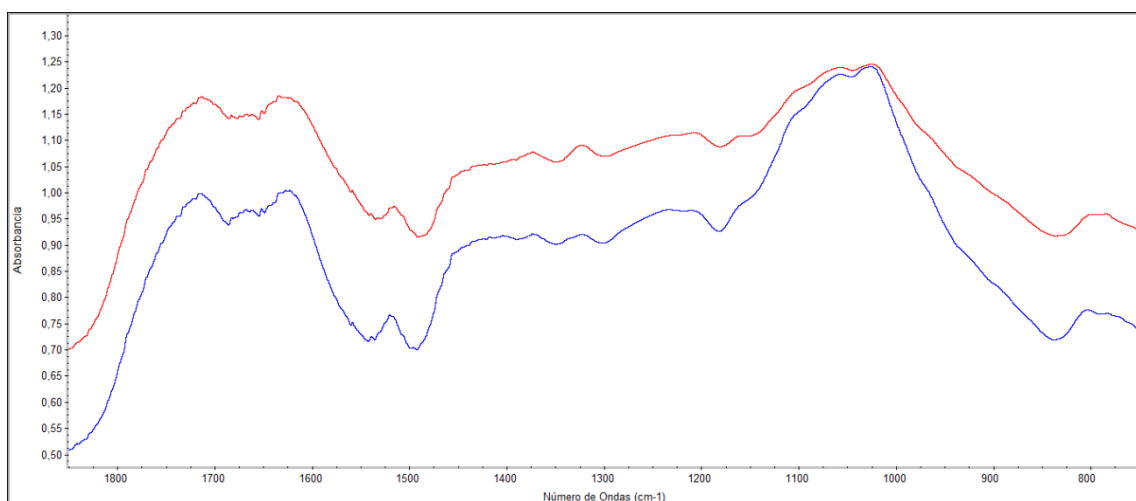


Figura 28. Huella dactilar de los espectros de absorción de las variedades Sandrina (rojo) y Amalia (azul) de Laguna (Valladolid) en 2012, en el MIR.

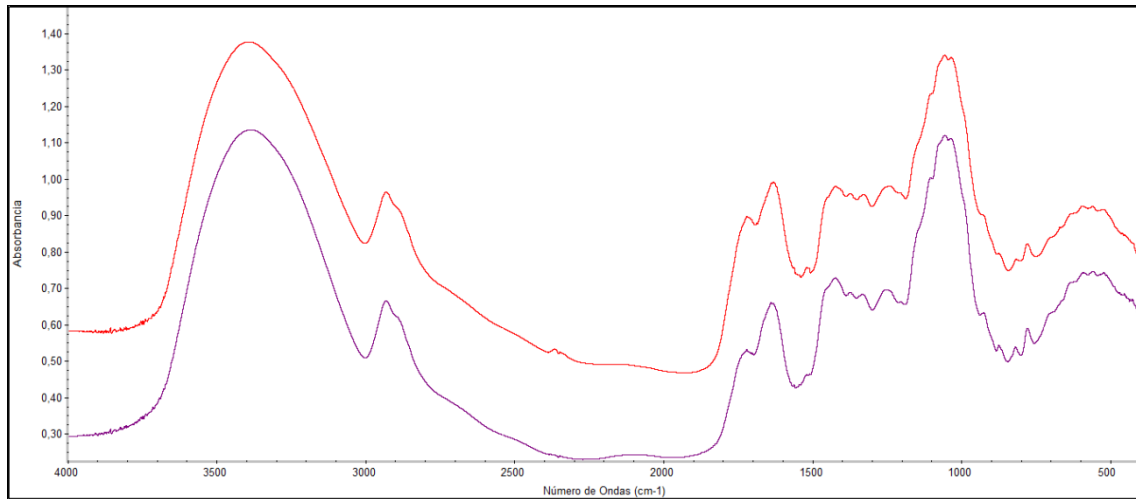


Figura 29. Espectros de absorción de las variedades Sandrina (rojo) y Amalia (azul) de Pampliega (Burgos) en 2012, en el MIR.

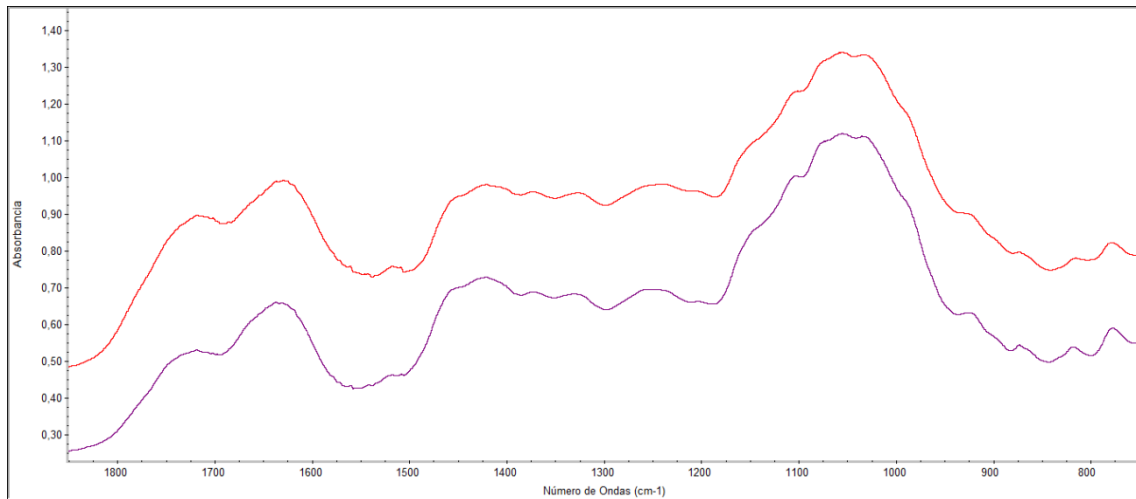


Figura 30. Huella dactilar de los espectros de absorción de las variedades Sandrina (rojo) y Amalia (azul) de Pampliega (Burgos) en 2012, en el MIR.

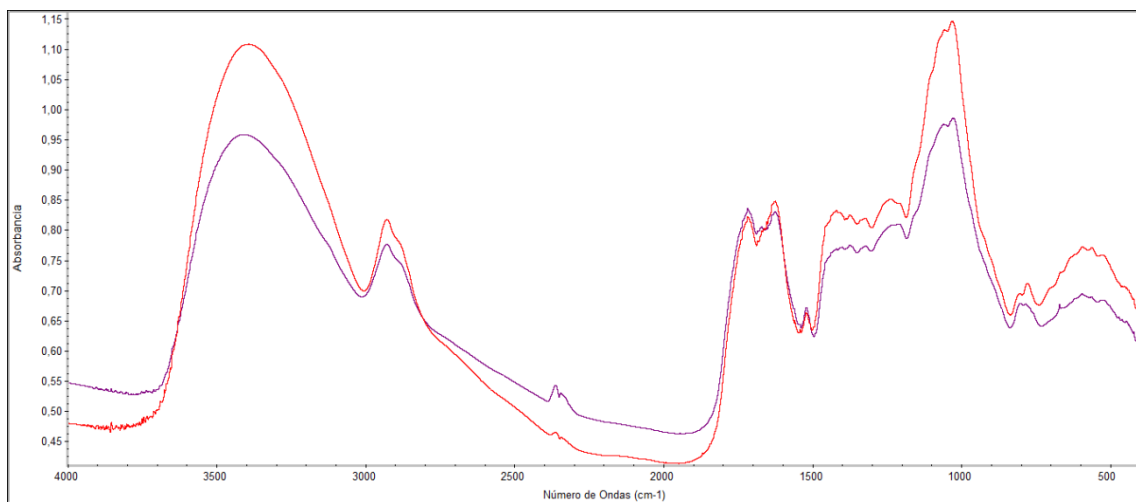


Figura 31. Espectros de absorción de las variedades Sandrina (rojo) y Amalia (azul) de Vertavillo (Palencia) en 2012, en el MIR.

