

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICAS

**DETERMINACIÓN DE MANGANESO POR ESPECTROMETRÍA DE
ABSORCIÓN ATÓMICA EN ALIMENTOS BALANCEADOS PARA AVES**

**DISERTACIÓN PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE LICENCIADA EN
CIENCIAS QUÍMICAS, MENCIÓN EN QUÍMICA ANALÍTICA**

RAQUEL ANABELLI ARMIJOS MONTESINOS

Quito, 2011



Pontificia Universidad Católica del Ecuador
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Secretaría

Yo, Marcelo Parreño C., Director de la Disertación, CERTIFICO: Que la señorita Raquel Armijos Montesinos ha realizado la investigación sobre el tema: “Determinación de manganeso por espectrometría de absorción atómica en alimentos balanceados para aves” de acuerdo a las normas y técnicas establecidas. Una vez concluido y revisado el trabajo, conforme con las disposiciones reglamentarias, autorizo la presentación del informe respectivo.

Fecha: 26 de septiembre de 2011

f).....

DIRECTOR

Form. 04-FCEN

ESTE TRABAJO SE REALIZÓ EN EL LABORATORIO QUÍMICO DE LA EMPRESA
PRONACA - PUEMBO

DEDICATORIA

A Dios por todos sus consentimientos y consuelos.

A mis padres, Raquel y Ramiro, por todo su apoyo y paciencia a lo largo de mi camino.

A mis hermanos, Dani y Omar, por llegar a mi vida como una gran bendición y ser la mayor expresión de aliento.

A mi abuelito por su cariño que me dio desde niña.

A mi abuelita porque a pesar de su partida sigue siendo un ejemplo para mí.

A mis tíos por su entrega desinteresada.

A mi Gaby S., Andre C. por ser tan incondicionales en estos años.

A mis amigos y a mis niñas por ser el pilar donde me apoyé, tomé impulso y seguí adelante.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a las personas que me brindaron su apoyo a lo largo de la realización del presente trabajo de disertación:

Al Ing. Marcelo Parreño C., quien gracias a sus enseñanzas, dedicación y consejos supo guiarme para culminar este trabajo de investigación con éxito.

A la Escuela de Ciencias Químicas de la Pontificia Universidad Católica, y a todos los profesores, por los conocimientos intelectuales, éticos y morales que sembraron en mí a lo largo de la carrera.

A la empresa PRONACA y a todo el personal que hace parte del Departamento de Aseguramiento de la Calidad y Nutrición de esta empresa, por haberme apoyado y colaborado incondicionalmente para desarrollar este proyecto.

TABLA DE CONTENIDOS

CERTIFICACIÓN	i.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	iv
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUCCIÓN	3
1.1. ALIMENTOS BALANCEADOS	6
1.1.1. Calidad de los alimentos balanceados	7
1.1.2. Formulación de los alimentos balanceados para aves	7
1.2. IMPORTANCIA DE LA UNIFORMIDAD DE LA DIETA Y SU EFECTO SOBRE EL RENDIMIENTO ANIMAL	13
1.2.1. Importancia del mezclado	14
1.2.2. Tipos de mezcladoras	16
1.2.3. Propiedades de los ingredientes	17
1.2.4. Factores que afectan la eficiencia de los mezcladores	18
1.2.5. Pruebas de mezclado utilizadas en la industria avícola	19
1.2.6. Determinación de la homogeneidad de mezclado por medio de evaluaciones estadísticas	21
1.3. MANGANESO	23
1.3.1. Importancia del manganeso en la nutrición animal	24
1.3.2. Perosis aviar	26

1.3.3	Determinación de manganeso	27
1.4.	ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA	28
1.4.1.	Ley de Lambert- Beer	28
1.5.	OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO	31
1.5.1.	Parámetros considerados para la optimización de un método analítico	31
1.6.	MATERIAL DE REFERENCIA- PROGRAMA DE INTERCOMPARACIÓN AAFCO	34
2.	PARTE EXPERIMENTAL	35
2.1.	MUESTREO	34
2.2.	PREPARACIÓN DE LA MUESTRA	36
2.3.	MATERIALES	37
2.4.	EQUIPOS	38
2.5.	REACTIVOS Y SOLUCIONES	38
2.6.	MUESTRAS DE REFERENCIAS	38
2.7.	CONDICIONES INSTRUMENTALES	39
2.8.	MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DE MANGANESO POR ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA	39
2.9.	DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE OPTIMIZACIÓN	40
		42

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
3.1 RESULTADOS DEL PROCESO DE OPTIMIZACIÓN	42
3.1.1. Determinación de la sensibilidad	42
3.1.2. Determinación del rango lineal instrumental	43
3.1.3. Determinación de la exactitud	47
3.1.4. Determinación de la precisión	54
3.1.5. Determinación del límite de detección instrumental	55
3.1.6. Determinación del límite de cuantificación instrumental	59
3.1.7. Reproducibilidad	61
3.1.8. Análisis de muestras	62
3.1.9. Resumen de optimización del método	66
	67
4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	
4.1 CONCLUSIONES	67
4.2 RECOMENDACIONES	69
5. BIBLIOGRAFIA	70
6. ANEXOS	75

LISTA DE TABLAS

Tabla N°1: Requisitos bromatológicos según la edad de las aves de corral.	9
Tabla N°2: Ingredientes utilizados en la fabricación de alimentos balanceados	10
Tabla N°3: Composición química de las materias primas utilizadas en la formulación de alimentos para broilers 6-8 semanas.	12
Tabla N°4: Interpretación de los resultados según el coeficiente de variación.	21
Tabla N°5: Propiedades químicas del manganeso	23
Tabla N°6: Carta de minerales en la industria avícola	24
Tabla N°7: Nutrientes requeridos en los pollos (%/kg)	25
Tabla N° 8: Relación entre el límite de detección y límite de cuantificación	35
Tabla N°9: Valores de absorbancia para la sensibilidad.	43
Tabla N°10: Valores de absorbancia para la determinación del rango lineal instrumental	44
Tabla N°11: Concentración de manganeso en la muestra de AAFCO 0731 All purpose cattle mineral, medicated	48
Tabla N°12: Concentración de manganeso en la muestra de AAFCO 0832 Cattle transition mineral, medicated	49
Tabla N°13: Concentración de manganeso en la muestra de AAFCO 0927 Foundation castle mineral, medicated	49
Tabla N°14: Medias reportadas por AAFCO	50

Tabla N°15: Diferencia entre las medias reportadas por AAFCO y las obtenidas en el laboratorio	50
Tabla N°16: Planteamiento para el cálculo del Coeficiente de Pearson	51
Tabla N°17: Datos utilizados en el cálculo del estadístico t.	53
Tabla N°18: Prueba t para medias de dos muestras	53
Tabla N°19: Precisión del método para manganeso	55
Tabla N°20: Datos para el cálculo del límite de detección instrumental	57
Tabla N°21: Datos para el cálculo del límite de cuantificación instrumental	59
Tabla N°22: Resultados de concentración comparativos entre 2 laboratorios con sus respectivos porcentajes de recuperación para las muestras de AAFCO.	61
Tabla N°23: Resultados de concentración comparativos entre 2 laboratorios con sus respectivos porcentajes de recuperación para las muestras de engorde	62
Tabla N° 24: Listado de muestras utilizadas para el análisis de manganeso	62
Tabla N°25: Resultados de la muestra de la planta de Puenbo	63
Tabla N°26: Resultados de la muestra de la planta de Quevedo	64
Tabla N°27: Resultados de la muestra de la planta de Durán	65
Tabla N°28: Resumen de la optimización del método	66

LISTA DE FIGURAS

Figura N° 1: Pollos con Peroris Aviar	26
Figura N° 2: Diagrama de la absorción de un haz de luz atravesando una cubeta de tamaño l.	28
Figura N° 3: Diagrama de un Espectrofotómetro de Absorción Atómica	29
Figura N° 4: Procesos que tienen lugar durante la atomización	30
Figura N° 5: Ubicación de la plantas de PRONACA	35

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico N°1: Linealidad	46
Gráfico N°2: Rango lineal instrumental	47
Gráfico N°3: Determinación del límite de cuantificación instrumental	60

LISTA DE ANEXOS

Anexo N°1: Reportes AAFCO	76
Anexo N°2: Métodos AOAC	81
Anexo N°3: Informe de resultados del Laboratorio Químico de la Universidad Central del Ecuador	84
Anexo N°4: Valores críticos de t de student	89
Anexo N°4: Informe de resultados para homogeneidad de mezclado	91
Anexo N°5: Información sobre el estándar de manganeso	93
Anexo N°6: Análisis de varianza (ANOVA) de las muestras de Puenbo	95
Anexo N°7: Análisis de varianza (ANOVA) de las muestras de Quevedo	100
Anexo N°8: Análisis de varianza (ANOVA) de las muestras de Durán	104

ABREVIATURAS

AAFCO: Association of American Feed Control Officials

AOAC: Association of Official Analytical Chemists

CV: Coeficiente de variación

R: Coeficiente de correlación

s: Desviación estándar

\bar{x} : Media

RESUMEN

En el presente trabajo de disertación se optimizó un método para la cuantificación de manganeso por espectrometría de absorción atómica con atomizador de llama y detección por fototubo multiplicador en alimentos balanceados para aves producidos en las plantas de PRONACA de Puenbo, Quevedo y Duran.

Dentro de este proceso se diseñó un plan de muestreo para garantizar que las muestras sean representativas de cada lote producido. Para la preparación de las muestras se adaptaron los métodos establecidos por la AOAC (968.08; 965.16 y 950.02.).

Las condiciones instrumentales en el espectrofotómetro de absorción atómica se optimizaron para garantizar la precisión, exactitud, límites de cuantificación y detección, linealidad y reproducibilidad por medio del uso de estándares y muestras de referencia proporcionadas por la Association of American Feed Control Officials, AAFCO. Se trabajó aplicando pruebas estadísticas que permitieron obtener los siguientes resultados: un porcentaje de recuperación de 99%, un límite de detección correspondiente a 0,055 mg/kg, un límite de cuantificación de 0,650mg/kg y un rango lineal de trabajo entre 1 y 50 mg/kg.

Palabras Claves:

AAFCO, alimentos balanceados, absorción atómica, exactitud, precisión, linealidad, límite de detección, límite de cuantificación, manganeso, reproducibilidad.

ABSTRACT

The present research work optimizes a manganese quantification method by atomic absorption spectrometry with a flame atomizer and multiplier phototube in balanced food for chicken, using PRONACA's processed food, in the Puenbo, Quevedo and Durán's factories.

To reach our goal a sample design was devised to warrant that the samples of every lot produced were representative. The analysis conditions were improved in preparing the sample before analysis by atomic absorption, and the methods established by AOAC (968.08; 965.16 and 950.02).

In this process we were able to optimize the instrumental conditions in the atomic absorption spectrometer for ulterior determination of precision, accuracy, quantification and detection limits, linearity and adaptability by using the standards and referential samples provided by the Association of American Feed Control Officials, AAFCO. The treatment of results was performed by statistical tests, among them the means of central tendency, means of dispersion, t test of Student. After the application of the method they gave these results: a percentage recovery of 99%, a detection limit of 0,055 mg/kg, a quantification limit of 0,650 mg/kg, the linear rank recommended to work is 1 mg/kg up to 50mg/kg.

Key Words:

AAFCO, balanced food, atomic absorption, accuracy, precision, linearity, detection limit, quantification limit, manganese, reproducibility.

1. INTRODUCCIÓN

Los alimentos balanceados son mezclas alimenticias que se le suministra a un animal con el propósito de cubrir sus necesidades nutricionales. Desde el punto de vista técnico, constituye una mezcla de ingredientes de origen animal y vegetal, cuya composición nutricional permite proporcionar la cantidad de nutrientes biodisponibles necesarios para cubrir el requerimiento del metabolismo de un animal, en función de su etapa metabólica, edad y peso [1].

Dentro del proceso de producción de los alimentos existe la etapa de mezclado de los ingredientes, que es crítica y debe ser óptima, para que en cada porción el animal esté consumiendo el alimento perfectamente balanceado [2].

De no ser así, se generan procesos de estratificación, dados por los distintos aportes nutricionales de los ingredientes que componen la porción alimenticia, con lo cual el animal ingiere los más apetecibles y deja de lado los elementos que no son de su interés paliativo tales como vitaminas o minerales; entonces se tiene una ración no balanceada que no cumple la función de alimento balanceado [3].

El objetivo principal del proceso de mezclado es producir un alimento equilibrado, en el cual todos los ingredientes estén uniformemente distribuidos, para que el aporte de los nutrientes al animal sea el adecuado y además para que se cumpla con las normas y regulaciones.

Para poder controlar la calidad de la homogenización, se trabaja internacionalmente con el coeficiente de variación (CV) que es una medida de dispersión estadística que se relaciona directamente con la homogeneidad de la mezcla [4].

En la Empresa PRONACA, como productora de alimento balanceado, se busca garantizar un proceso homogéneo de mezclado dada la complejidad de la formulación en los que se incluye nutrientes, vitaminas, elementos metálicos y otros componentes que deberían estar distribuidos homogéneamente. De ahí que el proceso de mezclado es fundamental en la calidad del producto final. Por lo tanto, es preciso establecer una metodología y unos límites máximos de variabilidad en las mezclas que satisfagan las necesidades del cliente [5].

En el caso particular de PRONACA se había estado trabajando con micro-trazadores con partículas de hierro para determinar la eficacia del proceso de mezclado pero, debido a la poca precisión de este método ya que está directamente influenciado por la percepción del analista, se tomó la decisión de utilizar el coeficiente de variación (CV) como parámetro para controlar la homogeneidad de mezcla [6].

Se escogió al manganeso como trazador porque este micro-mineral es necesario para el crecimiento debido a la relación con: la formación de los huesos, el desarrollo de tejidos, la coagulación de la sangre, las funciones de la insulina, la síntesis del colesterol y como activador de varias enzimas.

Considerando las facilidades con las que se cuenta en el laboratorio químico de la Empresa PRONACA, el utilizar manganeso es factible y conveniente para alcanzar los

objetivos industriales y de calidad del producto, la homogeneidad del proceso de mezcla es fundamental en la fabricación, lo que requiere una continua monitorización de esta etapa del proceso en las tres plantas de producción con las que cuenta esta empresa. Se propone emplear un método optimizado para el análisis cuantitativo de manganeso, la técnica que se seleccionó es la espectrometría de absorción atómica de llama, ya que es un método adecuado por la sensibilidad, costos y número de muestras con las que se trabajará.

Buscando satisfacer el criterio de que el control de calidad es un sistema para asegurar el cumplimiento de las normas mediante la inspección periódica del proceso, con el que se espera alcanzar un grado o nivel de excelencia, surge la necesidad de garantizar los resultados del análisis, para lo cual se debe emplear un procedimiento optimizado [7].

Se debe mencionar que la optimización de los métodos analíticos demuestra que dichos métodos cumplen un grupo de requisitos para los cuales fue diseñado. Por otra parte la información que se obtiene sirve de referencia para el monitoreo del ensayo en condiciones de rutina o trabajo diario.

1.1. ALIMENTOS BALANCEADOS

La industria de la formulación de alimentos balanceados mostró su utilidad a finales del siglo pasado. A Blatchford se le atribuye el ser el fundador de la primera compañía de fabricación de alimentos balanceados en Estados Unidos. Antes de 1875 había varias compañías dedicadas a estas labores por lo que se las considera pioneras de la producción actual a nivel mundial [8].

Este tipo de alimentos como lo indica su nombre, si son elaborados de forma correcta, tienen un balance adecuado de proteínas, hidratos de carbono, lípidos, vitaminas y minerales. Su elaboración necesita un proceso de cocción que garantiza un desdoblamiento de los hidratos de carbono y evita la aparición de microorganismos que provocan la fermentación de los cereales.

La crianza de la mayoría de los animales de importancia zootécnica, se ha incrementado fuertemente en los últimos años y se espera que esta tendencia se mantenga en el futuro. Como es de conocimiento general, la carne de los diferentes animales, aves y huevos bien producidos pueden satisfacer la demanda de proteínas para una población humana en constante crecimiento y que debe ser abastecida de estos insumos de carácter nutritivo.

Para producir esa proteína de alta calidad para consumo humano, la industria avícola requiere de una cadena altamente tecnificada que comprende desde granjas reproductoras, incubadoras, fábricas de alimentos balanceados, granjas comerciales, plantas procesadoras hasta empresas distribuidoras de los productos avícolas. En sí, esta cadena busca garantizar

cada uno de los procesos hasta que los productos lleguen, con calidad óptima, al consumidor final [9].

1.1.1. CALIDAD DE LOS ALIMENTOS BALANCEADOS

Como parte del programa del control de la calidad de los alimentos balanceados, se debe llevar un registro continuo de las características de las materias primas y de los productos para lo cual, el análisis juega un papel importante en el establecimiento y mantenimiento de la garantía tanto en la industria como en el reforzamiento de las normas y reglamentos de calidad a nivel nacional e internacional.

En muchos laboratorios de análisis nutricional, la mayor parte del trabajo de rutina se refiere a métodos de análisis y al control de aditivos y contaminantes presentes. Los principales componentes de interés se encuentran en el conocido análisis bromatológico, es decir: humedad, grasa, proteínas, cenizas, fibra y carbohidratos aprovechables y no aprovechables [10].

1.1.2. FORMULACIÓN DE LOS ALIMENTOS BALANCEADOS PARA AVES

La alimentación representa uno de los recursos más importantes en la producción animal. El alimento debe tener las características físicas, químicas y organolépticas adecuadas para la alimentación del ave y debe de estar libre de insectos, plaguicidas, elementos extraños y adulterantes. La eficiencia del alimento y su costo influye grandemente en el éxito del proceso de producción animal. Todo error en la dosificación de raciones, en la exactitud en

la apreciación de las necesidades, contribuye, con el tiempo, a limitar la productividad de los animales aptos para la producción [11].

En este contexto, la formulación del alimento debe entenderse como el ajuste de las cantidades de los ingredientes que conformarán la ración, los nutrientes que estén contenidos por unidad de peso o como porcentaje de la materia seca, corresponden a los requerimientos del animal por alimentar. Así, el cálculo de raciones balanceadas obedece a varias razones; entre estas se pueden mencionar las siguientes [12]:

- Sólo con raciones balanceadas se puede lograr producciones acordes con el potencial genético de los animales.
- Sólo con una alimentación adecuada se puede incrementar las producciones económicas. Esto obedece a que la alimentación representa el mayor porcentaje de los costos totales de producción.
- Sólo con animales bien alimentados se aprovechan en su totalidad las mejoras genéticas y sanitarias.