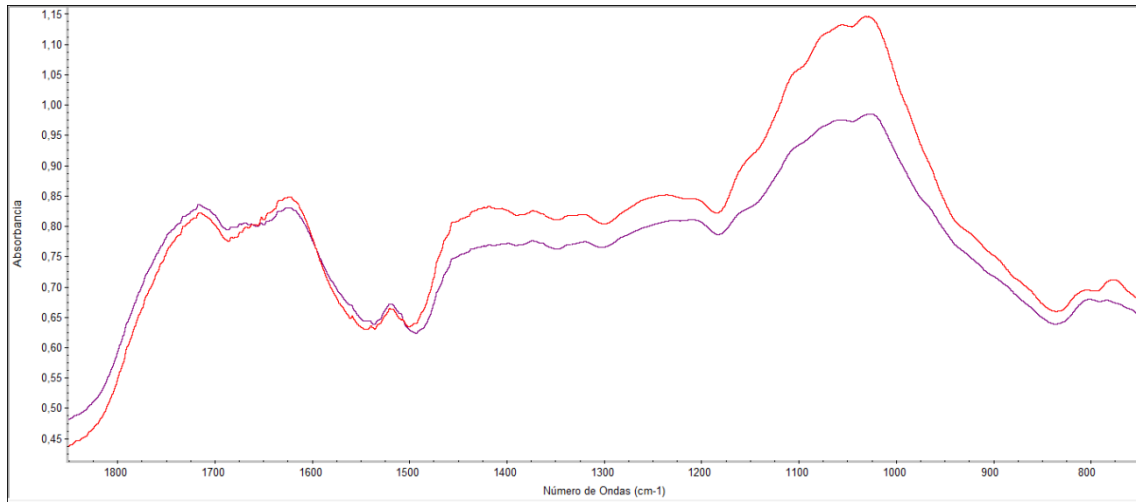


Figura 32. Huella dactilar de los espectros de absorción de las variedades Sandrina (rojo) y Amalia (azul) de Vertavillo (Palencia) en 2012, en el MIR.

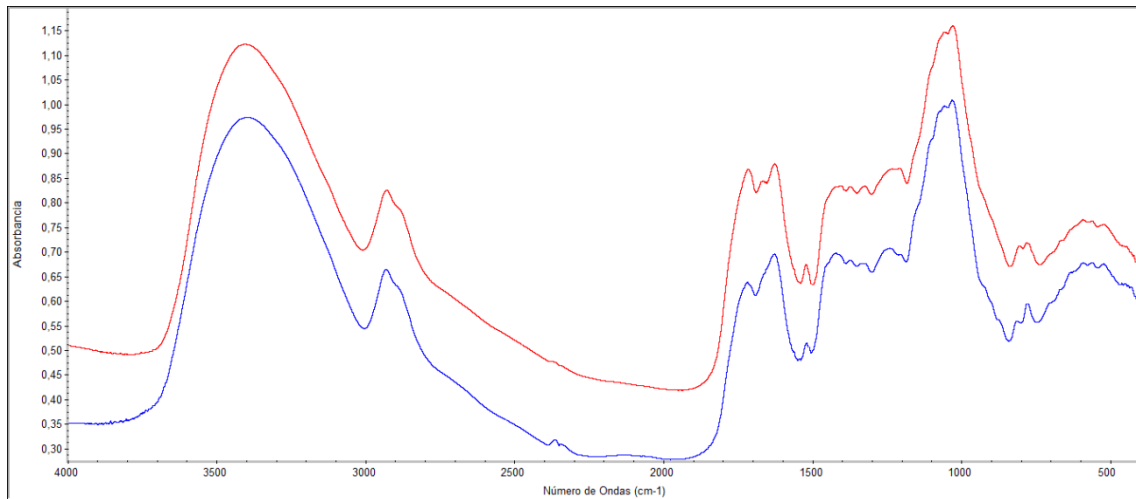


Figura 33. Espectros de absorción de las variedades Sandrina (rojo) y Amalia (azul) de Villavieja (Valladolid) en 2012, en el MIR.

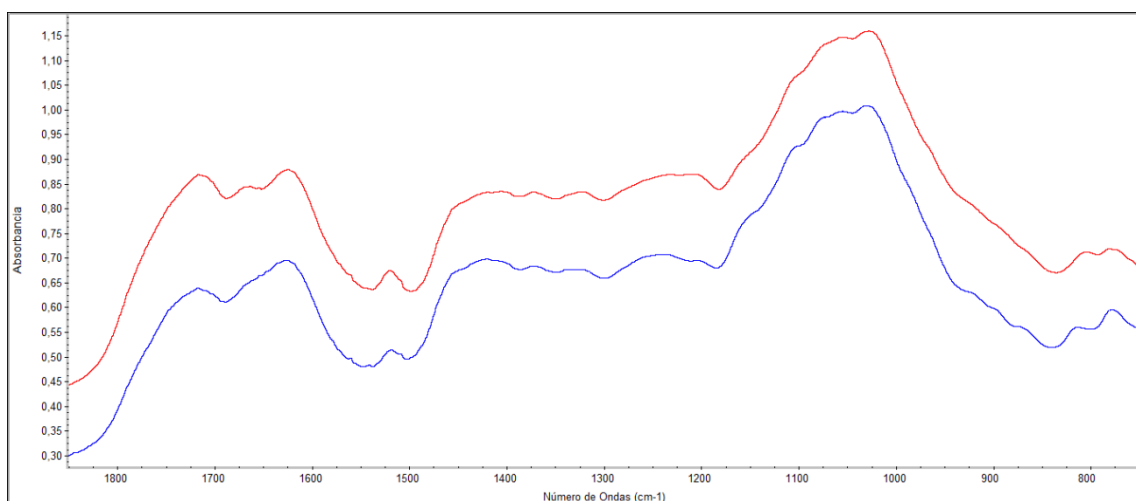


Figura 34. Huella dactilar de los espectros de absorción de las variedades Sandrina (rojo) y Amalia (azul) de Villavieja (Valladolid) en 2012, en el MIR.

ANEXO II. Representación espectral del análisis de vecindad

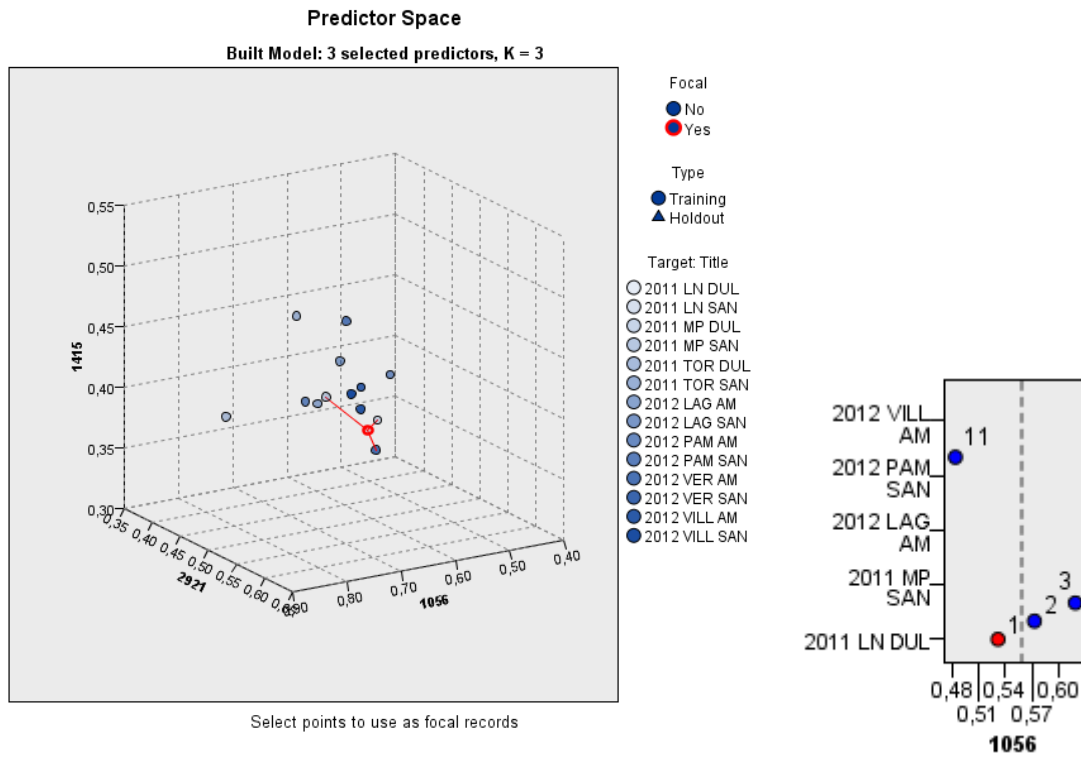


Figura 35. Representación espacial del análisis de distancias mínimas correspondiente al primer elemento codificado: variedad Dulzata de Laguna de Negrillos en 2011.

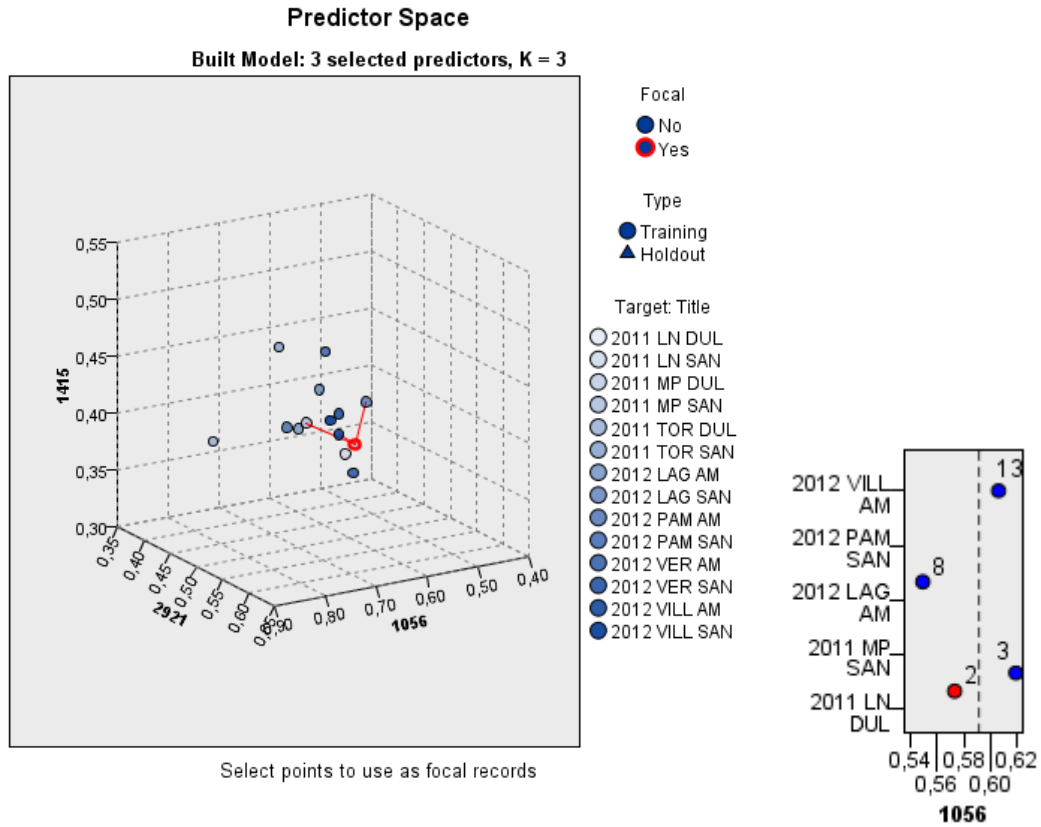


Figura 36. Representación espacial del análisis de distancias mínimas correspondiente al segundo elemento codificado: variedad Sandrina de Laguna de Negrillos en 2011.

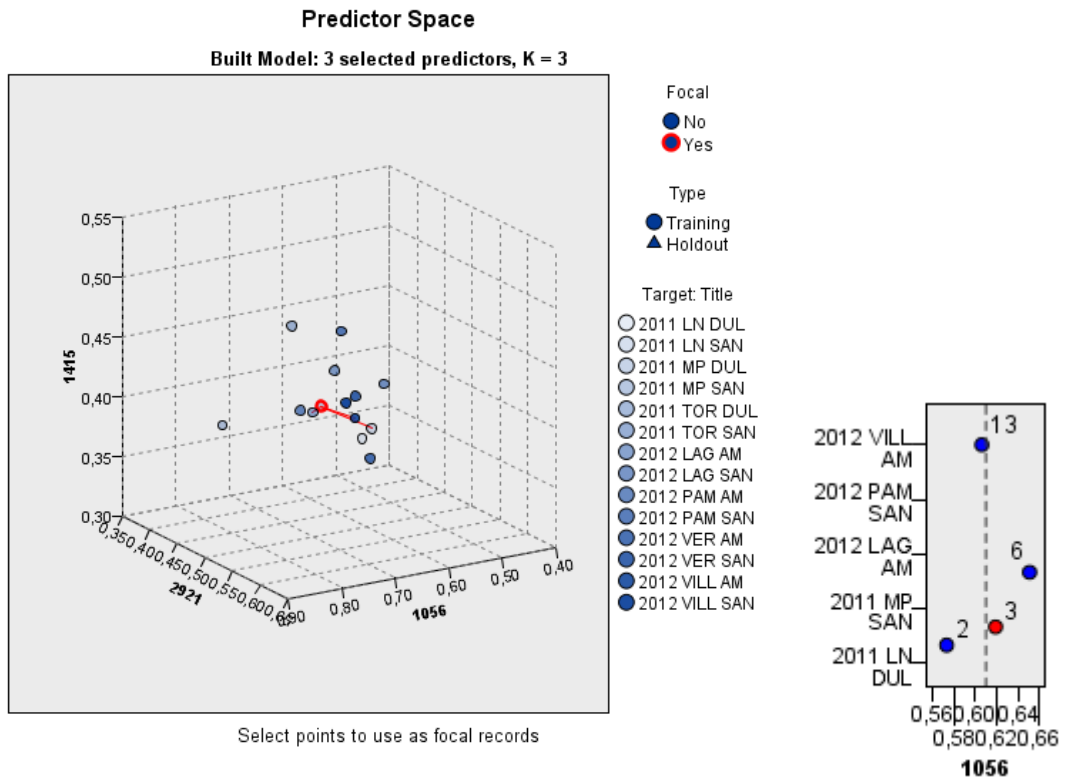


Figura 37. Representación espacial del análisis de distancias mínimas correspondiente al tercer elemento codificado: variedad Dulzata de Magaz de Pisuerga en 2011.