Para iniciar un programa de formulación de raciones se requiere de información básica que se debe contemplar tales como:

- Necesidades nutricionales del animal, materias primas.
- Tipo de ración y consumo esperado de alimentos.

Estos aspectos deben ser considerados para alimentar a los animales, siendo indispensable completar las raciones alimenticias diarias con las bases como: proteínas, vitaminas, etc., todo esto correctamente balanceado y de acuerdo con las etapas de su desarrollo y producción. Por ejemplo, los alimentos para aves de postura deben cumplir con los requisitos que se detallan en la tabla N° 1 establecida en Norma INEN 1830 [13].

Tabla N°1: Requisitos bromatológicos según la edad de las aves de corral [13]:

Requisitos	Unidad	Iniciador		Crecimiento		Postura		Método de Ensayo
		Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.	
Humedad	%	-	13	-	13	-	13	INEN 540
Proteína Cruda	%	19	-	16	-	16	-	INEN 543
Fibra cruda	%	-	6	-	7	-	7	INEN 542
Grasa cruda	%	3	-	3	-	3	-	INEN 541
Cenizas	%	-	8	-	8	-	10	INEN 544
Calcio	%	1	-	1	-	3,50	-	INEN 546
Manganeso	%	55	-	3	-	33		INEN 548
Fosforo Total		0,65	-	0,60		0,60		INEN 547

El proceso de elaboración de alimentos balanceados se enfoca en la combinación exacta de materias primas que generen un producto equilibrado en todos sus nutrientes, para lo cual la empresa cuenta con criterios de selección que permitan aceptar o rechazar un proveedor.

En la tabla N°2 se presentan las materias primas más utilizadas en la fabricación de alimentos balanceados.

Tabla N°2: Ingredientes utilizados en la fabricación de alimentos balanceados.

REQUERIMIENTOS	MATERIAS PRIMAS UTILIZADAS
Cereales	Maíz, soya, sorgo
Tortas oleaginosas	Pasta de palmiste
Proteínas de origen animal	Harina de pescado, harina de sangre
Subproductos de molinería	Afrecho de cerveza, residuo de galletería
Aminoácidos	Lisina, Metionina, Treonina, Triptofano, Isoleucina, Leucina, Valina etc.
Micro elementos	Sulfato ferroso, oxido de zinc, sulfato de zinc, oxido de manganeso, sulfato de manganeso, oxido de cobre, sulfato de cobre, sulfato de cobalto, nitrato de amonio, sulfato de amonio, iodato de calcio, bicarbonato de sodio.
Macro elementos	Ceniza de hueso, fosfato bicíclico, fosfato monocálcico, oxido de magnesio, cloruro de magnesio, cloruro de potasio, caliza
Grasa de origen animal	Grasa de pollo o cerdos
Grasa de origen vegetal	Aceite de palma africana

Considerando el valor nutritivo de las materias primas y que las fórmulas son muy variables y dependen de los insumos que se consigan en cada lugar, se trazan los objetivos para la combinación adecuada como se presentan a continuación:

- PREINICIADOR: Proteína 22%; energía metabolizable 2.950 kcal/kg; grasa 4,7 %; fibra 3,8%; calcio 0,95%; fósforo disponible 0,48%.
- INICIADOR: Proteína 20,5%; energía metabolizable 3.125 kcal/kg; grasa 6.87 %; fibra 3.58%; calcio 0,92%; fósforo disponible 0,46%.
- TERMINADOR: Proteína 18%; energía metabolizable 3.180 kcal/kg; grasa 6.54 %; fibra 3.3%; calcio 0,9%; fósforo disponible 0,43%

Las herramientas, con las que cuentan los nutricionistas y los departamentos de control de calidad de las empresas avícolas, son muy variadas y permiten optimizar dietas desde el punto de vista nutricional y económico.

El estudio completo de las materias primas nos permite conocer el aporte nutricional de cada una de ellas, con la finalidad de combinarlas adecuadamente para obtener el alimento equilibrado según la necesidad del productor y de cada una de las granjas.

En la tabla N°3 se presenta el valor nutricional de las diferentes materias primas usadas en la formulación de un tipo de alimento balanceado.

Tabla N°3: Composición química de las materias primas utilizadas en la formulación de alimentos para broilers 6-8 semanas [14].

ALIMENTO	% Proteína Cruda	% Calcio	% Manganeso	% Arginina	% Lisina	% Metionina	% Treonina	% Triptófano
Maíz amarillo	8,80	0,02	0,03	0,40	0,24	0,20	0,40	0,10
Harina de soya	44,00	0,26	0,02	3,10	2,80	0,60	1,80	0,60
Afrecho de trigo	14,80	0,12	0,01	1,07	0,60	0,20	0,48	0,30
Harina de pescado	65,00	4,00	0,00	3,38	4,90	1,90	2,70	0,75

1.2. IMPORTANCIA DE LA UNIFORMIDAD DE LA DIETA Y SU EFECTO SOBRE EL RENDIMIENTO ANIMAL

No se puede hablar de un peso estable en las aves de una granja sin hablar de homogeneidad de la dieta. Recientemente se ha introducido en la práctica de crianza de aves el término "uniformidad", que sirve para medir la calidad nutricional de un lote. Se ha comprobado, mediante ensayos de producción, que más importante que alcanzar un valor alto de peso, es necesario tener datos precisos que se acerquen a un valor promedio.

Se debe garantizar la uniformidad alimenticia de un lote de aves debido a que existe una alta relación entre la calidad alimentaria y el comportamiento de las aves en la etapa de postura, mantener una dieta equilibrada asegura que la mortalidad sea baja en los nacimientos y que el conteo final de la producción sea rentable económicamente. Los lotes de aves deben tener un crecimiento uniforme donde no menos del 80% de los animales registre un peso de 10% de variación con respecto al peso promedio real [24].

Internacionalmente se ha considerado como criterio de análisis estadístico al coeficiente de variación (CV) y se ha establecido que en cuanto a la homogeneidad de mezclado debería ser menor al 10%. Se analizaron estudios que reportan datos de una encuesta que se llevó a cabo con mezcladoras comerciales en las cuales el 50% no cumplen con un CV de menos del 10% cuando se utiliza metionina y lisina como indicadores [25].

Resultados similares fueron reportados cuando se evaluaron mezcladoras empíricas utilizadas en granjas donde solamente el 42% de los lotes tuvieron coeficiente de variación

menores al 10%; el 47% de los productos estaban entre 10% y 20% y a su vez un 11% tenían CV mayores a 20% [26].

Existen muy pocas investigaciones que relacionen el tiempo de mezclado, uniformidad de dieta y segregación de ingredientes con el rendimiento animal. Sin embargo los productores deben reconocer que si los ingredientes de las formulaciones, particularmente los micro-ingredientes como: vitaminas, aminoácidos, elementos trazas y medicamentos, son incorporados de manera inapropiada, la producción del ave se verá afectada adversamente.

Duncan, en su trabajo doctoral, proporcionó un concepto sobre los efectos de la variabilidad nutricional de los ingredientes sobre el rendimiento animal y su control de calidad, con este último, se mostró que el rendimiento de los pollos decreció por la variación de proteína cruda en la dieta.

Existe evidencia que el desequilibrio de nutrientes, debido a su pobre mezclado o segregación, debería de causar efectos similares en el crecimiento de todos los animales consumidores de balanceado en general [27].

1.2.1. IMPORTANCIA DEL MEZCLADO

El mezclado es una de las operaciones más importante en el proceso de fabricación de alimentos, ya que miles de dólares son invertidos para reunir, procesar y almacenar

ingredientes en sistemas de suministros automatizados que sirven para dosificar cantidades exactas de materias primas. Sin embargo si estos diferentes componentes no son mezclados apropiadamente, el sistema de control de calidad va a perder en gran medida su eficiencia.

La dieta tiene que contener los elementos nutritivos para poder soportar el mantenimiento, crecimiento, producción y salud de los animales. Los aditivos como por ejemplo vitaminas y medicamentos, deben estar presentes para garantizar la protección contra enfermedades u otras afecciones. Es por esto, que los niveles deben de ser controlados para evitar deficiencias o toxicidad [28].

Para animales grandes el valor de la homogeneidad de la mezcla no es tan crítico como para animales pequeños, porque los animales grandes consumen mayores cantidades de alimento, como resultado, la probabilidad de consumir la cantidad adecuada de nutrientes se incrementa. Lógicamente, el valor de una mezcla homogénea es más importante para animales jóvenes o pequeños, así como para animales con un tracto digestivo corto [29].

Durante la elaboración de los alimentos, varios factores pueden crear o contribuir a un mezclado incompleto. Algunos de éstos incluyen el tipo de mezcladora seleccionada y su configuración, las propiedades físicas de los ingredientes usados en la formulación, y parámetros inadecuados en la operación de mezclado.

Estos parámetros operacionales, que causan tiempos insuficientes de mezclado, incluyen partes del equipo desgastadas o sucias, sobrellenado y velocidades de mezclados incorrectas.

1.2.2. TIPOS DE MEZCLADORAS

Existen 3 tipos básicos de mezcladoras usadas en la manufactura de alimentos las cuales son: horizontales, verticales y continuas. Conociendo las ventajas y las limitaciones de cada una de éstas, se puede facilitar la selección de la más idónea para un tipo específico de operación en la elaboración de alimento. En Pronaca se trabaja con la máquina horizontal.

La mezcladora horizontal es el tipo de equipo más comúnmente usado. Esta mezcladora está equipada con listones espirales derechos e izquierdos que conducen el material de un extremo al otro mientras está cayendo en la mezcladora. Otros diseños incluyen las mezcladoras de paletas las mismas que reemplazan a los listones. Al utilizar paletas, un mayor porcentaje de líquidos puede ser agregado a los ingredientes en la mezcladora [30].

Las mezcladoras horizontales son frecuentemente equipadas con una abertura de descarga múltiple o con un fondo que se abre a lo largo de la base de la mezcladora. Estas aperturas facilitan el vaciado rápido y completo [31].

1.2.3. PROPIEDADES FÍSICAS DE LOS INGREDIENTES

Si los ingredientes son homogéneos físicamente, entonces el proceso de mezclado es bastante sencillo, pero en la realidad estas propiedades son muy variables, lo cual obliga a controlar las variables y lograr mayores rendimientos. Las características más importantes son: el tamaño y la forma de la partícula, densidad, higroscopicidad, carga estática y adhesividad.

El tamaño de partícula es quizás el factor más importante de los parámetros asociados a ingredientes, ya que diferentes magnitudes pueden producir segregación de las propiedades mecánicas en especial el flujo del material, el ángulo de reposo, percolación, ascensos debido a la vibración y decantamiento [32].

Existe una relación entre el tamaño y el número de partículas, cuando cierto volumen o peso es constante, el número de partículas aumenta a medida que el tamaño disminuye, esta relación promueve la uniformidad.

Partículas densas tienden a segregarse o depositarse en el fondo de las tolvas. Las cargas electrostáticas también producen segregación ya que las partículas pueden cargarse de electricidad durante el proceso de mezclado mediante el contacto con otras partículas o partes del mezclador.

Un significativo secuestro de humedad por parte de un ingrediente, puede provocar cambios en las propiedades físicas, tales como: empastamiento o grumos, reducción del número de partículas, aumento del tamaño de la partícula y densidad. Esto puede afectar fuertemente la habilidad de un ingrediente para distribuirse y mezclarse.

1.2.4. FACTORES QUE AFECTAN LA EFICACIA DE LOS MEZCLADORES

Algunos factores como la insuficiencia en el tiempo de mezclado, el llenado más allá de capacidad recomendada, equipo o piezas rotas, alteradas o desgastadas y limpieza pueden afectar el desempeño de los mezcladores, a continuación se detalla cada uno de ellos:

- El tiempo de mezclado apropiado para producir una homogénea distribución de los ingredientes del lote debe ser determinado para cada mezclador. El tiempo de mezclado está en función del diseño del mezclador y la velocidad rotacional de los listones, paletas o tornillo.
- Entre las variables de fabricación y procesos previos podemos considerar la variación en potencia de los aditivos de la premezcla, los errores en la fórmula y pesaje, las variaciones en la composición de los ingredientes y sus propiedades, las variaciones debido a los equipos y técnicas de producción y las técnicas de muestreo.
- Dentro de las variables analíticas se debe revisar el manejo de las muestras, las variaciones en los reactivos químicos, las variaciones inherentes en el método, equipo, procedimiento y las variaciones que involucran la conversión de medidas [33].

1.2.5. PRUEBAS DE MEZCLADO UTILIZADAS EN LA INDUSTRIA AVÍCOLA

En la práctica es imposible alcanzar una mezcla perfecta. Generalmente el objetivo es producir una mezcla uniforme donde la probabilidad de encontrar una cantidad de un componente en una porción es la misma en todos los demás fragmentos de la mezcla.

Para poder clarificar los requerimientos que ayuden a decidir por un procedimiento de análisis o pruebas en la determinación de la uniformidad, se pueden seguir los siguientes criterios:

- El principio de las pruebas debe de ser basado sobre un ingrediente común, nutriente o químico que esta usualmente en la fórmula o que puede ser adicionado con riesgo mínimo y que provengan de una misma fuente.
- El procedimiento de las pruebas debe ser simple, rápido, preciso, y puede ser llevado a cabo dentro de las condiciones de la empresa y no deben de representar peligro para el personal o animales.
- El reactivo de la prueba debe ser suministrado por un solo proveedor.
- El tamaño de la muestra debe de ser razonable pero lo suficiente para reducir o eliminar el error de muestreo [34].
- El coeficiente de variación puede ser aproximadamente 2 veces la variación analítica de la prueba escogida pero no puede exceder el 10%.
- Los procedimientos estadísticos requeridos deben de ser fácilmente entendibles y ejecutables.

Dentro de los manuales de la empresa se sugiere que 10 muestras por batch permitirán obtener coeficientes de variaciones suficientemente representativos. Las pruebas de mezclado determinan la cantidad de tiempo necesario para obtener una mezcla de ingredientes satisfactoria [35].

Los procedimientos de cuantificación de analitos son relativamente simples e incluyen etapas de muestreo que garantizan que los resultados sean representativos de cada lote producido. Las pruebas de mezclado comúnmente usadas en las empresas que se dedican a los negocios agrícolas son:

Análisis químico.- Los análisis químicos cuantitativos son muy confiables y precisos. Se pueden realizar sobre una variedad de micro-ingredientes, como vitaminas, minerales o aminoácidos. La desventaja de este tipo de análisis es que las rutinas toman demasiado tiempo para poder encontrar resultados de interés inmediato.

Micro-trazadores.- Son partículas generalmente de hierro magnetizadas de diferentes colores y densidades, que cuando son adicionados a una mezcladora, se dispersan dentro de ella y luego son contabilizadas en cada muestra, su desventaja es que el resultado es dependiente de la percepción del analista.

1.2.6. DETERMINACIÓN DE LA HOMOGENEIDAD DE MEZCLADO POR MEDIO DE EVALUACIONES ESTADÍSTICAS

La desviación estándar y el coeficiente de variación (CV) son usados para el análisis de los datos obtenidos luego de una prueba de homogeneidad. Por lo cual, es deseable seleccionar un procedimiento con una buena repetibilidad analítica.

Los resultados estadísticos de las muestras analizadas por medio de técnicas analíticas de cuantificación de micro-trazadores, con un coeficiente de variación de 5 – 10% pueden ser considerados satisfactorios dependiendo del tipo de alimento fabricado. En el boletín MF-1172 de la Universidad Estatal de Kansas de los Estados Unidos se da una interpretación de las pruebas de mezclado que se detallan en la tabla N°4:

Tabla N°4: Interpretación de los resultados según el coeficiente de variación [3].

%COEFICIENTE DE VARIACIÓN	RANGO	ACCIONES CORRECTIVAS
< 10%	Excelente	Ninguna.
10 – 15%	Bueno	Inspección del mezclador.
15 – 20%	Aceptable	Incrementar el tiempo de mezclado, chequear por partes gastadas o usadas, sobre llenado del mezclador, o secuencia de adición de los ingredientes.
> 20%	Pobre	Posible combinación de todos los anteriores, consultar con los fabricantes del equipo.

Las fórmulas estadísticas comúnmente utilizadas para pruebas de mezclado son:

Desviación Estándar

$$\text{Desviación estándar } s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{i=n} (xi - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

$$\text{Promedio } \bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^{i=n} xi}{n}$$

$$\text{Coeficiente de variación } \% (CV) = \frac{s * 100}{x}$$

Todas estas fórmulas son herramientas estadísticas que permiten controlar un proceso, en vista que la homogeneidad es un parámetro que debe ser monitoreado se escoge al manganeso con trazador, basando la selección en los requerimientos detallados en el literal 1.2.5, para cuantificar el coeficiente de variación en algunas producciones. En el siguiente capítulo se detalla las propiedades del manganeso y su importancia en el desarrollo avícola.

1.3. MANGANESO

El manganeso es el décimo segundo elemento más abundante, constituye el 0,10% de la corteza terrestre, tiene propiedades químicas similares a las del hierro, biológicamente sus estados de oxidación más importantes son +2 y +3. Es un metal de transición y pertenece al primer periodo largo de la tabla periódica; se encuentra entre el cromo y el hierro. En la tabla N°5 se pueden observar algunas propiedades del manganeso:

Tabla N°5 Propiedades químicas del manganeso [15]

MANGANESO	
Número atómico	25
Valencia	2,3,4,6,7
Estado de oxidación	+2
Electronegatividad	1,5
Masa atómica (g/mol)	54,938
Densidad (g/mL)	7,43

En sus diversos compuestos, presenta estados de oxidación de +1 hasta de +7 y los más comunes son +2, +4 y +7. Todos los compuestos, excepto los que contienen Mn II, son de colores intensos. Por ejemplo, el permanganato de potasio, KMnO_4 forma soluciones acuosas que son de color rojo púrpura; el manganato de potasio, K_2MnO_4 forma soluciones de color verde intenso [16].

Los compuestos de manganeso tienen muchas aplicaciones en la industria. El dióxido de manganeso se usa como un agente desecante o catalizador en pinturas y barnices y como decolorante en la fabricación de vidrio y en pilas secas. El permanganato de potasio se emplea como blanqueador para decoloración de aceites y como un agente oxidante en química analítica.