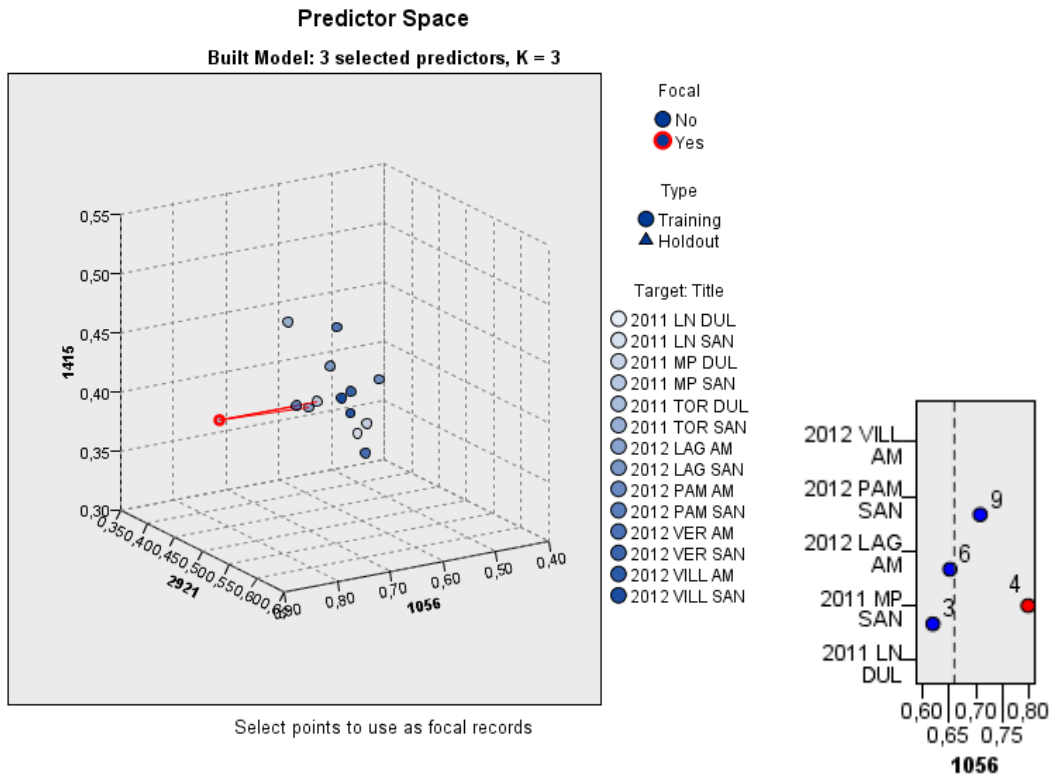


Figura 38. Representación espacial del análisis de distancias mínimas correspondiente al cuarto elemento codificado: variedad Sandrina de Magaz de Pisuerga en 2011.

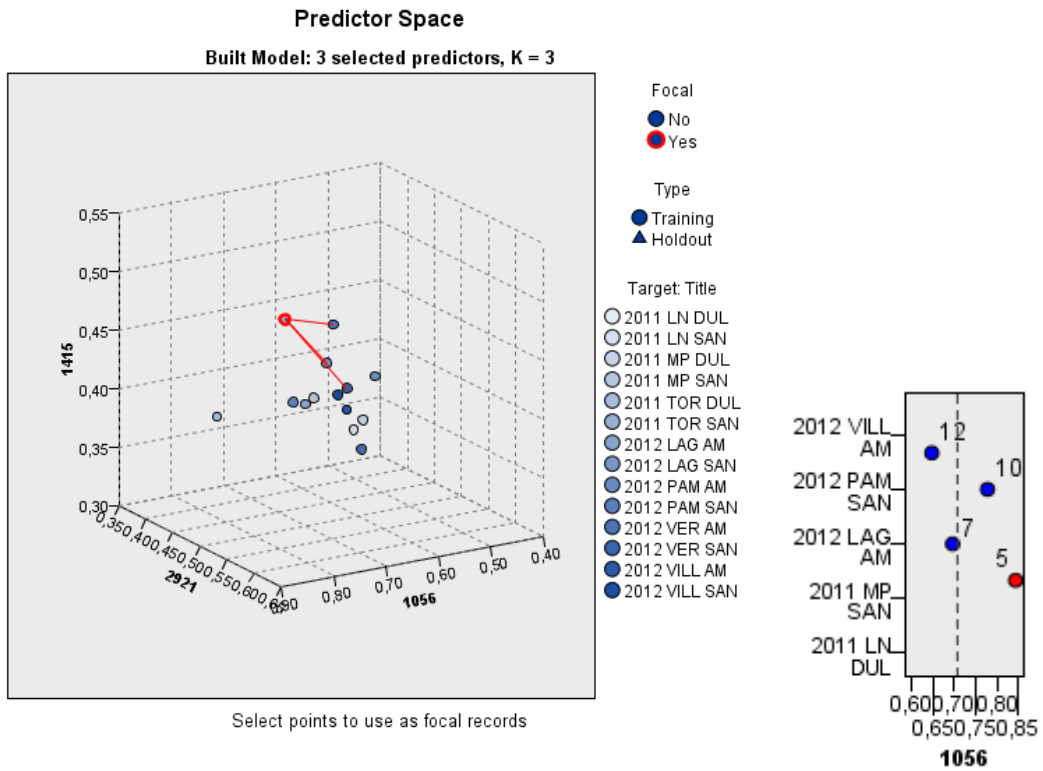


Figura 39. Representación espacial del análisis de distancias mínimas correspondiente al quinto elemento codificado: variedad Dulzata de Tordesillas en 2011.

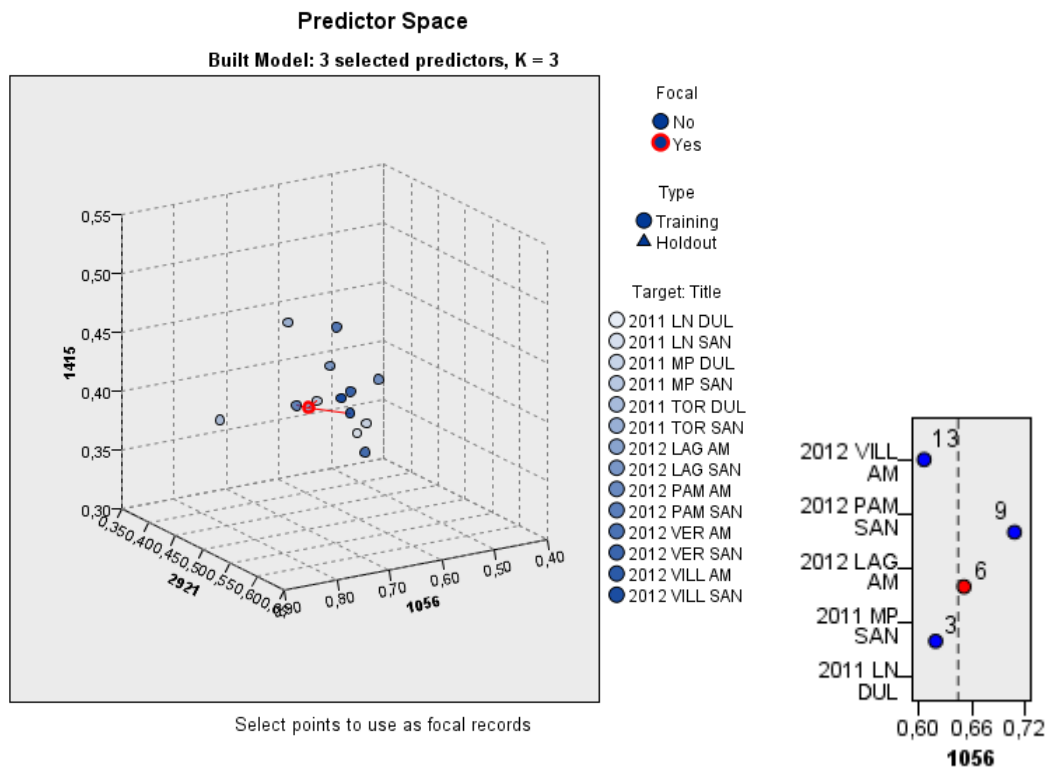


Figura 40. Representación espacial del análisis de distancias mínimas correspondiente al sexto elemento codificado: variedad Sandrina de Tordesillas en 2011.