1.3.1. IMPORTANCIA DEL MANGANESO EN LA NUTRICIÓN ANIMAL

El manganeso es importante para la buena fertilidad, el desempeño del sistema nervioso central, forma parte de los componentes de los procesos enzimáticos como: fosfatasas óseas, fosfatasas sanguíneas, carboxilasas, arginasas, fosfato transferasas y descarboxilasas [17]. También se incluye en el funcionamiento del sistema respiratorio. En la tabla N°6 se detalla la importancia del manganeso y de otros minerales en la salud animal:

Tabla N°6: Carta de minerales en la industria avícola [8]

Mineral	Función	Síntomas en caso de deficiencia	Fuente práctica del mineral
Calcio	Formación de hueso y de la cáscara de los huevo, circulación de la sangre, acción muscular	Huesos y cáscaras débiles (rickets) disminuyendo rentabilidad.	Residuos óseos de animales marítimos y caliza
Sodio y Potasio	Mantiene el balance electrolítico de los fluidos y actúa como buffer en la regulación de medios ácidos y básicos	La deficiencia de sodio y potasio causa un retraso en el crecimiento, mala condición nerviosa que deriva en un tipo de canibalismo	Sal común y productos de origen animal
Manganeso	Necesario para el desarrollo normal de los huesos y tendones	Debilidad en los tendones o Perosis, producción baja de huevos y de mala calidad	Sulfato u óxido de manganeso

El manganeso es almacenado en el hígado, riñones, huesos, páncreas e hipófisis, su deficiencia provoca desarrollo óseo anormal, piernas arqueadas o deformes, anomalías en fertilidad, no aparece el celo, abortos. En las aves provoca perosis, cabeza retraída, huevos

con cáscara frágil, se agrava por el alto consumo de calcio y fósforo, engrosamiento de articulaciones, crecimiento lento, pérdida del sentido [18].

El manganeso se encuentra principalmente en las semillas, las levaduras y alimentos de origen animal son pobres en este mineral; los alimentos verdes poseen por lo general poca cantidad así como el salvado de arroz y cascarilla de trigo. En cuanto a los alimentos balanceados el manganeso se agrega en estado sólido a manera de sulfato para cubrir el balance entre la necesidad nutricional del ave y el aporte de las materias primas.

En cuanto a toxicidad, el manganeso tiene que ser suministrado en altas concentraciones (> 1000 mg/kg) para tener efectos desfavorables como: problemas de digestión, coagulación sanguínea y muerte. La tabla N°7 muestra el porcentaje de manganeso y otros minerales requerido según la edad del animal:

Tabla N° 7: Nutrientes Requeridos en los pollos (%/kg) [9]

Nutriente	Pollos iniciales 0-8 semanas	Pollos Crecimiento 8-18 semanas	Pollonas	Ponedoras
Calcio%	1,0	1,0	2,75	2,75
Sodio%	0,15	0,15	0,15	0,15
Potasio%	0,2	0,16	+	+
Manganeso%	55	3	3	33
Yodo%	0,35	0,35	0,30	0,30
Magnesio%	500	+	+	+

1.3.2. PEROSIS AVIAR

La Perosis Aviar conocida también como "Debilitamiento del tendón de Aquiles", es producida por diferentes factores, el más predominante es la carencia de manganeso, entre los de menos influencia se tiene: un exceso de calcio y fósforo, deficiencia de colina, zinc, ácido fólico, nicotina, vitamina B₁₂, y de ácido fólico [21]. La figura N°1 muestra el debilitamiento en las patas de las aves:



Fig. 1: Pollos con Perosis Aviar [22]

El síntoma típico de la Perosis es la dificultad para caminar, debida a la distorsión de las patas, seguida de un engrosamiento de las articulaciones tibio-tarsales. En los casos graves, la pata queda girada hacia afuera. A este síntoma se asocia generalmente un mal plumaje y una disminución del desarrollo [23].

Se distingue del raquitismo en que, a diferencia de éste, el esqueleto se desarrolla normalmente y su aplicación es completa y normal. Hay que añadir que los animales afectados son incurables.

1.3.3. DETERMINACIÓN DE MANGANESO

El manganeso se puede determinar cualitativa y cuantitativamente gracias a sus estados de oxidación que le permiten tener colores característicos, con el uso de las reacciones Redox se puede percibir estos cambios colorimétricos y mediante la aplicación de la volumetría determinar la concentración de este analito en una muestra dada.

La técnica que se ocupa en este trabajo es la espectrometría donde los átomos de manganeso en fase de vapor absorben aquellas radiaciones cuyas energías coinciden exactamente con las de sus transiciones electrónicas.

Dado que las líneas de absorción atómica del manganeso son muy estrechas y que las energías de transición son características para este elemento, este método es muy específico y anula el uso de reactivos que eviten las interferencias químicas como es el caso de la cuantificación de otros metales.

Existen métodos espectrométricos que nos permiten determinar este metal de forma cualitativa y cuantitativa, la técnica analítica mas recomendada es la espectrometría de absorción atómica de llama, la misma que se detalla en el siguiente capítulo.

1.4. ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

La espectrometría de absorción atómica es una técnica cuantitativa, selectiva para determinar metales en una muestra. El principio de basa en la cantidad de radiación que absorben los átomos libres que pasan a este estado debido a la excitación producida por una llama que funciona con aire y acetileno. La radiación es incidida por una fuente que comúnmente es una lámpara de cátodo hueco específica para cada metal. La radiación que fue absorbida por los átomos es cuantificable con la aplicación de la ley de Lambert – Beer.

1.4.1. Ley de Lambert- Beer

Esta ley explica que cuando una onda electromagnética incide sobre una sustancia, la fracción de la radiación absorbida, ignorando las pérdidas debidas a reflexiones y disipación, es una función de la concentración de la sustancia en la trayectoria de la luz y del espesor de la muestra, lo que se puede observar claramente en la figura N°2 [36]:

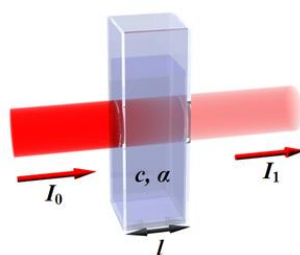


Fig 2: Diagrama de la absorción de un haz de luz atravesando una cubeta de tamaño l .

La ley explica que hay una relación exponencial entre la transmisión de luz a través de una sustancia y la concentración de la misma, así como también entre la transmisión y el

espesor del cuerpo que la luz atraviesa. Si conocemos l y α , la concentración de la sustancia puede ser deducida a partir de la cantidad de luz transmitida. La ley de Beer-Lambert relaciona la intensidad de luz entrante en un medio con la intensidad saliente después de que en dicho medio se produzca absorción.

Para analizar los constituyentes atómicos de una muestra es necesario atomizarla. La muestra debe ser iluminada por la luz. Finalmente, la luz es absorbida y medida por un detector. La figura N°3 muestra un diagrama de una espectrómetro de absorción atómica:

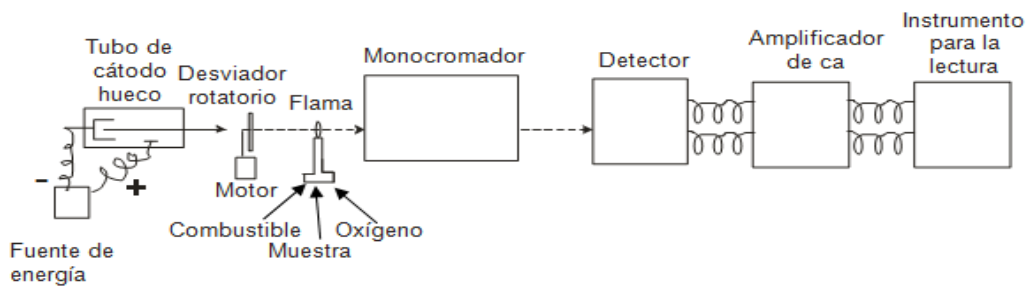


Fig 3: Diagrama de un Espectrofotómetro de Absorción Atómica [36]

En el medio gaseoso a elevada temperatura, los átomos son capaces de absorber radiación de las longitudes de onda características de las transiciones electrónicas del estado fundamental a estados excitados más elevados. De este modo, un espectro de absorción atómico característico consta predominantemente de línea de resonancia, que son el resultado de transiciones del estado fundamental a niveles superiores.

Un haz de luz pasa a través de esta llama en el lado más largo del eje (el eje lateral) e impacta en un detector [37]. En cuanto a la introducción de la una muestra de líquido

normalmente se convierte en gas atómico conforme a los siguientes pasos que se indican en la figura N°4:

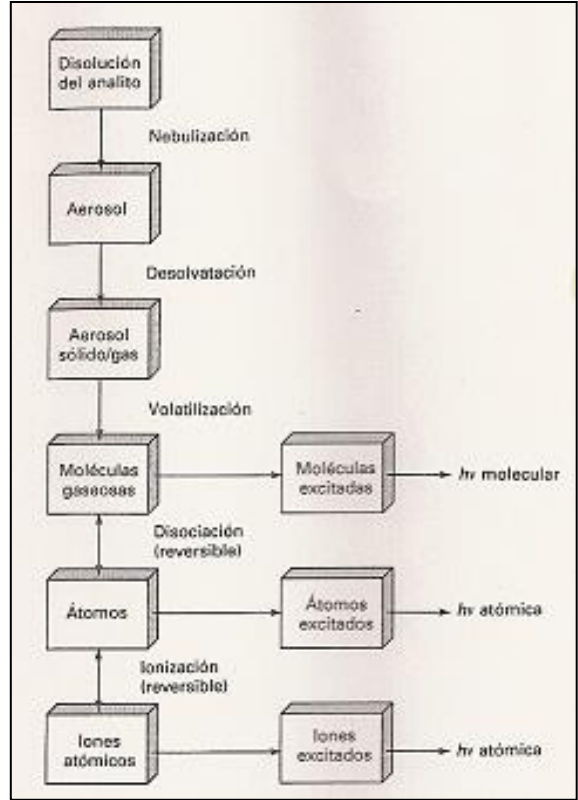


Fig. 4: Procesos que tienen lugar durante la atomización [36]

Finalmente un sistema de detección recibe la energía lumínica proveniente de la muestra y la convierte en una señal eléctrica proporcional a la energía recibida. La señal eléctrica puede ser procesada y amplificada, para que pueda interpretarse a través del sistema de lectura [39].

Como toda técnica analítica de cuantificación, la determinación de un analito por espectrometría de absorción atómica, requiere de un método optimizado que considere variables estadísticas que se detallan en el siguiente capítulo.

1.5. OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

La optimización de un método es un procedimiento para establecer por medio de estudios de laboratorio una base de datos que demuestren científicamente que un método analítico tiene las características de desempeño que son adecuadas para cumplir los requerimientos de las aplicaciones analíticas pretendidas [40].

Implica la demostración de la determinación de las fuentes de variabilidad y del error sistemático y al azar de un procedimiento. La introducción de los métodos de ensayo y de calibración desarrollados por el laboratorio para su propio uso debe ser una actividad planificada y debe ser asignada a personal calificado provisto de los recursos adecuados [41].

1.5.1. PARÁMETROS CONSIDERADOS PARA LA OPTIMIZACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO.

Para realizar una optimización se consideran técnicas estadísticas que nos permiten definir los siguientes parámetros:

Exactitud: Grado de concordancia entre el resultado y un valor de referencia certificado. En ausencia de exactitud se tiene error sistemático, comúnmente en química no se conoce el valor verdadero para lo cual se trabaja con estándares que permitan conocer un dato real con el cual se pueda establecer la comparación [42].

Precisión: Expresa la cercanía de coincidencia o grado de dispersión entre una serie de mediciones obtenidas de múltiples estudios de una misma muestra homogénea bajo condiciones establecidas.

Este parámetro refleja el efecto de los errores aleatorios producidos durante el proceso analítico. La precisión es una medida del grado de reproducibilidad y /o repetibilidad del método analítico bajo condiciones normales de operación [43].

- a) Repetibilidad: Es la precisión de un método analítico, expresado como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizadas por un solo analista, usando los mismos equipos y técnicas.
- b) Reproducibilidad: Es la precisión del método analítico expresada como la concordancia entre determinaciones en dependientes realizadas por diferentes analistas, en días diferentes, en el mismo y/o en diferentes laboratorios utilizando el mismo y/o diferentes equipos [44].

Límite de detección: El límite de detección instrumental se define como la concentración del elemento que producirá un cociente de la señal/ruido de 3. Así, el límite de detección considera la amplitud de la señal y el ruido de la línea de fondo, además la concentración más baja que se puede distinguir claramente a partir del cero.

Límite de cuantificación: El límite instrumental de cuantificación, se puede definir como la cantidad más pequeña de un analito que se pueda cuantificar confiablemente por el

instrumento. Generalmente se acuerda la cuantificación como la señal para una concentración igual a 10 veces la desviación estándar del blanco. Esto se llama el límite de la cuantificación o límite de la determinación, por ello: $LC = 3,3 LD$. En la tabla N°8 se puede observar una relación aceptada entre el límite de cuantificación y el de detección [41]:

Tabla N° 8: Relación entre el límite de detección y límite de cuantificación

	Desviación estándar absoluta
Límite de detección	3σ
Límite de cuantificación	10σ

Sensibilidad: Se define como la concentración analito en solución que cuando se atomiza en el instrumento da lugar a una absorbancia de 0,0044, es decir, una absorción del 1%. Para un analito en particular este valor depende de la línea de resonancia utilizada, paso óptico y eficiencia del atomizador. La concentración característica es una unidad útil, ya que permite el cálculo de las concentraciones de las soluciones patrón [42].

Linealidad: La linealidad de un método analítico es su capacidad para asegurar que los resultados analíticos son proporcionales a la concentración de la sustancia dentro de un rango determinado [44].

1.6. MATERIAL DE REFERENCIA- PROGRAMA DE INTERCOMPARACIÓN AAFCO

La AAFCO (Association of American Feed Control Officials) es un programa de intercomparación de laboratorios que básicamente produce doce muestras especiales de alimento balanceado molido y mezclado [45]. La serie, que comienza en enero de cada año, incluye una variedad de alimentos, suplementos, nutrientes, fármacos, antibióticos, minerales y vitaminas en los niveles que suelen encontrarse en los productos comerciales.

Las muestras son enviadas a los participantes cada mes del año para que las sometan a las pruebas donde se determinaran los analitos de interés para cada laboratorio. Los resultados individuales se presentan utilizando los códigos y reglas especificadas según la AAFCO que permitirán que los resultados reportados sean analizados estadísticamente y se acredite a cada laboratorio un puntaje conforme a su desempeño por analito.

Las calificaciones obtenidas son utilizadas por los laboratorios, la industria y el organismo regulador como parte de sus programas de control de calidad. Los resultados obtenidos en tres muestras que fueron entregadas a PRONACA para la realización de este trabajo de disertación, se encuentran en el Anexo N°1.

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. MUESTREO

Basando este trabajo en los procedimientos establecidos en PRONACA, que fueron elaborados a raíz de un curso de capacitación con respecto a la homogeneidad de mezclado, se decidió tomar 10 muestras de alimento recién preparado, ya que es un número que garantiza la representación integral de un lote. Las muestras fueron tomadas en cada una de las tres plantas productoras de alimento de manera bimensual, es decir en los meses de agosto, octubre, diciembre (2010) y febrero, abril (2011). La figura N°5 indica la localización de las plantas de PRONACA en el Ecuador:

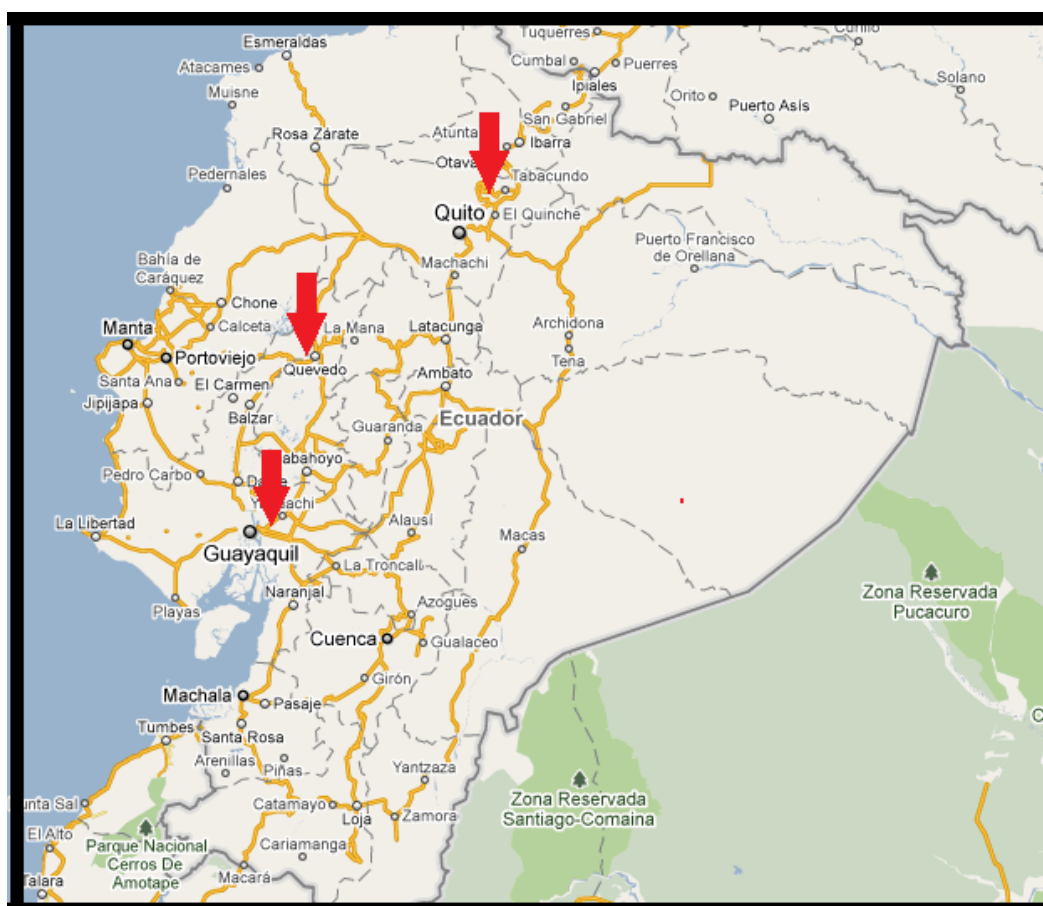


Fig 5: Ubicación de la plantas de Pronaca

Las plantas de producción de alimento balanceado se ubican en Puenbo, Quevedo y Durán las cuales envían las muestras al Laboratorio Químico de Puenbo para el control de la homogeneidad de mezclado.

En cada una de las fábricas antes mencionadas se utiliza el método de la AOAC 965.16 para el muestreo del alimento ya empaquetado, este procedimiento sugiere el uso de un saca-muestras de tubo ranurado sencillo o doble con un extremo en punta. Se coloca la bolsa o saco en forma horizontal y se toma la muestra diagonalmente de un extremo a otro, se tomaron en total 120 muestras a lo largo de los seis meses de seguimiento [46].

Para asegurar que las muestras sean representativas y homogéneas el muestreo cumplió con el concepto de que “el incremento más pequeño del producto, que debe cumplir con una especificación, debe ser el tamaño máximo de la muestra, excepto cuando es inevitable tener un tamaño mayor” [47].

2.2. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Una vez que las muestras llegan al laboratorio químico de la empresa, se las ordena, clasifica y codifica. Luego pasa al proceso de molienda donde se disminuye el tamaño de la muestra y se le hace pasar por una malla de 1mm. La muestra ya lista se divide en dos porciones: la primera se utiliza en el análisis y la segunda es almacenada como muestra testigo para posibles corroboraciones de los análisis.

Las muestras de referencia provistas por AAFCO no requieren del proceso de molienda, ya que están con el tamaño de partícula apropiado y con una homogeneidad garantizada. Para el desarrollo de la parte experimental se ocuparon los siguientes materiales considerando los recursos con los que se contaba en el laboratorio químico de PRONACA:

2.3. MATERIALES:

- Saca-muestras
- Fundas de 1kg
- Etiquetas
- Tamiz de 1mm
- Espátulas
- Crisoles de porcelana de 30mL.
- Vidrios de reloj
- Picetas
- Papel filtro cuantitativo de 0,45 μ m.
- Embudos
- Balones aforados de 25, 50 y 100mL
- Repipeteadores con graduación de 100-1000 μ L.

2.4. EQUIPOS

- Molino de un motor con tornillos variables
- Balanza analítica electrónica con sensibilidad de 0,0001g marca ADAM.
- Espectrómetro de absorción atómica Perkin Elmer AA3300 - atomizador de llama
- Lámparas de cátodo hueco Photron Lamp; serie HGJ0500; longitud de onda de 279.5; corriente máxima 30mA; corriente recomendada 20mA.
- Compresor Schulz HSI 5,2mL; 120lbs/pol²5,2 pes³/min;1hp

2.5. REACTIVOS Y SOLUCIONES

- Ácido clorhídrico 3N
- Agua destilada grado desionizada
- Acetileno extra-puro NU1001
- Estándar de Mn de 1000mg/kg (MERCK)

2.6. MUESTRAS DE REFERENCIA

Las muestras proporcionadas por AFFCO son las siguientes:

- 0731 All purpose cattle mineral, medicated
- 0832 Cattle transition mineral, medicated
- 0927 Foundation castle mineral, medicated

2.7. CONDICIONES INSTRUMENTALES

VARIABLE	ESPECIFICACIÓN
Técnica de atomización:	Llama
Flujo de gases:	Acetileno: 3,6 L/min - Aire: 12 L/min.
Presión del Acetileno:	12psi
Presión del aire:	60 psi
Longitud de onda:	279,5nm
Slit:	0,20
Corriente de la lámpara de cátodo hueco:	20mA.

2.8. MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DE MANGANESO POR ESPECTROMETRIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

El método que se detalla a continuación fue elaborado a partir el AOAC 968.08 y el 950.02 adaptando las condiciones analíticas e instrumentales a los recursos físicos de la empresa:

- Pesar aproximadamente 2 ± 0.1 g de muestra, debidamente molida y homogenizada. Registrar los valores obtenidos.
- Calcinar la muestra a 600°C en una mufla por 6 horas
- Disolver las muestras con 10mL de HCl 3N
- Cubrir el crisol con un vidrio de reloj y calentar el contenido hasta ebullición con el fin de digerar todo el alimento, sin dejar que la solución se evapore a sequedad.

- Trasvasar el contenido a un balón de 100mL utilizando embudo y papel filtro y aforar con agua destilada.
- Preparar las disoluciones correspondientes según el contenido de manganeso en la muestra con la finalidad que la concentración del analito está dentro del rango de trabajo.
- Preparar una serie de estándares que cubran el rango de concentración de manganeso presente en las muestras considerando el rango de trabajo validado (2,5; 5; 15; 25; 35; 50).
- Optimizar las condiciones del espectrofotómetro.
- Determinar la absorbancia del blanco y los estándares y construir una curva de calibración.
- Determinar la absorbancia de las muestras y establecer la concentración del analito. Calcular y registrar los valores obtenidos.

2.9. DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE OPTIMIZACIÓN

El proceso de optimización del método detallado en el punto anterior se realizó basándose en la construcción de curvas de calibración, compuestas por blancos y soluciones de concentraciones conocidas preparadas a partir de un estándar de 1000mg/L., se trabajó con variables estadísticas que permitieron la determinación de parámetros tales como límites de detección y cuantificación, sensibilidad, porcentaje de recuperación y la definición del rango de trabajo.

En busca de la definición de metas de trabajo se plantea como objetivo de validación los siguientes valores para cada parámetro:

- Límite de detección $<1\text{mg/kg}$
- Límite de cuantificación $< 2\text{mg/kg}$
- % de Recuperación de $100\%\pm 10$
- Rango de trabajo de $1\text{mg/kg}-25\text{mg/kg}$

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. RESULTADOS DEL PROCESO DE OPTIMIZACIÓN

A continuación se detalla el planteamiento y los resultados de cada una de las pruebas realizadas para la optimización de la metodología propuesta en el capítulo anterior.

3.1.1. DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD

Para llevar a cabo esta prueba se siguió experimentalmente el siguiente planteamiento:

- Se prepara un estándar de concentración conocida, en este caso se utiliza la recomendada en el manual de Perkin-Elmer 2,5mg/kg a 279,5nm
- Se realiza 20 mediciones de la absorbancia del estándar preparado en el punto anterior.
- Con los datos determinados se calcula un promedio de las mediciones de absorbancias y se determina la sensibilidad utilizando la siguiente relación:

$$Sensibilidad = \frac{Concentración.Estándar * 0.0044}{Absorbancia}$$

En la tabla N°9 se presentan las 20 lecturas del estándar de 2,5 mg/kg., también se indican los valores de la media y la desviación estándar de dichas mediciones.

Tabla N°9: Valores de absorbancia para la sensibilidad.

Absorbancia Manganeso 2,5 mg/kg	
1	0,155
2	0,153
3	0,154
4	0,152
5	0,158
6	0,153
7	0,152
8	0,155
9	0,158
10	0,151
11	0,158
12	0,153
13	0,152
14	0,154
15	0,155
16	0,151
17	0,155
18	0,155
19	0,154
20	0,153
Media	0,154
Desviación Estándar	0,002

$$Sensibilidad = \frac{Concentración.Estándar * 0.004}{Absorbancia}$$

$$Sensibilidad = \frac{2,5mg / L * 0.004}{0,154}$$

$$Sensibilidad = 0,065 \text{ mg/kg.}$$

Una vez evaluada la respuesta de la técnica de análisis (absorbancia) en nivel bajo = 0.004 es posible cuantificar muestras de concentraciones de hasta 0,065 mg/kg o superiores.

3.1.2. DETERMINACIÓN DEL RANGO LINEAL

Para la determinación del rango lineal se sigue el siguiente procedimiento:

- Se preparan estándares de las siguientes concentraciones 1; 2; 3; 4; 5; 7,5; 10; 15; 20; 25; 30; 35; 40; 50; 60; 70; 80; 90; 100 mg/kg.
- Se determina la absorbancia de cada una de las soluciones preparadas..
- El rango lineal se define por medio del coeficiente de correlación (R^2), este rango será a partir de las concentraciones donde existe una relación directamente proporcional con la absorbancia. A continuación, en la tabla N°10, se presentan las absorbancias de los estándares preparados a partir de un estándar madre de 1000mg/kg de manganeso.

Tabla N°10: Valores de absorbancia para la determinación del rango lineal

Concentración (mg/kg)	Absorbancia	Concentración (mg/kg)	Absorbancia
1	0,067	45	1,876
2	0,113	50	2,026
3	0,161	55	2,172
4	0,212	60	2,322
5	0,255	65	2,44
10	0,44	70	2,561
15	0,657	75	2,684
20	0,853	80	2,795
25	1,054	85	2,852
30	1,263	90	2,915
35	1,465	95	3,026
40	1,691	100	3,023

En el Gráfico N°1 se presenta la relación de absorbancia vs. concentración, y en el gráfico N°2 se muestra el rango lineal y la ecuación de la recta

Gráfico N°1: Linealidad

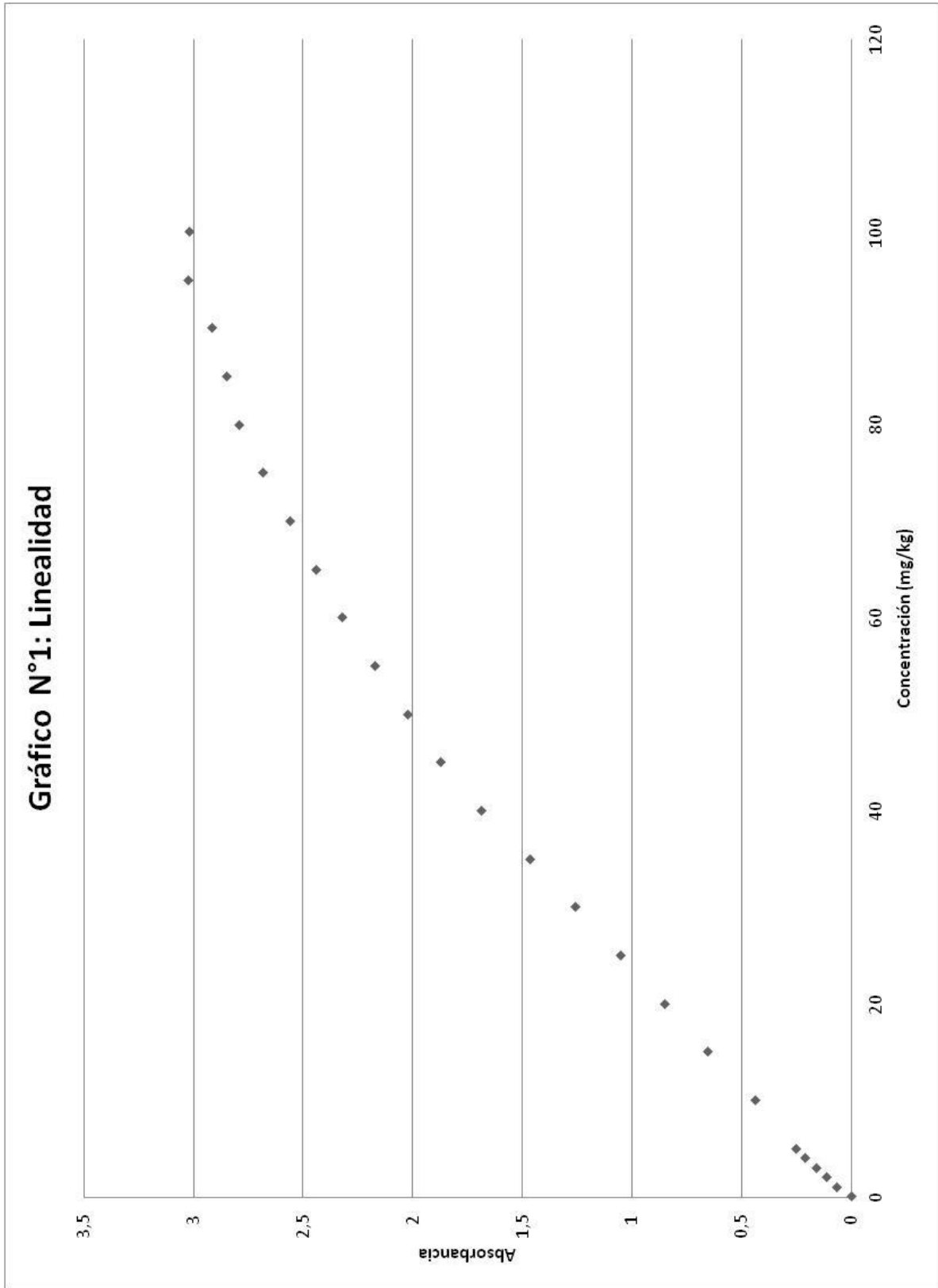
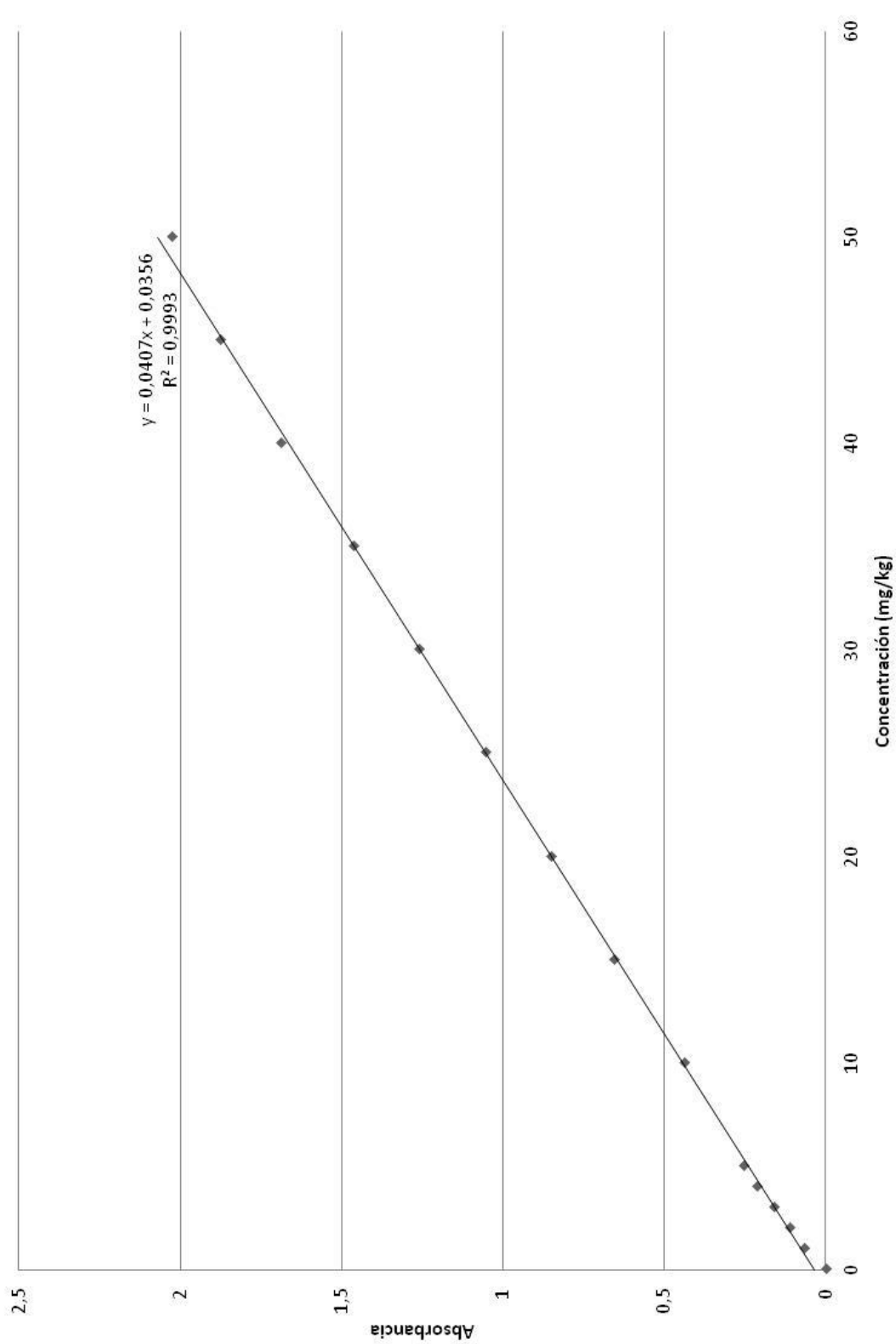


Gráfico N°2:Rango lineal instrumental



Como se puede apreciar en la gráfica anterior el rango lineal para la cuantificación de manganeso se establece de 1 - 50 mg/kg, con un coeficiente de correlación de 0,9993 lo asegura proporcionalidad entre respuesta del equipo y concentración en muestras dentro de este rango y para concentraciones superiores es posible efectuar diluciones para su posterior cuantificación.

3.1.3. DETERMINACIÓN DE LA EXACTITUD

En este proceso se utilizan las muestras de referencia proporcionadas por AAFCO, tomando los datos de los certificados como reales.

- Para la determinación de la exactitud se realizaron 10 lecturas de las muestras de referencia. Se encuentra el porcentaje de recuperación utilizando la diferencia de los valores de la concentración esperada con respecto a la obtenida.

La media se la obtiene a partir de la siguiente expresión:

$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_n}{n} = \frac{\sum_{i=1}^{i=n} x_i}{n}$$

El procedimiento para la medición de la exactitud fue realizado en el mismo día por el mismo analista y en el mismo laboratorio. Es decir en condiciones de repetibilidad.

A continuación en las tablas N°11, 12, 13 se presentan los valores obtenidos en las muestras de referencia (AAFCO), los valores medios, las desviaciones estándar y el coeficiente de variación.