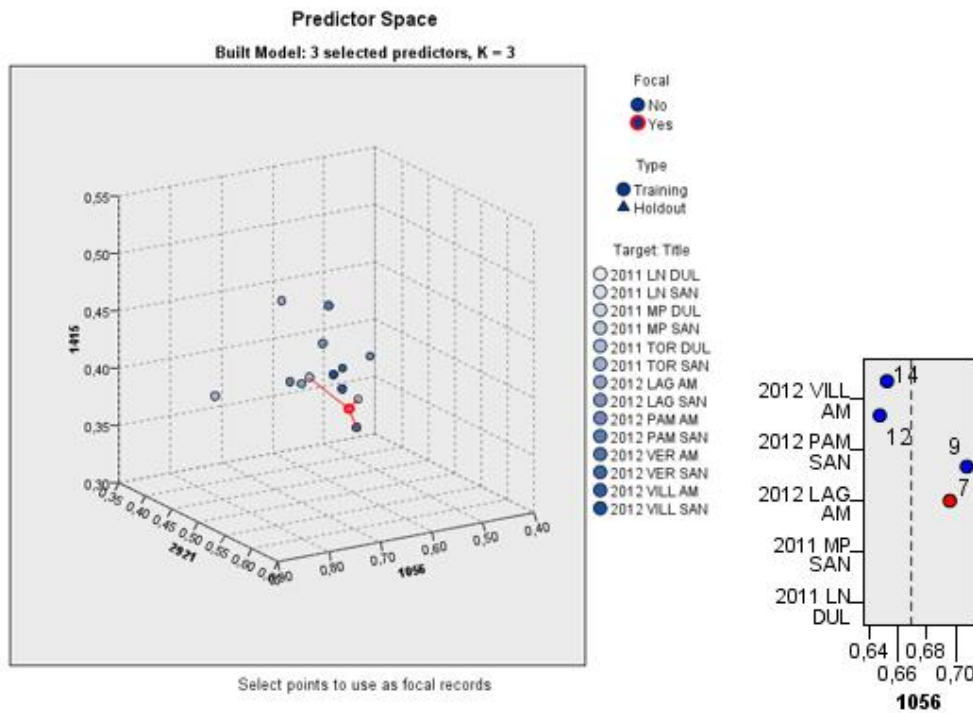


Figura 41. Representación espacial del análisis de distancias mínimas correspondiente al séptimo elemento codificado: variedad Amalia de Laguna en 2012.

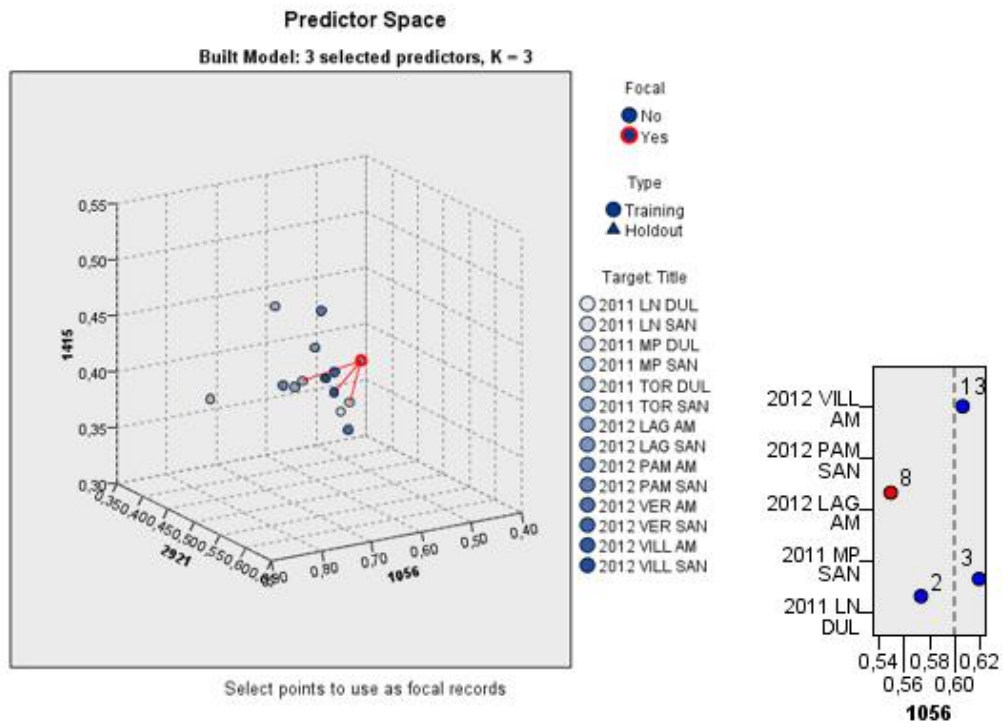


Figura 42. Representación espacial del análisis de distancias mínimas correspondiente al octavo elemento codificado: variedad Sandrina de Laguna en 2012.

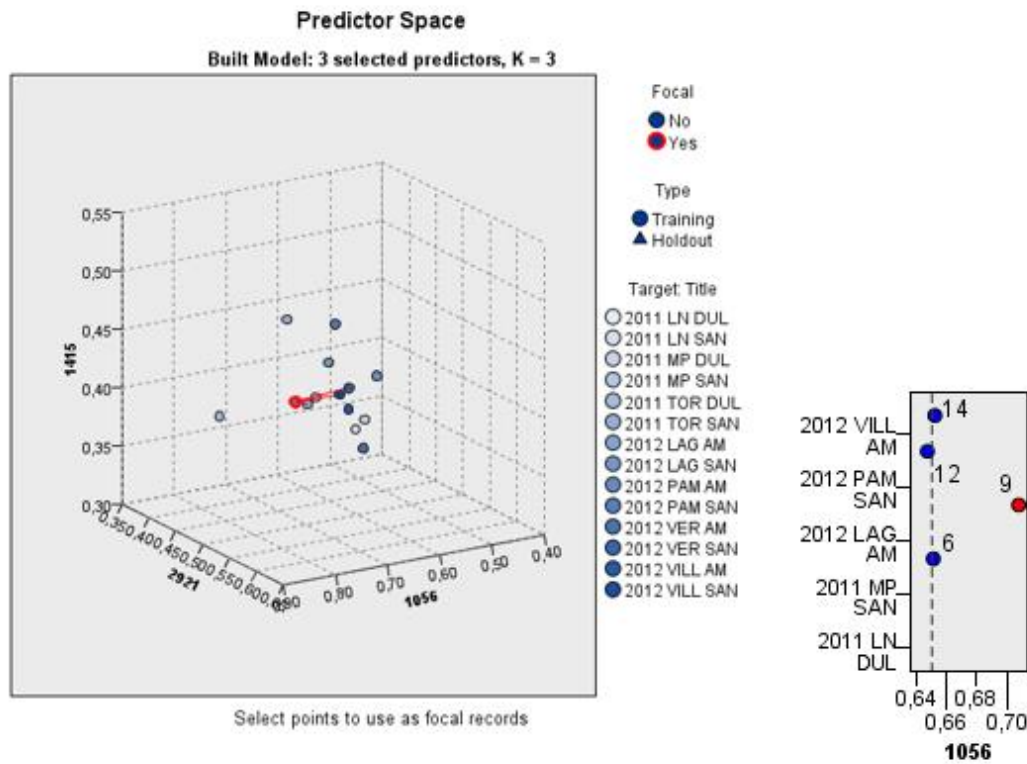


Figura 43. Representación espacial del análisis de distancias mínimas correspondiente al noveno elemento codificado: variedad Amalia de Pampliega en 2012.

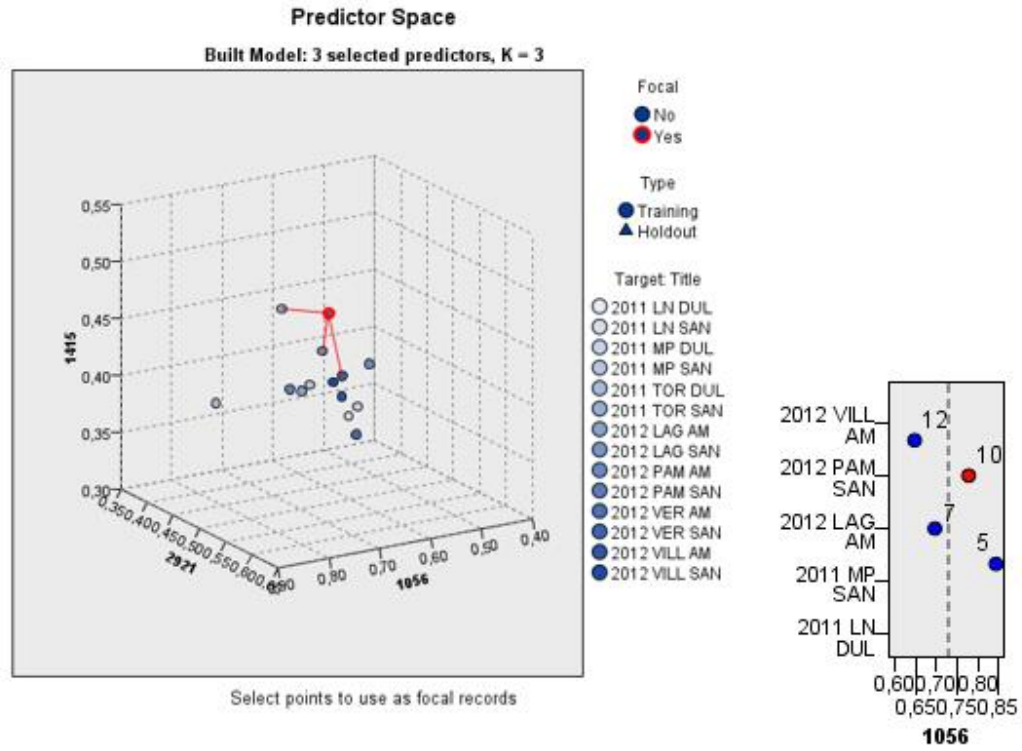


Figura 44. Representación espacial del análisis de distancias mínimas correspondiente al décimo elemento codificado: variedad Sandrina de Pampliega en 2012.

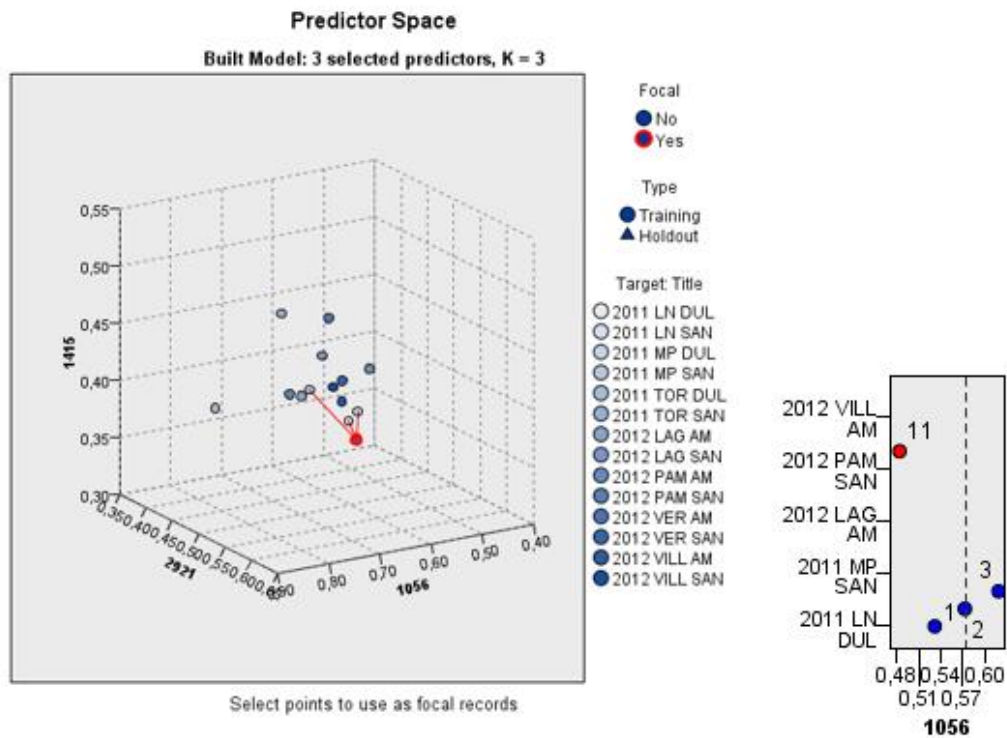


Figura 45. Representación espacial del análisis de distancias mínimas correspondiente al undécimo elemento codificado: variedad Amalia de Vertavillo en 2012.

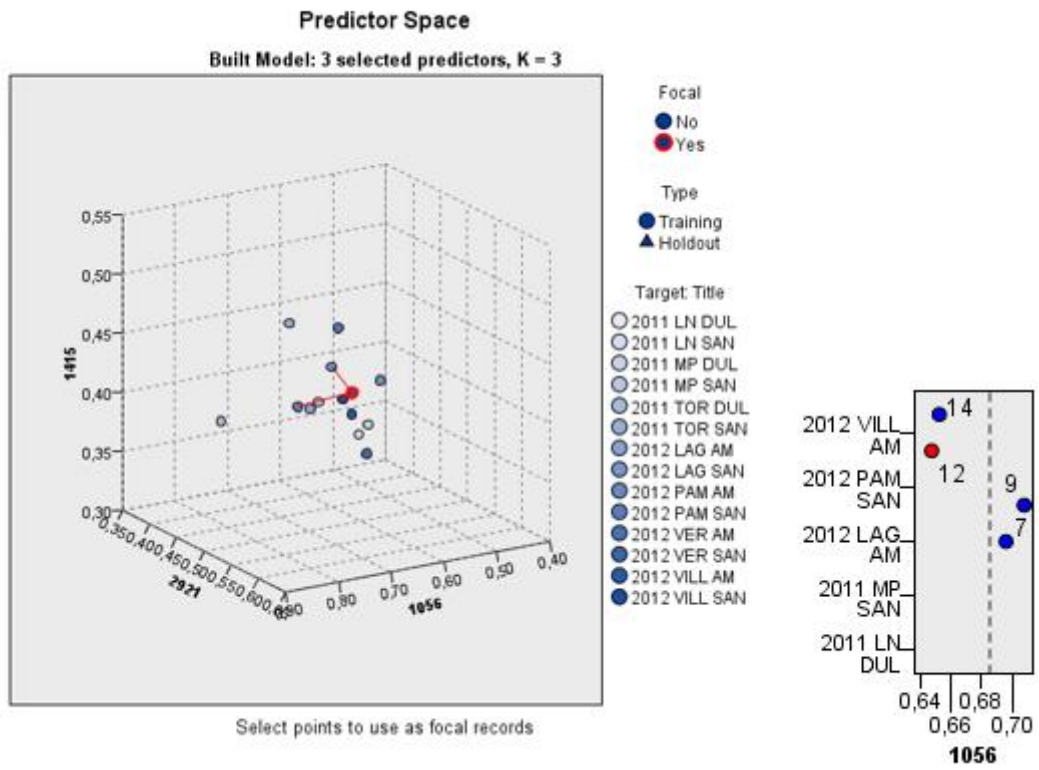


Figura 46. Representación espacial del análisis de distancias mínimas correspondiente al decimosegundo elemento codificado: variedad Sandrina de Vertavillo en 2012.