Tabla N°11: Concentración de manganeso en la muestra de AAFCO 0731 All purpose cattle mineral, medicated

Concentración de Manganeso (mg/kg)	
1	2202,46
2	2202,34
3	2202,32
4	2202,45
5	2202,39
6	2202,48
7	2202,36
8	2202,27
9	2202,41
10	2202,42
Media	2202,39
Desviación estándar	0,067
Coeficiente de variación %	0,003

**Tabla N°12: Concentración de manganeso en la muestra de AAFCO 0832 Cattle
transition mineral, medicated**

Concentración de Manganeso (mg/kg)	
1	2266,96
2	2266,91
3	2266,89
4	2267,01
5	2266,98
6	2266,76
7	2266,83
8	2266,87
9	2266,92
10	2267,07
Media	2266,92
Desviación estándar	0,090
Coefficiente de variación%	0,004

**Tabla N°13: Concentración de manganeso en la muestra de AAFCO 0927 Foundation
castle mineral, medicated**

Concentración de Manganeso (mg/kg)	
1	2141,98
2	2142,18
3	2142,14
4	2142,01
5	2141,97
6	2142,15
7	2142,07
8	2142,03
9	2141,88
10	2142,04
Media	2142,04
Desviación estándar	0,093
Coefficiente de variación%	0,004

En la tabla N°14 se reportan los valores medios obtenidos por los diferentes laboratorios afiliados a la AAFCO.

Tabla N°14: Medias reportadas por AAFCO

N° AAFCO	Manganeso (mg/kg)
731	2202,86
832	2267,16
927	2142,35

En la tabla N°15 se puede observar una comparación entre los valores establecidos por la AAFCO y los obtenidos al finalizar los análisis en el laboratorio químico de la empresa.

Tabla N°15: Diferencia entre las medias reportadas por AAFCO y las obtenidas en el laboratorio en el método de absorción atómica

N° AAFCO	Concentración de manganeso según AAFCO (mg/kg)	Concentración de manganeso obtenidas en el laboratorio (mg/kg)	Diferencia	%Recuperación
731	2202,86	2202,39	0,47	99,98
832	2267,16	2266,92	0,24	99,99
927	2142,35	2142,05	0,30	99,99
Media	2204,12	2203,79	0,33	99,99
Varianza	3895,58	3899,59		

La exactitud se determinó utilizando la prueba de la hipótesis y la prueba de *t Student*, trabajando con un nivel de confianza del 95%. A continuación se indica el desarrollo de las pruebas para el manganeso.

- **Prueba de hipótesis:**

Ho: La media del Laboratorio es igual a la media de AAFCO

Ha: La media del Laboratorio es diferente de la media de AAFCO

- **Cálculo del Coeficiente de Pearson:**

El coeficiente de correlación se determinó para medir la relación lineal entre las variables aleatorias cuantitativas independientemente de la escala de medida de las variables. En la tabla N°17 se puede observar las medias dadas por AAFCO y obtenidas en el laboratorio de las lecturas de las muestras de referencia.

Tabla N°16: Planteamiento para el cálculo del Coeficiente de Pearson

(mg/kg) de Manganeso según AAFCO X	(mg/kg) de Manganeso obtenidas en el laboratorio Y	X ²	Y ²	XY
2202,86	2201,84	4852592,18	4848099,39	4850345,26
2267,16	2266,18	5140014,466	5135571,79	5137792,65
2142,35	2141,28	4589663,523	4585080,04	4587371,21
6612,37	6609,3	14582270,17	14568751,2	14575509,1

Se dice que la correlación entre las dos variables X e Y es perfecta positiva, ya que exactamente en la medida que aumenta una de ellas aumenta la otra. Esto sucede cuando la relación entre ambas variables es funcionalmente exacta.

Primero se determina el promedio:

$$\bar{X} = \frac{\sum X}{N}$$

$$\bar{X} = \frac{6612,37}{3} = 2204,12$$

$$\bar{Y} = \frac{6611,36}{3} = 2203,79$$

Luego se calcula las puntuaciones directas:

$$S_x = \sqrt{\frac{\sum X^2}{N} - \bar{X}^2}$$

$$S_x = \sqrt{\frac{14582270}{3} - (2204,12)^2} = 50,96$$

$$S_y = \sqrt{\frac{14577826}{3} - (2203,79)^2} = 50,99$$

El coeficiente de correlación de Pearson viene definido por la siguiente expresión:

$$R_{xy} = \frac{\frac{\sum XY}{N} - \bar{X}\bar{Y}}{S_x S_y}$$

$$R_{xy} = \frac{\frac{14580048}{3} - 2204,12 * 2203,79}{50,96 * 50,99}$$

$$R_{xy} = 1,00000$$

El valor de R igual a 1 indica la proporcionalidad absoluta entre las dos variables con las que se trabajo para estos cálculos. A continuación, en la tabla N°17, se muestran los cálculos para obtener el Estadístico t, considerando los datos obtenidos experimentalmente:

Tabla N°17: Datos utilizados en el cálculo del estadístico t.

N° AAFCO	(mg/kg) de Manganese según	(mg/kg) de Manganese obtenidas
731	2202,86	2202,39
832	2267,16	2266,92
927	2142,35	2142,05
Media	2204,12	2203,79
Varianza	3895,58	3899,59

En la tabla N°18 se presenta el resumen de los cálculos de la prueba t considerando un $\alpha=0,05$.

Tabla N°18: Prueba t para medias de dos muestras emparejadas

	Variable 1 AAFCO	Variable 2 LABORATORIO
Media	2204,1233	2203,7867
Varianza	3895,5810	3899,5922
Observaciones	3	3
Coefficiente de correlación de Pearson	1,0000	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	2	
Estadístico t	4,8877	
P(T<=t) dos colas	0,0394	
Valor crítico de t (dos colas)	4,3027	

Regla de decisión:

$t > 0$ = Si $t < t$ crítico se rechaza la hipótesis nula

$t < 0$ = Si $t < t$ crítico se rechaza la hipótesis nula

Po lo tanto:

$$4,8877 > -4,3027$$

Entonces la prueba no puede rechazar la hipótesis. La media obtenida en el laboratorio es igual a la media de los valores entregados por AAFCO considerando un nivel de confianza del 95%.

3.1.4. DETERMINACIÓN DE LA PRECISIÓN

Con respecto a los datos obtenidos para los análisis del AAFCO, la precisión se determina mediante la desviación estándar con la siguiente relación:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{i=n} (xi - x)^2}{n - 1}}$$

Se debe determinar el coeficiente de variación a partir de la siguiente ecuación:

$$CV = \frac{s}{x} \times 100$$

En la tabla N°19 se presenta los resultados de la desviación estándar promedio y el coeficiente de variación promedio de los valores reportados en la tabla N° 11, 12 y 13.

Tabla N°19: Precisión del método para manganeso

ESTADÍSTICO	VALOR
Desviación estándar promedio	0,083
Coefficiente de variación promedio %	0,004

La desviación estándar determinada es baja, con un coeficiente de variación de 0,004% en las muestras analizadas en este punto, lo cual permite concluir que la precisión del método analítico es aceptable.

3.1.5. DETERMINACIÓN DEL LÍMITE DE DETECCIÓN INSTRUMENTAL

Se prepara un blanco y varias soluciones estándares, donde se puede encontrar el límite de detección esperado, con las cuales se construye un gráfico de absorbancia vs. concentración, que permitirá determinar este parámetro como la concentración más baja que se pueda diferenciar del blanco.

Se preparan soluciones de dos concentraciones de los estándares, la primera que sea 5 veces mayor al límite de detección esperado y la segunda debe ser el doble del primer estándar.

Se realizan 20 mediciones de cada uno de los estándares y de los blancos en el siguiente orden: blanco - estándar menor – blanco - estándar mayor.

Para calcular el límite de detección se debe considerar:

- Promediar las lecturas de los blancos leídos antes de cada estándar.
- Substraer el valor promedio de los blancos de cada una de las lecturas de los estándares.
- Obtener la media y la desviación estándar de los valores corregidos para cada estándar.
- Si los datos obtenidos pasan la prueba del rango de las medias se procede a calcular el límite de detección con la siguiente expresión:

$$\text{Lim.Detección} = \frac{\text{Concentración.Estándar} * 3\text{Desviaciones.Estándar}}{\text{Media}}$$

- El valor final será el promedio de los datos obtenidos a partir de los dos estándares.

Para la aplicación de lo anteriormente detallado se realizaron pruebas con estándares de concentraciones de 0,5; 0,4; 0,3; 0,2 y 0,1mg/kg y de un blanco, en dicha comparación se pudo apreciar que el estándar de 0,1mg/kg se confundía con la señal presentada por el blanco, los otros estándares no eran totalmente diferenciables entre ellos por lo que se decidió trabajar con el estándar de 0,5mg/kg. Tomando en consideración que el estándar que se utiliza en esta determinación debe ser 5 veces la concentración del estándar cuya

señal se confunda con el blanco (0,1mg/kg), mientras que el segundo debe ser el doble del anterior (1,0mg/kg). En la tabla N°20 se muestra los datos obtenidos en estas mediciones:

Tabla N°20: Datos para el cálculo del límite de detección

No.	Absorbancia	Absorbancia	Absorbancia	Absorbancia	Absorbancia	Absorbancia
	Blanco	0.5 mg/kg	Blanco	1 mg/kg	Corregida	Corregida
Lectura	Blanco	0.5 mg/kg	Blanco	1 mg/kg	0.5 mg/kg	1 mg/kg
1	0,001	0,037	0,000	0,067	0,038	0,067
2	0,000	0,036	0,000	0,066	0,036	0,066
3	0,001	0,036	0,002	0,066	0,035	0,064
4	0,000	0,036	0,000	0,067	0,036	0,067
5	0,001	0,035	0,000	0,068	0,034	0,068
6	0,001	0,036	0,001	0,066	0,035	0,065
7	0,001	0,037	0,001	0,067	0,036	0,066
8	0,000	0,036	0,000	0,066	0,036	0,066
9	0,001	0,037	0,000	0,065	0,036	0,065
10	0,001	0,036	0,001	0,067	0,035	0,066
11	0,002	0,035	0,000	0,066	0,033	0,066
12	0,001	0,036	0,001	0,068	0,035	0,067
13	0,001	0,037	0,002	0,066	0,036	0,064
14	0,003	0,036	0,001	0,067	0,033	0,066
15	0,002	0,035	0,002	0,066	0,033	0,064
16	0,003	0,036	0,001	0,067	0,033	0,066
17	0,002	0,037	0,001	0,066	0,035	0,065
18	0,001	0,036	0,001	0,065	0,035	0,064
19	0,001	0,037	0,000	0,067	0,036	0,067
20	0,002	0,036	0,001	0,067	0,034	0,066
Media					0,0350	0,0658
Desviación estándar					0,0013	0,0012

Un ensayo en blanco es un análisis que se realiza de forma paralela a la determinación del analito que en este caso es el manganeso, considerando de manera exacta las mismas

condiciones de trabajo tales como: etapas, operaciones, reactivos pero sin agregar a dicho analito.

El límite de detección se calcula según la siguiente expresión:

$$\text{Lim.Detección} = \frac{\text{Concentración.Estándar} * 3\text{Desviaciones.Estándar}}{\text{Media}}$$

Para el estándar de 0,5mg/kg

$$\text{Lim.Detección} = \frac{0,5\text{mg} / \text{kg} * 3(0,0013)}{0,0350}$$

$$\text{Lim.Detección} = 0,0573 \text{ mg/kg}$$

Para el estándar de 1mg/kg

$$\text{Lim.Detección} = \frac{1\text{mg} / \text{kg} * 3(0,0012)}{0,0658} \text{ mg/kg}$$

$$\text{Lim.Detección} = 0,0531 \text{ mg/kg}$$

Promedio de los dos valores

$$\text{Lim.Detección} = \frac{0,057 + 0,053}{2} \text{ mg/kg}$$

$$\text{Lim.Detección} = 0,055 \text{ mg / kg}$$

El límite de detección planteado como objetivo en el inicio de este trabajo fue de 1mg/kg, por lo tanto podemos decir que mejoramos al determinar un valor de 0,055mg/kg para este parámetro.

3.1.6. DETERMINACIÓN DEL LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN

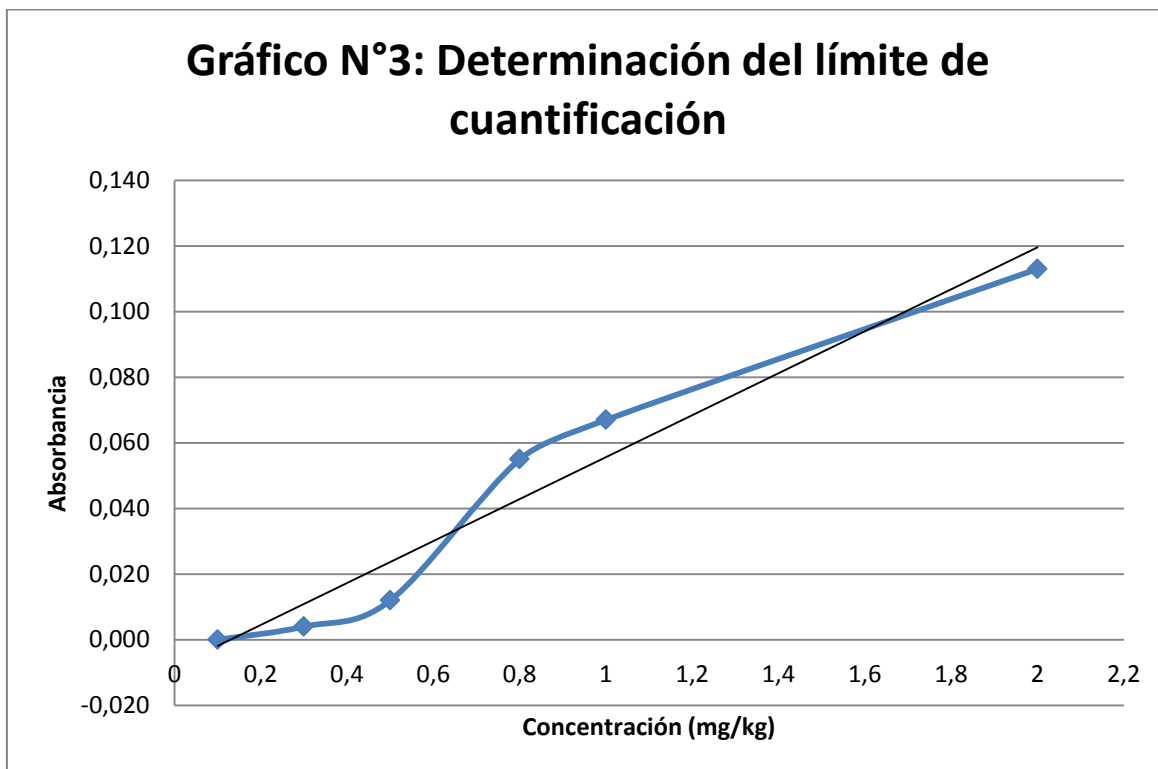
Para su determinación se utilizó el método que se describe a continuación:

- Se preparan estándares del analito de interés con una concentración que disminuya progresivamente para lo cual se utilizaron los siguientes estándares 10, 5, 4, 3, 2, 1, 0.8, 0.5, 0.3, 0.1mg/kg
- Se mide la absorbancia de cada uno de los estándares en forma descendente de concentración.

Tabla N°21: Datos para el cálculo del límite de cuantificación

Concentración (mg/kg)	Absorbancia
0,1	0,000
0,3	0,004
0,5	0,012
0,8	0,055
1	0,067
2	0,113
3	0,161
4	0,212
5	0,255
10	0,440

El gráfico N°3 se observa la representación gráfica de la tabla N°21 en la cual se puede apreciar una dependencia lineal.



Se observa claramente el punto en el cual la absorbancia deja de ser proporcional a la concentración dándonos con ello el siguiente resultado:

$$\text{Limite de cuantificación} = 0,65 \text{ mg/kg}$$

El límite de cuantificación encontrado es aceptable, tomando en cuenta que la concentración de manganeso presente en los alimentos balanceados es muy elevada es decir $>10 \text{ mg/kg}$. Por lo tanto están en un rango de concentración muy superior al límite de cuantificación. Se debe procurar por lo tanto al realizar las diluciones de las muestras, que la concentración de analito en la dilución final, sea superior a $0,5 \text{ mg/kg}$ para así garantizar el resultado del análisis.

3.1.7. REPRODUCIBILIDAD

Se evalúa la reproducibilidad del método, comparando los resultados obtenidos en el laboratorio químico de PRONACA con los obtenidos en otros laboratorios. Para este estudio se trabajó con el Laboratorio de Alimentos de la Universidad Central del Ecuador.

Las muestras utilizadas fueron:

- 0731 All purpose cattle mineral, medicated
- 0927 Foundation castle mineral, medicated
- Engorde E447481y Engorde ESS410412

Los resultados obtenidos en el laboratorio de la Universidad Central se sometieron a una comparación estadística con un nivel de confianza del 95% para corroborar que no existan diferencias significativas entre los resultados. A continuación en las tablas N°22 y 23 se indican los valores obtenidos en las distintas pruebas:

Tabla N°22: Resultados de concentración comparativos entre 2 laboratorios con sus respectivos porcentajes de recuperación para las muestras de AAFCO

Laboratorio	MUESTRAS			
	AAFCO 731		AAFCO 927	
	Concentración (mg/kg)	Recuperación. %	Concentración (mg/kg)	Recuperación. %
PRONACA	2202,39	99,98	2141,05	99,94
LQ-UCE	2069	93,92	1871	87,33
Valor real	2202,86		2142,35	

Tabla N°23: Resultados de concentración comparativos entre 2 laboratorios con sus respectivos porcentajes de recuperación para las muestras de engorde

Laboratorio	MUESTRAS			
	E447481		ESS410412	
	Concentración (mg/kg)	Recuperación. %	Concentración (mg/kg)	Recuperación. %
PRONACA	16	96,97	15	96,77
LQ-UCE	15	90,91	13	83,87
Valor real	16,50		15,5	

Según los resultados presentados en las tablas N°22 y N°23 se evidencia que el método desarrollado en el laboratorio químico de PRONACA satisface el porcentaje de recuperación establecido de $100\pm 10\%$, mientras que la muestra de AAFCO 927 analizada por el Laboratorio de la Universidad Central no cumple con los requisitos, lo cual se le puede atribuir a errores de medición o procedimiento.