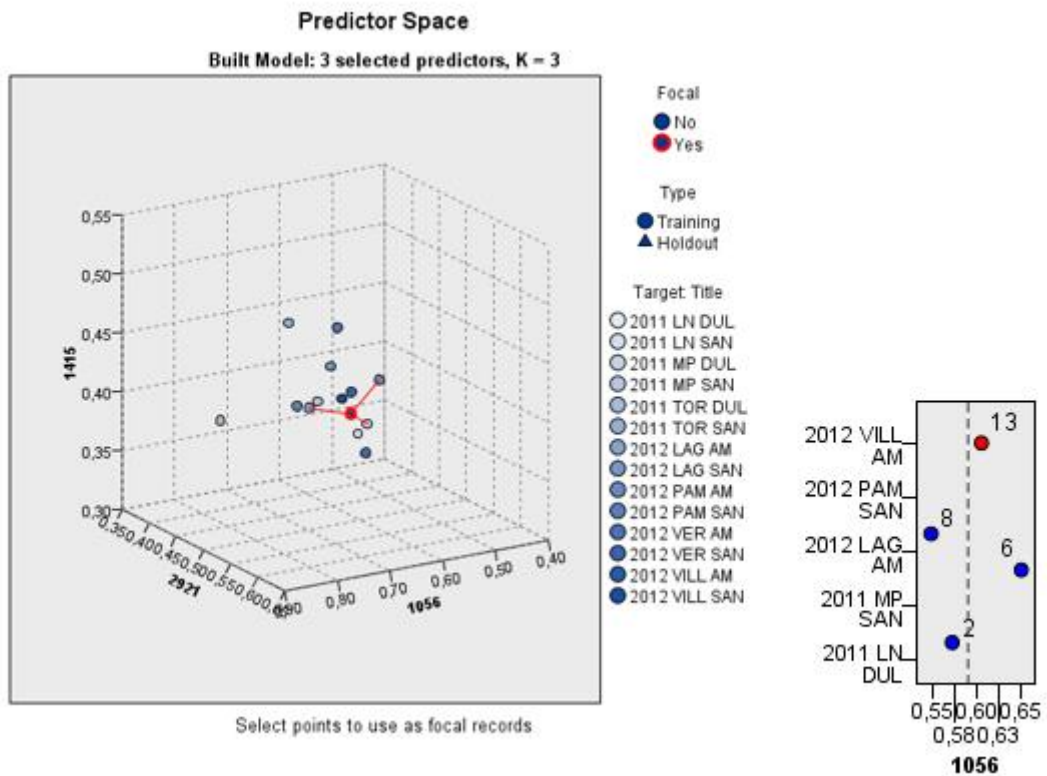


Figura 47. Representación espacial del análisis de distancias mínimas correspondiente al decimotercero elemento codificado: variedad Amalia de Villavieja en 2012.

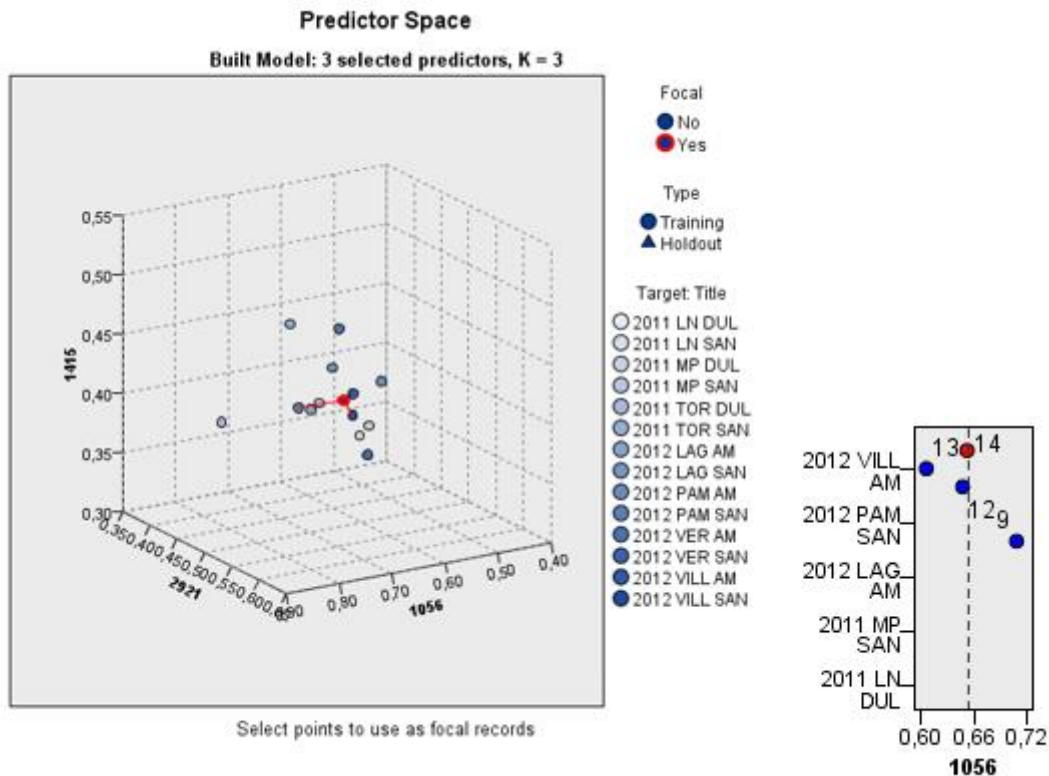


Figura 48. Representación espacial del análisis de distancias mínimas correspondiente al decimocuarto elemento codificado: variedad Sandrina de Villavieja en 2012.

Anexo III- Evaluación de la calidad atmosférica de un monte de matorral tras un incendio.

Carrión-Prieto, Paula y Santos-Malengue, Abílio.

Resumen

La intoxicación por monóxido de carbono es la primera causa de fallecimiento por intoxicación accidental en el mundo. La mala o nula gestión del matorral en los montes aumenta la cantidad de biomasa vegetal en ellos, siendo un factor favorable para la aparición de incendios forestales que provoquen la disminución de la calidad de la atmósfera. El objetivo de este trabajo es evaluar la calidad de la atmósfera tras un incendio, considerando el monóxido de carbono como indicador de su calidad por ser tóxico e incluso letal.

Palabras claves:

Monóxido de carbono, calidad de la atmósfera, matorral, incendio.