3.1.8. ANÁLISIS DE MUESTRAS

El método fue aplicado al análisis de los productos que son utilizados para el control de la homogeneidad de mezclado, de cada uno de los lotes señalados a continuación se tomaron 10 muestras como se indica en el literal de muestreo del capítulo N°2:

Tabla N°24: Listado de muestras utilizadas para el análisis de manganeso

PUEMBO	DURAN	QUEVEDO
Iniciador – 793	Engorde 2 – 412	Engorde 3 Pellet – 929
Engorde 3 - 481	Engorde 2 – 077	Engorde 3 Polvo – 333
Engorde 3 - 087	Engorde 3 – 113	Engorde 3 Rel – 476
Conc. Ponedora – 252	Engorde 3 – 077	Engorde 4 – 209

Cada muestra está compuesta de 10 submuestras las cuales con analizadas y de los 10 valores se obtiene un coeficiente de variación que debe ser <10% para considerarse aceptado y así avalar el funcionamiento de las mezcladoras.

En las tablas N° 25, 26 y 27 se muestran dos ejemplos de la obtención del coeficiente de variación para las muestras de la planta de PRONACA- Puenbo.

Tabla N°25: Resultados de las muestras de la planta de Puenbo.

RESULTADOS DE LAS MUESTRAS DE PUEMBO					
	PRODUCTO	Iniciador-793	Engorde 3 481	Engorde 3 087	Concentrado Ponedora-254
CONCENTRACIÓN mg/kg	Análisis 1	129,60	16,50	119,80	266,13
	Análisis 2	121,95	17,04	120,65	221,34
	Análisis 3	131,95	16,27	123,85	233,52
	Análisis 4	141,40	15,80	114,93	259,71
	Análisis 5	138,25	16,27	129,46	246,76
	Análisis 6	128,60	17,39	102,15	231,72
	Análisis 7	134,94	15,11	107,40	254,34
	Análisis 8	106,65	15,58	128,35	252,17
	Análisis 9	121,95	14,76	118,68	239,01
	Análisis 10	140,05	15,30	141,30	226,25
	Media	129,53	16,00	120,66	243,10
	Desviación Estándar	10,55	0,85	11,20	15,00
	Coeficiente de variación %	8,15	5,29	9,28	6,17
	Criterio	Mezcla homogénea	Mezcla homogénea	Mezcla homogénea	Mezcla homogénea
	Valor esperado mg/kg	132,00	16,50	125,00	250,00
	Recuperación %	98,13	96,98	96,53	97,24

Los porcentajes de recuperación de las muestras de Puembo superan el 96%, indicándonos con esto que se ha cumplido con el objetivo de mantenerse dentro del $100\pm 10\%$, los errores se le pueden atribuir al proceso de mezclado más no al método analítico como se detalla en el análisis de varianza (ANOVA) que se encuentra en el anexo N°6

Tabla N°26: Resultados de las muestras de la planta de Quevedo

RESULTADOS DE LAS MUESTRAS DE QUEVEDO					
	PRODUCTO	Engorde 3 Pellet 929	Engorde 3 Polvo-333	Engorde 3 Rel 476	Engorde 4 209
CONCENTRACIÓN mg/kg	Análisis 1	189,60	94,50	96,80	116,13
	Análisis 2	176,95	107,04	110,65	104,54
	Análisis 3	203,71	117,57	103,85	123,52
	Análisis 4	201,30	110,80	95,30	119,71
	Análisis 5	171,07	121,37	103,98	113,76
	Análisis 6	192,41	117,41	102,15	121,72
	Análisis 7	184,86	109,61	102,40	105,14
	Análisis 8	195,65	96,78	98,35	122,87
	Análisis 9	200,10	104,76	107,13	119,45
	Análisis 10	186,05	98,30	93,30	111,25
	Media	190,17	107,81	101,39	115,81
	Desviación Estándar	10,68	9,33	5,44	6,98
	Coefficiente de variación %	5,61	8,65	5,36	6,03
	Criterio	Mezcla homogénea	Mezcla homogénea	Mezcla homogénea	Mezcla homogénea
	Valor esperado mg/kg	195,00	115,00	110,00	120,00
	Recuperación %	97,52	93,75	92,17	96,51

Los porcentajes de recuperación de las muestras de Quevedo superan el 92%, lo cual indica que se ha cumplido con el objetivo de mantenerse dentro del $100\pm 10\%$, los errores se le pueden atribuir al proceso de mezclado más no al método analítico como se detalla en el análisis de varianza (ANOVA) que se encuentra en el anexo N°6

Tabla N°27: Resultados de las muestras de la planta de Durán

RESULTADOS DE LAS MUESTRAS DE DURÁN					
	PRODUCTO	Engorde 2-412	Engorde 2-077	Engorde 3-113	Engorde 3-077
CONCENTRACIÓN mg/kg	Análisis 1	14,65	16,50	139,80	117,13
	Análisis 2	13,64	19,04	121,65	111,34
	Análisis 3	13,89	16,27	127,85	112,52
	Análisis 4	13,99	16,80	134,23	124,71
	Análisis 5	15,46	16,27	129,06	116,76
	Análisis 6	16,68	19,39	132,15	126,72
	Análisis 7	14,94	18,11	131,32	114,34
	Análisis 8	15,79	15,58	128,35	112,17
	Análisis 9	17,46	16,76	123,53	109,01
	Análisis 10	13,45	15,30	136,21	106,25
	Media	15,00	17,00	130,42	115,10
	Desviación Estándar	1,35	1,39	5,55	6,49
	Coefficiente de variación %	8,99	8,18	4,25	5,64
	Criterio	Mezcla homogénea	Mezcla homogénea	Mezcla homogénea	Mezcla homogénea
	Valor esperado mg/kg	15,50	17,50	135,00	118,00
	Recuperación %	96,74	97,15	96,60	97,54

Los porcentajes de recuperación de las muestras de Durán superan el 96%, indicándonos con esto que se ha cumplido con el objetivo de mantenerse dentro del $100\pm 10\%$, los errores se le pueden atribuir al proceso de mezclado más no al método analítico como se detalla en el análisis de varianza (ANOVA) que se encuentra en el anexo N°6

Los resultados del coeficiente de variación de las muestras analizadas en las tres plantas son menores al 10% que se señala en los requerimientos de la empresa, por lo cual se califica la mezcla como homogénea.

3.1.9. RESUMEN DE LA OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO

En la tabla N°28 se establece una comparación de los objetivos de validación iniciales y los resultados finales.

Tabla N°28: Resumen de la validación

PARÁMETRO	VALOR INICIAL PRETENDIDO	VALOR FINAL ALCANZADO
Limite de detección	<1mg/kg	0,055mg/kg
Rango de trabajo	1mg/L-25mg/kg	1mg/L – 50mg/kg
Límite de cuantificación	< 2mg/kg	0,065mg/kg
% de Recuperación	100%±10	99 %

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

- Mediante la técnica de espectrometría de absorción atómica se determinó la concentración de manganeso en muestras de alimentos balanceados como un método de control de la homogeneidad del proceso de mezclado.
- Los coeficientes de variación obtenidos en la cuantificación de manganeso en las muestras de las tres plantas de producción de PRONACA son menores al 10%, cumpliendo el criterio de las mezclas homogéneas.
- El método analítico empleado para determinar la concentración de manganeso cumple con los parámetros de linealidad, exactitud y precisión planteados. El límite de detección es 0,055mg/kg, el límite de cuantificación es 0,065mg/kg y el rango de trabajo de 1 a 50mg/kg.
- El método analítico es exacto, lo cual se refleja en el tratamiento estadístico de los resultados reportados por el AAFCO, La Universidad Central y el laboratorio de PRONACA.
- Internacionalmente se ha considerado como criterio de análisis estadístico el coeficiente de variación (CV) y se ha establecido que en cuanto a la homogeneidad de mezclado debería ser menor al 10%. Los datos bibliográficos mencionan como

buenos trazadores a la metionina y la lisina obteniendo porcentajes de recuperación del 96% [25]; con el manganeso se tiene mayor aplicabilidad ya que en este estudio se ha logrado recuperaciones de hasta el 99%.

- El análisis de varianza que se adjunta en el Anexo N° 6 permite entender que los coeficientes de variación obtenidos son atribuidos a razones mecánicas de la producción mas no al método de análisis optimizado en este trabajo, ya que presentan valores comprendidos $-3 < X < 3$, trabajando al 95% de confianza.

4.2. RECOMENDACIONES

- Se recomienda emplear cartas de control para hacer un seguimiento del método optimizado, ya que el monitoreo por medio de estos documentos es la mejor opción para el control interno de ensayos de rutina.
- Se recomienda el método desarrollado para los análisis rutinarios debido a que es confiable y de fácil aplicación.
- En cuanto a la calibración del equipo en el laboratorio, el personal técnico de la casa comercial recomienda que se realice previamente con la lámpara de cobre ya que su longitud de onda es estable y permite optimizar el equipo para las lecturas con otros metales.

5. BIBLIOGRAFIA

- [1] Pardo R., (2007), *Manual de nutrición animal*, s/ed., Grupo Latino, Bogotá.
- [2] McElhiney R., (1994), *Tecnología para la fabricación de alimentos balanceados*, 1^{era} edición, American feed industry association, Arlington.
- [3] Herman T., Beherman T., Behnke K., (1994), Testing mixer performance, En: *Feed manufacturing*, Kansas State University Agricultural Experiment Station and Cooperative Extension Service, Kansas. MF-1172.
- [4] Clark P., Behnke K., Poole D. (2007), Effects of marker selection and mix time on the coefficient of variation (mix uniformity) of broiler feed, En: *Poultry Science Association*, Kansas State University, Manhattan, Vol. 16, p: 464-470.
- [5] PRONACA NEGOCIO AGRICOLA Y PECUARIO, (2006), *Criterios de formulación*, 1^{era} edición, Quito.
- [6] PRONACA NEGOCIO AGRICOLA Y PECUARIO, (2006), *Determinación de homogeneidad de mezclado – Método de Microtrazadores*. 1^{era} Edición, Quito, Ecuador.
- [7] Jurán J., Gryna M., (1993), *Manual de control de calidad*, 4^{ta} edición, Mc. Graw Hill, Madrid.
- [8] Villegas G., Abraham, (2009), *Tecnología de alimentos de origen animal – manual de prácticas*, Trillas, México.
- [9] Poole, (1998), Mezcla de alimentos, *El informador avícola*, No.87, p: 45-47.
- [10] Bello, J. (2000), *Ciencia Bromatológica – principios generales de los alimentos*, Díaz de Santos, Madrid.

- [11] INEN 1829 1992-01, (1992), *Alimentos zootécnicos, compuestos para pollos de engorde, requisitos*, Ecuador.
- [12] Vidales A., Chávez V., García E., Gómez M., Alimentos balanceados para animales a partir de residuos orgánicos, (2004), En: *Conciencia Tecnológica*, N° 026, Aguas Calientes. México.
- [13] INEN 1830 1992-01, (1992), *Alimentos zootécnicos compuestos para aves ponedoras, requisitos*, Ecuador.
- [14] Russell L., (1992), *Minerals in animal and human nutrition*, 1^{era} edición, Academic Press, Florida.
- [15] Lenntech Agua residual & purificación del aire Holding B.V (2009), Manganese, <http://www.lenntech.es/periodica/elementos/mn.htm#ixzz1Q30RRopa>, 22 de junio de 2011.
- [16] Gunnar Nordber, (2001) Metales: Propiedades químicas y toxicidad, En: *Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo*, Cap: 63, s/ed. USA.
- [17] Shimada M. A., (2009), *Nutrición animal*, 2^{da} edición, Trillas, México.
- [18] Lyons T., Jacques K., (2004), *Nutritional Biotechnology in the feed and Food Industries proceedings of Alltech's 20th Annual Symposium*, 1^{era} edición, Nottingham University Press, Reino Unido.
- [19] Ensminger M., (2000), *Poultry science – Animal agriculture series*, 3^{ra} edición, Illinois.
- [20] Lewis P. Morris T., (2006), *Poultry lighting the theory and practice*, Northcot, Reino Unido.
- [21] Rojo M., (2008), *Enfermedades de las aves*, 3^{ra} edición, Trilla, México.

- [22] Tassone K., (2011). Perosis Aviar, <http://www.fcv.unlp.edu.ar/sitioscatedras/9/material/Enfermedades%20oseas%20de%20las%20aves.pdf>, 24 de febrero de 2011.
- [23] Leeson S., Summers J., (2001), *Scott'S Nutrition of the chicken*, 4^{ta} Edición, Ontario.
- [24] Ibarz R., (2001) *Métodos experimentales en la ingeniería alimentaria*, Acribia, Zaragoza.
- [25] Wicker, D., Poole D., (1991). How is your mixer performing?, En: *Feed Management*, Kansas, Vol. 42, p: 9.
- [26] Stark, C., Behnke K., Goodband R., Hansen J., (1991). On farm feed uniformity survey, *Swine day report of progress*, KSU, Manhattan, Vol. 641, p:1-5.
- [27] Duncan M, (1973), *Nutrient variation: Affect on quality control and animal performance*. Disertación Doctoral, KSU, Manhattan.
- [28] Chin S., (1997), Ensuring optimum mixability in feed manufacturing, 5th *Regional ASA Feed Technology & Nutrition Workshop*, Vol. 27, p: 12-16...
- [29] Kvamme J., Philips T., (2003), *Petfood Technology*, 1^{era} edición, Watt Publishig Company, Illinoise.
- [30] Engormix (2011), Balanceados- Piensos, <http://www.engormix.com/MA-balanceados/fabricacion/articulos/diseno-plantas-alimentos-balanceados-t1748/801-p0.htm>, 22 de junio de 2011.
- [31] Seres Servicios y Repuestos Solorzano (2009), Equipos Agropecuarios, <http://www.solorzano.com.mx/jesus/agricola/molinos/azteca/mezcladoras.htm>, 22 de junio de 2011.

- [32] Aguilar M., (2004), *Plan para la implementación de buenas prácticas de manufactura (BPM) en la planta de Pronaca Puenbo*, Tesis de Ingeniería Industrial, Universidad San Francisco de Quito, Quito.
- [33] Badui S., (2006), *Químicos de Alimentos*, 4^{ta} edición, Pearson Education, México.
- [34] Badui D., Salvador., (2006), *Química de los alimentos*, 4^{ta} edición, Pearson Education, México.
- [35] Behnke, K., (1996). Feed manufacturing technology: Current issues and challenges. *Elsevier animal feed science and technology*, Vol. 62. p: 49-57
- [36] Skoog, D., James H., Crouch S., (2008), *Principios del análisis instrumental*, 6^{ta} edición, Cengage Learning, México.
- [37] Fernández J., Domínguez Z., (2002), Procesos de atomización en los atomizadores de llama para absorción atómica, En: *Revista Cubana de Química*, Vol. 14, p: 8-16.
- [38] Skoog, D., James H., Crouch S., (2001), *Principios del análisis instrumental*, 5^{ta} edición, Mc Graw Hill, México.
- [39] Parreño, M. (2007), Espectrometría de absorción atómica, Análisis Instrumental I, Apuntes de clase, Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- [40] ISO/IEC 17025 (2005), *Norma Internacional, Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración*, Suiza.
- [41] Madrid V., (2000), *Normas de calidad en alimentos y bebidas*, AMV ediciones, Madrid.
- [42] Villavicencio J., (2004), *Determinación de Sodio y potasio en Alimentos Balanceados por Espectrofotometría de Absorción Atómica*, Tesis de Licenciatura, Quito, Pontificia Universidad Católica de Quito, Ecuador.

- [43] Box G., (2008), *Estadística para investigadores*, 2da edición, Reverte, Barcelona.
- [44] Camacho E. (2005), *Validación de métodos analíticos*, s/ed, México.
- [45] AAFCO, (2008), *Uniform state feed bill - Official publication of the Association of American Feed Control Official*, Indiana.
- [46] Association of Official Analytical Chemist, AOAC, (2000), Method 965.16., En: *Official Methods of Analysis*, 21^a Edition.
- [47] Betancourt A., Villoch A., Travieso M., Dávila N., (2004), Escobar A., Vínculo entre la validación el control interno de la calidad y la determinación de la incertidumbre de los métodos analíticos en los laboratorios de ensayo de la rama agropecuaria, En: *Salud Animal*, Cuba, Vol. 26, p: 89-91.

ANEXOS

Anexo N°1: Reportes AAFCO

Feed Check Sample No. - 200731 All Purpose Cattle Mineral, Medicated
 Association of American Feed Control Officials

- Pass 1 Results for 160 Labs - - Pass 2 Results for 158 Labs -

Method	AOAC 18th	Method Code	No. of Labs	Grand Avg.	Std. Dev.	Average Range of Dups	No. of Labs	Grand Avg.	Std. Dev.	Average Range of Dups
Cobalt, ICP		021.02	13	26.4051	4.36482	0.68800	12	26.4138	4.51214	0.41200
Cobalt, Misc.		021.99	6	32.1853	9.94554	1.08202	6	32.1853	9.94554	1.08202
Method Group 021.XX PPM			24	29.4345	9.09400	1.28067	22	29.8695	9.29886	0.76073
Copper, AA	968.08	022.01	33	688.559	40.3870	10.8800	30	685.394	34.7047	7.39800
Copper, ICP, Dry Ash	968.08	022.03	27	676.015	37.0952	19.1980	25	673.164	33.1325	15.4538
Copper, ICP, Wet Ash	968.08	022.05	28	686.371	59.0588	19.8725	27	683.477	58.2058	17.3122
Copper, Misc.		022.99	7	650.946	32.9730	20.2891	7	650.946	32.9730	20.2891
Method Group 022.XX PPM			95	681.578	46.2472	16.5878	88	676.976	40.6219	13.2811
Iron, AA	968.08	025.01	20	6547.04	1250.58	101.218	18	6681.42	1238.69	65.4589
Iron, ICP, Dry Ash	968.08	025.03	25	6187.49	1102.72	215.901	24	6173.41	1120.60	191.272
Iron, ICP, Wet Ash	968.08	025.05	21	6130.42	1547.14	102.717	21	6130.42	1547.14	102.717
Iron, Misc.		025.99	6	6357.80	1485.55	318.214	6	6357.80	1485.55	318.214
Method Group 025.XX PPM			72	6284.91	1315.01	159.559	69	6308.88	1330.11	142.538
Lead,		026.00	1	2.05000	0.91924	1.30000	1	2.05000	0.91924	1.30000
Lead, Misc.		026.99	2	0.14000	0.16166	0.00000	2	0.14000	0.16166	0.00000
Method Group 026.XX PPM			3	0.77667	1.07587	0.43333	3	0.77667	1.07587	0.43333
Magnesium, AA	968.08	027.01	35	0.70410	0.04932	0.01008	33	0.70711	0.04770	0.00736
Magnesium, ICP, Dry Ash	968.08	027.03	30	0.69834	0.03705	0.01318	29	0.69914	0.03714	0.01191
Magnesium, ICP, Wet Ash	968.08	027.05	26	0.69757	0.05159	0.01900	25	0.69475	0.04991	0.01648
Magnesium, Misc.		027.99	7	0.70800	0.03834	0.01829	7	0.70800	0.03834	0.01829
Method Group 027.XX PCT			98	0.70088	0.04563	0.01398	94	0.70143	0.04466	0.01200
Manganese, AA	968.08	028.01	35	2202.86	202.310	30.6889	33	2204.36	207.325	23.2458
Manganese, ICP, Dry Ash	968.08	028.03	27	2161.83	141.863	38.9954	24	2150.62	140.897	23.7096
Manganese, ICP, Wet Ash	968.08	028.05	26	2205.93	235.360	51.2100	25	2206.16	236.688	37.2584
Manganese, Misc.		028.99	7	2253.73	271.869	54.7480	7	2253.73	271.869	54.7480
Method Group 028.XX PPM			95	2195.79	203.083	40.4388	89	2194.26	207.045	29.7847
Mercury,		029.00	1	0.00400	0.00141	0.00200	1	0.00400	0.00141	0.00200
Phosphorus, Photometric	965.17	031.01	49	4.07004	0.22388	0.06596	47	4.07164	0.20712	0.05674
Phosphorus, QMP (2.028)	964.06	031.02	5	4.12401	0.05679	0.04146	5	4.12401	0.05679	0.04146
Phosphorus, Autoanalyzer		031.03	5	4.11500	0.07706	0.03800	5	4.11500	0.07706	0.03800
Phosphorus, ICP		031.05	54	4.08297	0.22187	0.08138	50	4.07904	0.22066	0.06167
Phosphorus, Hach Method		031.06	2	3.73500	0.25749	0.12000	2	3.73500	0.25749	0.12000
Phosphorus, Misc.		031.99	9	4.06750	0.21378	0.05122	8	4.12031	0.15030	0.02387
Method Group 031.XX PCT			124	4.07407	0.21764	0.07036	117	4.07647	0.20683	0.05623
Potassium, AA	975.03	032.01	25	0.40630	0.06121	0.01714	23	0.40055	0.05832	0.01298
Potassium, Flame Emission	956.01	032.02	8	0.39919	0.08413	0.01513	8	0.39919	0.08413	0.01513
Potassium, ICP		032.05	50	0.40656	0.05885	0.01987	46	0.40396	0.05175	0.01298
Potassium, Misc.		032.99	5	0.37900	0.05301	0.01400	5	0.37900	0.05301	0.01400
Method Group 032.XX PCT			88	0.40425	0.06166	0.01833	82	0.40102	0.05723	0.01325

Feed Check Sample No. - 200832 Cattle Transition Mineral, Medicated
 Association of American Feed Control Officials

- Pass 1 Results for 166 Labs - - Pass 2 Results for 166 Labs -

Method	AOAC 18th	Method Code	No. of Labs	Grand Avg.	Std. Dev.	Average Range of Dups	No. of Labs	Grand Avg.	Std. Dev.	Average Range of Dups
Calcium, ICP, Dry Ash.....		019.05	38	6.36806	0.41674	0.14933	35	6.39303	0.40978	0.10901
Calcium, EDTA		019.08	5	6.52200	0.46771	0.24000	5	6.52200	0.46771	0.24000
Calcium, ICP, Wet Ash		019.09	25	6.51234	0.35419	0.15065	24	6.51384	0.33673	0.10372
Calcium, Misc		019.99	7	6.86471	0.64698	0.22029	7	6.86471	0.64698	0.22029
Method Group 019.XX PCT			133	6.45963	0.38078	0.13301	124	6.46484	0.37529	0.10260
Chromium, AA.....		020.00	3	17.9900	2.58905	2.00667	3	17.9900	2.58905	2.00667
Chromium, ICP		020.01	8	15.5811	2.19249	1.07088	8	15.5811	2.19249	1.07088
Chromium, Misc		020.99	2	14.4625	0.70901	0.08500	2	14.4625	0.70901	0.08500
Method Group 020.XX PPM			13	15.9649	2.39267	1.13515	13	15.9649	2.39267	1.13515
Cobalt, AA	968.08	021.01	4	9.49841	4.06647	0.39358	4	9.49841	4.06647	0.39358
Cobalt, ICP		021.02	13	10.5643	0.97627	0.76019	13	10.5643	0.97627	0.76019
Cobalt, Misc		021.99	5	12.5795	2.36210	1.42944	4	12.0993	2.01758	0.53680
Method Group 021.XX PPM			22	10.8285	2.34483	0.84564	21	10.6537	2.18464	0.64781
Copper, AA	968.08	022.01	36	759.603	34.0193	13.5541	33	758.300	32.7704	9.81659
Copper, ICP, Dry Ash	968.08	022.03	29	746.321	42.8578	21.6140	28	746.261	41.7162	17.6002
Copper, ICP, Wet Ash	968.08	022.05	25	751.854	47.4304	20.2780	25	751.854	47.4304	20.2780
Copper, Misc		022.99	8	739.388	45.6981	29.3154	7	735.922	42.8937	17.7747
Method Group 022.XX PPM			98	752.045	41.5718	18.9411	93	751.258	40.7795	15.5713
Iodine, Elm-Cald	935.14	024.01	1	22.7000	4.38406	6.20000	1	22.7000	4.38406	6.20000
Iron, AA	968.08	025.01	18	1526.65	188.710	34.7461	18	1526.65	188.710	34.7461
Iron, ICP, Dry Ash	968.08	025.03	27	1398.67	154.002	57.4524	25	1400.79	154.233	43.7270
Iron, ICP, Wet Ash	968.08	025.05	21	1377.67	183.676	70.4805	20	1386.35	182.013	62.2045
Iron, Misc		025.99	2	1419.25	184.339	114.500	2	1419.25	184.339	114.500
Method Group 025.XX PPM			68	1426.67	182.408	57.1431	65	1431.77	181.749	49.1030
Lead,		026.00	1	0.57450	0.00636	0.00900	1	0.57450	0.00636	0.00900
Lead, Misc		026.99	3	0.28008	0.27494	0.03250	3	0.28008	0.27494	0.03250
Method Group 026.XX PPM			4	0.35369	0.26940	0.02663	4	0.35369	0.26940	0.02663
Magnesium, AA	968.08	027.01	41	0.66119	0.04245	0.01648	40	0.66284	0.04126	0.01514
Magnesium, ICP, Dry Ash	968.08	027.03	28	0.64444	0.04911	0.01573	27	0.64640	0.04863	0.01428
Magnesium, ICP, Wet Ash	968.08	027.05	24	0.65585	0.05557	0.03305	23	0.65555	0.05359	0.02675
Magnesium, Misc		027.99	6	0.62775	0.05386	0.04983	6	0.62775	0.05386	0.04983
Method Group 027.XX PCT			99	0.65313	0.04901	0.02231	96	0.65428	0.04793	0.01985
Manganese, AA	968.08	028.01	34	2267.16	129.428	43.5079	33	2264.70	126.531	33.6445
Manganese, ICP, Dry Ash	968.08	028.03	27	2226.83	159.020	67.3784	26	2234.49	154.235	58.4814
Manganese, ICP, Wet Ash	968.08	028.05	24	2296.37	181.751	61.2375	22	2310.29	134.162	51.5773
Manganese, Misc		028.99	7	2240.57	153.985	77.2971	7	2240.57	153.985	77.2971
Method Group 028.XX PPM			92	2260.92	156.025	57.7094	88	2265.25	141.080	48.9382
Mercury,		029.00	1	0.00300	0.00141	0.00200	1	0.00300	0.00141	0.00200
Phosphorus, Vol	964.06	031.00	1	1.79470	0.00863	0.01220	1	1.79470	0.00863	0.01220

Feed Check Sample No. - 200927 Foundation Cattle Mineral, Medicated
 Association of American Feed Control Officials

- Pass 1 Results for 170 Labs - - Pass 2 Results for 168 Labs -

Method	AOAC 18th	Method Code	No. of Labs	Grand Avg.	Std. Dev.	Average Range of Dups	No. of Labs	Grand Avg.	Std. Dev.	Average Range of Dups
Chromium, AA		020.00	2	37.2225	0.50069	0.19500	2	37.2225	0.50069	0.19500
Chromium, ICP		020.01	10	31.8454	4.14247	1.61200	9	32.3017	3.77603	0.72333
Chromium, Misc		020.99	1	35.4500	3.74767	5.30000	1	35.4500	3.74767	5.30000
Method Group 020.XX PPM			13	32.9499	4.24621	1.67769	12	33.3842	3.87719	1.01667
Cobalt, AA	968.08	021.01	8	31.5275	9.43181	1.51000	8	32.3650	10.6309	1.03500
Cobalt, ICP		021.02	19	28.0604	4.15679	1.20724	17	28.1169	3.99895	0.65565
Cobalt, Misc		021.99	4	24.2188	5.93125	0.52250	4	24.2188	5.93125	0.52250
Method Group 021.XX PPM			31	28.4594	6.42803	1.19702	28	28.0208	6.01405	0.72557
Copper, AA	968.08	022.01	26	782.165	38.3532	16.1738	25	781.152	38.0707	13.9008
Copper, ICP, Dry Ash	968.08	022.03	28	790.500	48.8045	23.6879	27	791.666	48.1964	20.5652
Copper, ICP, Wet Ash	968.08	022.05	36	779.889	57.8304	14.6574	34	780.092	56.3695	11.5079
Copper, Misc		022.99	6	724.631	58.8982	13.8750	6	724.631	58.8982	13.8750
Method Group 022.XX PPM			96	780.147	52.4196	17.6531	92	780.160	51.7131	14.9706
Iodine, Elm-Cald	935.14	024.01	2	62.9500	6.86076	8.60000	2	62.9500	6.86076	8.60000
Iodine, Ion Sel Electrode		024.03	1	31.5000	0.70711	1.00000	1	31.5000	0.70711	1.00000
Iodine, Misc		024.99	1	35.8900	0.36770	0.52000	1	35.8900	0.36770	0.52000
Method Group 024.XX PPM			4	48.3225	16.3569	4.68000	4	48.3225	16.3569	4.68000
Iron, AA	968.08	025.01	15	4154.23	1265.26	100.759	14	4228.46	1277.39	84.3850
Iron, ICP, Dry Ash	968.08	025.03	31	4422.16	698.266	170.587	30	4388.90	678.507	142.183
Iron, ICP, Wet Ash	968.08	025.05	30	3953.16	1095.16	145.075	27	3886.00	1096.69	77.2681
Iron, Misc		025.99	2	2842.40	1908.06	154.100	2	2842.40	1908.06	154.100
Method Group 025.XX PPM			78	4149.74	1052.22	146.923	73	4129.76	1050.53	107.415
Lead, AA		026.00	5	1.81923	1.06415	0.47998	5	1.81923	1.06415	0.47998
Lead, Misc		026.99	2	1.72938	1.05294	0.50875	2	1.72938	1.05294	0.50875
Method Group 026.XX PPM			7	1.79356	1.02059	0.48820	7	1.79356	1.02059	0.48820
Magnesium, AA	968.08	027.01	28	1.17504	0.06785	0.02496	26	1.17153	0.06421	0.01631
Magnesium, ICP, Dry Ash	968.08	027.03	36	1.16207	0.07252	0.02690	34	1.16234	0.07036	0.01878
Magnesium, ICP, Wet Ash	968.08	027.05	32	1.14950	0.08371	0.03031	30	1.15265	0.08378	0.02397
Magnesium, Misc		027.99	5	1.10500	0.11940	0.03560	5	1.10500	0.11940	0.03560
Method Group 027.XX PCT			101	1.15886	0.07875	0.02788	95	1.15878	0.07714	0.02062
Manganese, AA	968.08	028.01	27	2142.35	142.526	46.8989	25	2150.18	136.008	34.1288
Manganese, ICP, Dry Ash	968.08	028.03	31	2133.37	153.407	41.2855	29	2142.06	150.339	29.2110
Manganese, ICP, Wet Ash	968.08	028.05	35	2164.35	200.995	44.6697	33	2161.58	205.519	36.4679
Manganese, Misc		028.99	5	1979.84	231.753	51.6000	5	1979.84	231.753	51.6000
Method Group 028.XX PPM			98	2139.07	176.635	44.5669	92	2142.46	176.721	34.3672
Mercury, AA		029.00	1	0.02150	0.00071	0.00100	1	0.02150	0.00071	0.00100
Phosphorus, Photometric	965.17	031.01	40	3.07024	0.13268	0.05012	37	3.06323	0.12395	0.03688
Phosphorus, GQMP (2.028)	964.06	031.02	5	3.07617	0.05367	0.02764	5	3.07617	0.05367	0.02764
Phosphorus, Autoanalyzer		031.03	5	3.11200	0.03120	0.01600	5	3.11200	0.03120	0.01600

Anexo N°2: Métodos AOAC

...ing flask in H₂O bath 1 h at 83–87°; using small funnel in neck of flask to condense vapor. Cool and let mixture stand several minutes overnight. Dilute to volume with neutral 95% alcohol, mix thoroughly, let settle or centrifuge 15 min at 1500 rpm, and decant. Pipet 200 mL supernate into beaker and evaporate on steam bath to 20–30 mL. Do not evaporate to dryness. Little alcohol residue does no harm.

Transfer to 100 mL volumetric flask and rinse beaker thoroughly with H₂O, adding rinsings to flask. Add enough saturated neutral (CH₃COO)₂ solution (ca 2 mL) to produce flocculent precipitate, mix thoroughly, and let stand 15 min. Dilute to volume with H₂O, mix thoroughly, and filter through dry paper. Add enough anhydrous (CO₃) or potassium oxalate to filtrate to precipitate all Pb, again filter through dry paper, and test filtrate with little anhydrous Na₂CO₃ potassium oxalate to make sure that all Pb has been removed. Place 50 mL prepared solution in 100 mL volumetric flask, add piece of litmus paper, neutralize with HCl, add 5 mL HCl, and let reaction proceed at room temperature as in 925.48(c) (see 44.1.09). After inversion is complete, transfer solution to beaker, neutralize with Na₂CO₃, return solution to 100 mL flask, dilute to volume with H₂O, filter if necessary, and determine reducing sugars in 50 mL solution (representing 2 g sample) as in 906.03B (see 44.1.16). Calculate results as invert sugar.

$$\text{Invertose} = \left[\begin{array}{l} \% \text{ total sugar after inversion} \\ - \% \text{ reducing sugars before inversion} \\ \text{(both calculated as invert sugar)} \end{array} \right] \times 0.95$$

Because insoluble material of grain or cattle food occupies some space in flask as originally made up, correct by multiplying all results by factor 0.97, as results of large number of determinations on such materials show average volume of 10 g material to be 7.5 mL.

References: USDA Bur. Chem. Circ. 71. JAOAC 41, 276(1958); 42, 39(1959).

95-57-50-1 (sucrose)

03

**AOAC Official Method 920.40★
Starch in Animal Feed**

Final Action
Surplus

Direct Acid Hydrolysis

See 7.080, 13th ed.

Diastase Method with Subsequent Acid Hydrolysis

See 7.067, 12th ed.

Extraction with Subsequent Enzyme Hydrolysis

See 14.075–14.080, 13th ed.

Presence of Interfering Polysaccharides

See 22.048, 10th ed.

Condensed or Dried Milk Products—Qualitative Test

See 22.049, 10th ed.

4.7.04

**AOAC Official Method 920.41★
Pentosans in Animal Feed**

Final Action
Surplus 1965

See 22.050–22.051, 10th ed.

4.7.05

**AOAC Official Method 920.42★
Galactan in Animal Feed**

Final Action
Surplus 1965

See 22.052, 10th ed.

4.7.06

**AOAC Official Method 920.43★
Acidity (Water-Soluble)
of Animal Feed**

Final Action
Surplus 1965

See 22.053, 10th ed.

Subchapter 8
MINERALS

4.8.01

**AOAC Official Method 925.12★
Mineral Salts in Animal Feed**

Final Action
Surplus 1974

A. Ferrous Salts

See 7.074, 12th ed.

B. Copper Salts

See 7.075, 12th ed.

C. Potassium Iodide

See 7.076, 12th ed.

4.8.02

**AOAC Official Method 968.08
Minerals in Animal Feed**

Atomic Absorption Spectrophotometric Method

First Action 1968
Final Action 1969

(Caution: See Appendix B, safety notes on AAS.)

A. Apparatus

Atomic absorption spectrophotometer.—See 965.09A (see 2.6.01).

B. Operating Parameters

See Table 965.09 (see 2.6.01), except use fuel-rich air-C₂H₂ flame for Ca and Mg, and ranges of operation for µg element/mL solution are: Ca 5–20, Cu 2–20, Fe 5–20, Mg 0.5–2.5, Mn 5–20, and Zn 1–5.

C. Reagents

(See introduction to 965.09B [see 2.6.01]. Commercial prepared standard solutions may be used.)

(a) *Calcium standard solutions.*—Prepare as in 965.09B(a) (see 2.6.01).

(b) *Copper, iron, magnesium, manganese, and zinc standard solutions.*—Prepare stock solutions as in 965.09B(b), (c), (e), (f), and (g) (see 2.6.01), and dilute aliquots with 0.1–0.5N HCl to make ≥4 standard solutions of each element within range of determination.

D. Preparation of Sample Solution

(a) *Dry ashing (not applicable to mineral-mix feeds).*—Ash 2–10 g sample in well-glazed porcelain dish. Start in cold furnace, bring to 550°, and hold 4 h. Cool, add 10 mL 3N HCl, cover with watch glass, and boil gently 10 min. Cool, filter into 100 mL volumetric flask, and dilute to volume with H₂O. Subsequent dilutions with 0.1–0.5N HCl may be necessary to bring sample solutions into analytical range, except for Ca. Final Ca dilution must contain enough La solution, 965.09B(d) (see 2.6.01), to provide 1% La concentration after dilution to volume with H₂O.

(b) *Wet digestion.*—Proceed as in 935.13A(a) (see 4.8.04), adding 25 mL HNO₃ for each 2.5 g sample and diluting to 100 mL with H₂O. Digestion can be made at low heat on hot plate, using 600 mL beaker covered with watch glass. Subsequent dilutions with 0.1–0.5N HCl may be necessary to bring sample solutions into analytical range, as in (a).