Introducción

Los incendios son una de las causas principales de degradación y de las emisiones de carbono de los bosques. Incendios graves y frecuentes producen cambios significativos



en la estructura del bosque, composición de especies y poblaciones de biomasa (Martins et al. 2016). La quema de biomasa ha sido reconocida como una importante fuente de emisiones de gases de efecto invernadero (CO_2 , CO , CH_4 , H_2 , CH_3Cl , NO , HCN , CH_3CN , COS , etc.). El monóxido de carbono (CO) es un gas de efecto invernadero que se emite durante la combustión incompleta de la quema de biomasa (Vadrevu et al. 2013). La intoxicación por este gas es la primera causa de fallecimiento por intoxicación accidental en el mundo y se asocia a una mortalidad y morbilidad considerables (Donati et al. 2005). Tiene una vida atmosférica que comprende desde unas semanas hasta dos meses, debido a la oxidación con radicales OH (Chameides & Walker 1976). Diversos estudios han analizado por satélite la relación del monóxido de carbono proveniente de incendios forestales y la quema de residuos agrícolas, y sugieren claramente que penachos de humo de la quema de residuos agrícolas residen debajo de la PBL (planetary boundary layer) comparada con penachos de humo de los fuegos del bosque (Mishra & Shibata 2012); con una mayor media de FRP (Fire radiative power) que los fuegos de residuos agrícolas; hecho que se explica con la intensidad del fuego de los bosques (más calor, más energía).

Materias y métodos

El área de estudio es un monte de matorral mixto con una cobertura del 100% afectado por un incendio que afectó al 50% de su superficie vegetal. Para cumplir con el objetivo propuesto se utilizan las funciones de transformación de Domingo Gómez Orea de 2002 para la determinación de la calidad de aire mediante el promedio diario de emisión de monóxido de carbono $\mu\text{g}/\text{m}^3$.

Resultados

La evaluación de la calidad del aire se define como cualquier método utilizado para medir, calcular, predecir o estimar las concentraciones de un contaminante en el aire ambiente o su depósito en superficies en un momento determinado (MAGRAMA, 2016). El Real Decreto 102/2011, de 28 de enero, relativo a la mejora de la calidad del aire, indica en el apartado III el valor límite admisible para la salud según distintos contaminantes. (Garantía de calidad de la evaluación de la calidad del aire ambiente y validación de datos).

Tabla 11. Promedio diario de emisión de monóxido de carbono mg/m^3 en España UE y OMS

Organismo	Límite	Tiempo promedio	Normativa	Fuente
España	10 mg/m^3	8 Horas	Real Decreto 102/2011	(Magrama.gob.es, 2016)
UUEE	10 mg/m^3	8 Horas	Directiva 2000/69/CE	(Parlamento et al. 2000)
OMS	10 mg/m^3	8 Horas	Guía de calidad/2005	(Oms 2005)

En el caso estudiado, la calidad de la atmósfera se ha determinado con el nivel de inmisión y no atendiendo a la superficie o la población afectada. El total del área fue 20 ha, 10 han sido afectadas.

❖ 5-100-30 ppb

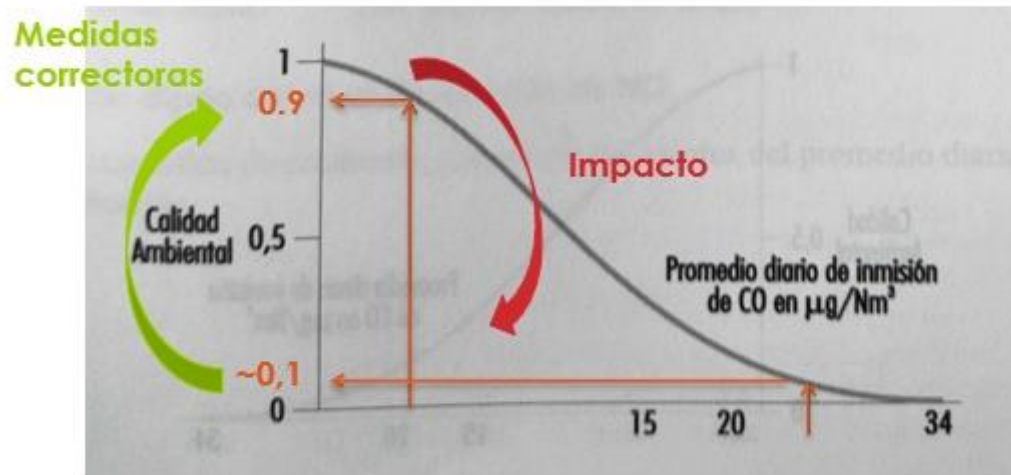


Figura 49. **Función de transformación para la evaluación del impacto ambiental mediante el Promedio diario del nivel de inmisión.**

Medidas correctoras

En cuanto a medidas preventivas y correctoras, la respuesta ante las emergencias se basa en la detección temprana de conatos de incendios y humos; el monitoreo a través de satélites; la vigilancia aérea y terrestre y el pronóstico del clima y la elaboración de modelos atmosféricos basados en la superficie.

En este sentido, es de vital importancia el monitoreo de la calidad del aire, además del cumplimiento de la legislación forestal pertinente para la prevención de incendios forestales con la consiguiente prohibición del uso del fuego con cualquier finalidad en todo el ámbito del Paraje, así como arrojar fósforos, colillas y el uso de cartuchos de caza provistos de tacos de papel.

Una vez ocurrido el incendio, la coordinación local, regional y/o nacional es fundamental, con los vínculos de comunicación necesarios para ello y un correcto mantenimiento de las infraestructuras de prevención y extinción del Plan de Prevención y Extinción de Incendios Forestales.

Como medidas preventivas, destacar la correcta planificación del uso del terreno con un aprovechamiento forestal integral, tanto de su biomasa para la reducción de la carga de material en el monte como la posible comercialización de otros productos forestales no madereros (aceites, semillas, etc.). En este sentido, sería viable la realización de estudios de los efectos socioeconómicos y en la salud para una posible regulación de las actividades permitidas.

Por último, fomentar la toma de conciencia, la educación y la información pública sobre la calidad del aire y de las medidas adoptadas al respecto.

Bibliografía

Chameides, W.L. & Walker, J.C.G., 1976. A time-dependent photochemical model for ozone near the ground. *Journal of Geophysical Research*, 81(3), pp.413–420. Available at: <http://dx.doi.org/10.1029/JC081i003p00413>.



- Donati, S.-Y., Gainnier, M. & Chibane-Donati, O., 2005. Intoxicación por monóxido de carbono. *EMC - Anestesia-Reanimación*, 31(2), pp.1–17. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1280470305434672> [Accessed March 29, 2016].
- Gómez Orea, D. (2002). *Evaluación de impacto ambiental*. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa.
- Martins, F. da S.R.V. et al., 2016. Sensitivity of ALOS/PALSAR imagery to forest degradation by fire in northern Amazon. *International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation*, 49, pp.163–174. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0303243416300204> [Accessed April 4, 2016].
- Mishra, A.K. & Shibata, T., 2012. Climatological aspects of seasonal variation of aerosol vertical distribution over central Indo-Gangetic belt (IGB) inferred by the spaceborne lidar CALIOP. *Atmospheric Environment*, 46, pp.365–375. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1352231011010156> [Accessed April 26, 2016].
- Oms, 2005. Guías de calidad del aire de la OM S relativas al material particulado, el ozono, el dióxido de nitrógeno y el dióxido de azufre. Actualización mundial 2005. , p.25. Available at: http://www.who.int/phe/health_topics/outdoorair/outdoorair_aqg/es/.
- Parlamento, E.L. et al., 2000. Noviembre De 2000 Sobre Los Valores Límite Para El Benceno Y El Monóxido De Carbono En El Aire Ambiente. , 4, pp.12–21.
- Vadrevu, K.P., Giglio, L. & Justice, C., 2013. Satellite based analysis of fire–carbon monoxide relationships from forest and agricultural residue burning (2003–2011). *Atmospheric Environment*, 64, pp.179–191. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1352231012009260> [Accessed May 21, 2016].