E. Determination and Calculation

See 965.09D–E (see 2.6.01).

References: JAOAC 51, 776(1968); 54, 666(1971); 59, 937(1976); 60, 465(1977).

CAS-7440-70-2 (calcium)
CAS-7440-50-8 (copper)
CAS-7439-89-6 (iron)
CAS-7439-96-5 (manganese)
CAS-7440-66-6 (zinc)

4.8.03

AOAC Official Method 927.02
Calcium in Animal Feed
Dry Ash Method
Final Action

(Applicable to mineral feeds only.)

Weigh 2 g finely ground sample into SiO₂ or porcelain dish and ignite in furnace to C-free ash, but avoid fusing. Boil residue in 40 mL HCl (1 + 3) and few drops HNO₃. Transfer to 250 mL volumetric flask, cool, dilute to volume, and mix thoroughly. Pipet 25 mL clear liquid into beaker, dilute to ca 100 mL, and add 2 drops methyl red, 984.13B(c) (see 4.2.09). Add NH₄OH (1 + 1) dropwise to pH 5.6, as shown by intermediate brownish-orange. If overstepped, add HCl

(1 + 3) with dropper to orange. Add 2 more drops HCl (1 + 3). Color should now be pink (pH 2.5–3.0), not orange. Dilute to ca 150 mL, bring to boil, and slowly add, with constant stirring, 10 mL hot saturated (4.2%) solution of (NH₄)₂C₂O₄. If red changes to orange or yellow, add HCl (1 + 3) dropwise until color again changes to pink. Let stand overnight for precipitate to settle. Filter supernate through quantitative paper, Gooch, or fritted glass filter (fine Pyrex is preferable), and wash precipitate thoroughly with NH₄OH (1 + 50). Place paper or crucible with precipitate in original beaker, and add mixture of 125 mL H₂O and 5 mL H₂SO₄. Heat to ≥70° and titrate with 0.1N KMnO₄, 940.35 (see A.1.10), to first slight pink. Presence of paper may cause color to fade in few s. Correct for blank and calculate % Ca.

References: JAOAC 10, 177(1927); 19, 93, 574(1936); 28, 80(1945).

CAS-7440-70-2 (calcium)

4.8.04

AOAC Official Method 935.13
Calcium in Animal Feed
Wet Ash Method
Final Action

A. Preparation of Solution

(Caution: See Appendix B, safety notes on nitric acid and perchloric acid.)

(a) Weigh 2.5 g sample into 500 or 800 mL Kjeldahl flask. Add 20–30 mL HNO₃ and boil gently 30–45 min to oxidize all easily oxidizable matter. Cool solution somewhat and add 10 mL 70–72% HClO₄. Boil very gently, adjusting flame as necessary, until solution is colorless or nearly so and dense white fumes appear. Use particular care not to boil to dryness (Danger!) at any time. Cool slightly, add 50 mL H₂O, and boil to drive out any remaining NO₂ fumes. Cool, dilute, filter into 250 mL volumetric flask, dilute to volume, and mix thoroughly.

(b) Weigh 2.5 g finely ground sample into SiO₂ or porcelain dish and ignite as in 942.05 (see 4.1.10). Add 40 mL HCl (1 + 3) and few drops HNO₃ to residue, boil, transfer to 250 mL volumetric flask, cool, dilute to volume, and mix thoroughly.

B. Determination

Pipet suitable aliquot of clear solution, 935.13A(a) or (b), into beaker, dilute to 100 mL, and add 2 drops methyl red, 984.13B(c) (see 4.2.09). Continue as in 927.02 (see 4.8.03), beginning "Add NH₄OH (1 + 1) dropwise . . ." except use 0.05N KMnO₄ for titration.

(100 ml is suitable aliquot of sample solution for grain feeds; for mineral feeds, 25 mL aliquot may be taken and titrated with 0.1N KMnO₄. For suitable precision, size of sample, aliquot, and concentration of KMnO₄ must be so adjusted that ≥20 mL standard KMnO₄ solution is used.)

References: Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 7, 116, 167(1935). JAOAC 30, 606(1947); 31, 98(1948); 32, 650(1949); 33, 162(1950); 34, 563(1951).

CAS-7440-70-2 (calcium)

**Anexo N°3: Informe de resultados del Laboratorio Químico de la Universidad
Central del Ecuador**



**OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS
UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR**



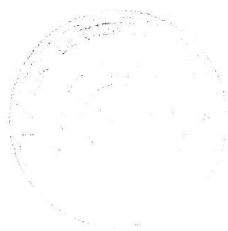
LABORATORIO DE QUIMICA AMBIENTAL
INFORME DE RESULTADOS

INF-LAB-QAM-24204
ORDEN DE TRABAJO No 032024

SOLICITADO POR: ARMIJOS RAMIRO
DIRECCIÓN: EL PRADO CASA 8 VÍA CHONE
FECHA DE RECEPCION: 15/06/11
HORA DE RECEPCION: 12H10
MUESTRA DE: ALIMENTO BALANCEADO
DESCRIPCION: M927A
CÓDIGO: ----
LOTE: ----
FECHA DE ELABORACIÓN: ----
FECHA DE VENCIMIENTO: ----
FECHA DE ANALISIS: 15 AL 30/06/2011
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS A LA SECRETARIA: 01/07/11
SECRETARIA: CARACTERISTICO
CARACTERISTICAS DE LAS MUESTRAS: SÓLIDO
ESTADO: 100 g
CONTENIDO: CLIENTE
MUESTREADO POR: Los resultados que constan en el presente informe
OBSERVACIONES: se refieren a la muestra tomada por el cliente y
entregada al OSP.

INFORME

PARÁMETROS	UNIDADES	RESULTADOS	METODO
*MANGANESO	mg/kg	1871	ABSORCIÓN ATÓMICA



Dra. Jenny Murillo

JEFE AREA DE QUÍMICA AMBIENTAL



Dirección: Francisco Viteri s/n y Gilberto Gato Sobral
Web: www.facquimuce.edu.ec

Teléfonos: 2502-262 / 2502-456, ext.15,18, 21, 33, 31 Telefax: 3216-740
e-mail: laboratoriososp@hotmail.com



**OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS
UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR**



**LABORATORIO DE QUIMICA AMBIENTAL
INFORME DE RESULTADOS**

INF-LAB-QAM-24203
ORDEN DE TRABAJO No 032024

SOLICITADO POR: ARMIJOS RAMIRO
DIRECCIÓN: EL PRADO CASA 8 VÍA CHONE
FECHA DE RECEPCION: 15/06/11
HORA DE RECEPCION: 12H10
MUESTRA DE: ALIMENTO BALANCEADO
DESCRIPCION: M731A
CÓDIGO: ----
LOTE: ----
FECHA DE ELABORACIÓN: ----
FECHA DE VENCIMIENTO: ----
FECHA DE ANALISIS: 15 AL 30/06/2011

FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS A LA 01/07/11
SECRETARIA
CARACTERISTICAS DE LAS MUESTRAS. CARACTERISTICO
ESTADO: SÓLIDO
CONTENIDO: 100 g
MUESTREO POR: CLIENTE
OBSERVACIONES: Los resultados que constan en el presente informe se refieren a la muestra tomada por el cliente y entregada al OSP.

INFORME

PARÁMETROS	UNIDADES	RESULTADOS	METODO
MANGANESO	mg/kg	2069	ABSORCIÓN ATÓMICA



Dra. Jenny Murillo

JEFE AREA DE QUÍMICA AMBIENTAL



Dirección: Francisco Viteri s/n y Gilberto Gato Sobral
Web: www.facquimuce.edu.ec

Teléfonos: 2502-262 / 2502-456, ext.15,18, 21, 33, 31 Telefax: 3216-740
e-mail: laboratoriososp@hotmail.com



**OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS
UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR**



**LABORATORIO DE QUIMICA AMBIENTAL
INFORME DE RESULTADOS**

INF-LAB-QAM-24202
ORDEN DE TRABAJO No 032024

SOLICITADO POR: ARMIJOS RAMIRO
DIRECCIÓN: EL PRADO CASA 8 VÍA CHONE
FECHA DE RECEPCION: 15/06/11
HORA DE RECEPCION: 12H10
MUESTRA DE: ALIMENTO BALANCEADO
DESCRIPCION: E447481
CÓDIGO: ----
LOTE: ----
FECHA DE ELABORACIÓN: ----
FECHA DE VENCIMIENTO: ----
FECHA DE ANALISIS: 15 AL 30/06/2011
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS A LA 01/07/11
SECRETARIA
CARACTERÍSTICAS DE LAS MUESTRAS. CARACTERISTICO
ESTADO: SÓLIDO
CONTENIDO: 100 g
MUESTREADO POR: CLIENTE
OBSERVACIONES: Los resultados que constan en el presente informe se refieren a la muestra tomada por el cliente y entregada al OSP.

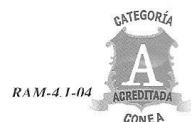
INFORME

PARÁMETROS	UNIDADES	RESULTADOS	METODO
MANGANESO	mg/kg	15	ABSORCIÓN ATÓMICA



Dra. Jenny Murillo
JEFE AREA DE QUÍMICA AMBIENTAL

2



Dirección: Francisco Viteri s/n y Gilberto Gato Sobral
Web: www.facquimuce.edu.ec

Teléfonos: 2502-262 / 2502-456, ext.15,18, 21, 33, 31 **Telefax:** 3216-740
e-mail: laboratoriososp@hotmail.com



**OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS
UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR**



**LABORATORIO DE QUIMICA AMBIENTAL
INFORME DE RESULTADOS**

INF-LAB-QAM-24201
ORDEN DE TRABAJO No 032024

SOLICITADO POR: ARMIJOS RAMIRO
DIRECCIÓN: EL PRADO CASA 8 VÍA CHONE
FECHA DE RECEPCION: 15/06/11
HORA DE RECEPCION: 12H10
MUESTRA DE: ALIMENTO BALANCEADO
DESCRIPCION: ESS410412
CÓDIGO: ----
LOTE: ----
FECHA DE ELABORACIÓN: ----
FECHA DE VENCIMIENTO: ----
FECHA DE ANALISIS: 15 AL 30/06/2011
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS A LA SECRETARIA: 01/07/11
SECRETARIA
CARACTERISTICAS DE LAS MUESTRAS. CARACTERISTICO
ESTADO: SÓLIDO
CONTENIDO: 100 g
MUESTREADO POR: CLIENTE
OBSERVACIONES: Los resultados que constan en el presente informe se refieren a la muestra tomada por el cliente y entregada al OSP.

INFORME

PARÁMETROS	UNIDADES	RESULTADOS	METODO
MANGANESO	mg/kg	13	ABSORCIÓN ATÓMICA



Dra. Jenny Murillo

JEFE AREA DE QUÍMICA AMBIENTAL

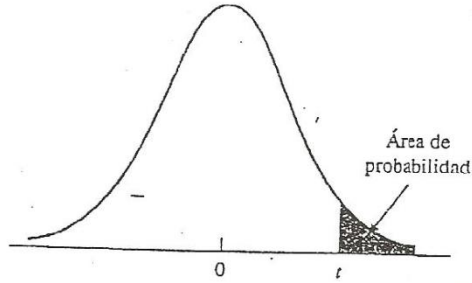


Dirección: Francisco Viteri s/n y Gilberto Gato Sobral
Web: www.facquimuce.edu.ec

Teléfonos: 2502-262 / 2502-456, ext,15,18, 21, 33, 31 Telefax: 3216-740
e-mail: laboratoriososp@hotmail.com

Anexo N°4: Valores críticos de t de student

TABLA 2 Distribución *t*



Los elementos de la tabla expresan los valores *t* para un área o probabilidad en el extremo superior de la distribución *t*. Por ejemplo, con 10 grados de libertad y .05 de área en el extremo superior, $t_{.05} = 1.812$.

Grados de libertad	Área en el extremo superior				
	.10	.05	.025	.01	.005
1	3.078	6.314	12.706	31.821	63.657
2	1.886	2.920	4.303	6.965	9.925
3	1.638	2.353	3.182	4.541	5.841
4	1.533	2.132	2.776	3.747	4.604
5	1.476	2.015	2.571	3.365	4.032
6	1.440	1.943	2.447	3.143	3.707
7	1.415	1.895	2.365	2.998	3.499
8	1.397	1.860	2.306	2.896	3.355
9	1.383	1.833	2.262	2.821	3.250
10	1.372	1.812	2.228	2.764	3.169
11	1.363	1.796	2.201	2.718	3.106
12	1.356	1.782	2.179	2.681	3.053
13	1.350	1.771	2.160	2.650	3.012
14	1.345	1.761	2.145	2.624	2.977
15	1.341	1.753	2.131	2.602	2.947
16	1.337	1.746	2.120	2.583	2.921
17	1.333	1.740	2.110	2.567	2.898
18	1.330	1.734	2.101	2.552	2.878
19	1.328	1.729	2.093	2.539	2.861
20	1.325	1.725	2.086	2.528	2.845
21	1.323	1.721	2.080	2.518	2.831
22	1.321	1.717	2.074	2.508	2.819
23	1.319	1.714	2.069	2.500	2.807
24	1.318	1.711	2.064	2.492	2.797
25	1.316	1.708	2.060	2.485	2.787
26	1.315	1.706	2.056	2.479	2.779
27	1.314	1.703	2.052	2.473	2.771
28	1.313	1.701	2.048	2.467	2.763
29	1.311	1.699	2.045	2.462	2.756
30	1.310	1.697	2.042	2.457	2.750
40	1.303	1.684	2.021	2.423	2.704
60	1.296	1.671	2.000	2.390	2.660
120	1.289	1.658	1.980	2.358	2.617
∞	1.282	1.645	1.960	2.326	2.576

Esta tabla se reproduce con autorización de la Imprenta de la Universidad de Oxford, a cargo de Biometrika Trustees, de la tabla 12, Puntos Porcentuales de la distribución *t*, por E. S. Pearson y H. O. Hartley, *Biometrika Tables for Statisticians*, Vol. 1, 3ª Ed., 1966.

Anexo N°4: Informe de resultados para homogeneidad de mezclado



PRONACA NEGOCIO PECUARIO

TEST DE HOMOGENEIDAD DE MEZCLADO

Reporte No:	N/A	Fecha Recepción	20/03/2009
Solicitado por:	Planta Durán	Fecha Entrega	30/03/2009

Método **Espec. AA.**

Valores		Resultado		
125,3		Mezcla homogénea		
128,75				
104,15				
118,525		Media	Coef. Variación	# Datos
124,15		115,1	8,9	10
102,675				
113,6				
100,25				
111,2				
122,3				
		Valor Esperado		
		120ppm		

OBSERVACIONES

Valores corresponden a Manganeso en ppm

Solicitado por:

Realizado por:

C. López M.

Anexo N°5: Información sobre el estándar de Manganeso



119780 Manganeso solución patrón
 trazable a SRM de NIST (Mn(NO₃)₂ en HNO₃ 0,5 mM) 1000 mg/l Mn Cont.PUR®

Para propuestas en general por favor contactar a nuestro Servicio de Atención al Cliente.
 Merck KGaA
 Frankfurter Str. 250
 64293 Darmstadt
 Germany
 Teléfono: +49 6151 72-0
 Fax: +49 6151 72-2000

10 diciembre 2010

Número de producto	Embalaje	Tamaño	Precio
1197800100	Frasco, plástico	100 ml	Precio sobre pedido
1197800300	Frasco, plástico	500 ml	Precio sobre pedido

Los precios están sujetos a cambios sin notificación.

Productos alternativos:	Accesorios
110330 Manganeso patrón CP	116735 Solución tampón de cloruro de sodio y cloruro de litio
110332 Manganeso patrón CP	100441 Ácido nítrico 65%

Información sobre producto
 Número HS 3822 00 00

Datos químicos y físicos
 Solubilidad en agua (20 °C) soluble
 Densidad 1,014 g/cm³ (20 °C)
 Valor de pH 0,5 (H₂O, 20 °C)

Información de seguridad
 Frase R R 31/03
 Irritación leve y/o piel.
 Frase S S 26
 Evitar el contacto con los ojos. Lavarse inmediatamente y abundantemente con agua y jabón si se cae en los ojos.
 Características de peligrosidad Irritante
 Hazard Symbol

Clase de almacenamiento
 8.9 No combustibles, sustancias corrosivas
 W08
 Ningún riesgo para el agua
Dipositió
 Soluciones acuosas: categoría D.

Información de transporte
 Clasificación (Transporte) UN 3294, Líquido corrosivo, inorgánico, ácido, n.o.s. (cont. ácido nítrico) (ENVH), (líquido) ADR RID SA PETERSAUREGEMISCHT, 8, II
 Clasificación (Transporte marítimo) IMDG-Code UN 3294 CORROSIVE LIQUID, ACIDIC, INORGANIC, N.O.S. (CONT. NITRIC ACID NOT MORE THAN 5%), 8, II, Segregable Group: 1, A093
 Clasificación (Transporte aéreo) IATA-DCR UN 3294 CORROSIVE LIQUID, ACIDIC, INORGANIC, N.O.S. (CONT. NITRIC ACID SOLUTION), 8, II
especificaciones
 Concentración: 8 (Mn) 990 - 1010 mg/l
 Determinación método: Complejométrico titration. (reconvertible to INST - SRM 682) Accuracy of the method: ± 2 mg/l

© Merck KGaA, Darmstadt, Alemania. allmerck@pannet.com.ar, 2010

Anexo N°6: Análisis de Varianza (ANOVA) de las muestras de PUEMBO

ESTABILIDAD DEL PROCESO												
Muestra	Iniciador-793			Engorde 3-481			Engorde 3-087			Concentrado Ponedora-254		
	Medició n	% Error	Valor Z	Medició n	% Error	Valor Z	Medició n	% Error	Valor Z	Medició n	% Error	Valor Z
1	129,60	1,8%	0,01	16,50	0,0%	0,59	119,80	4,2%	-0,08	266,13	6,5%	1,54
2	121,95	7,6%	-0,72	17,04	3,3%	1,23	120,65	3,5%	0,00	221,34	11,5%	-1,45
3	131,95	0,0%	0,23	16,27	1,4%	0,32	123,85	0,9%	0,29	233,52	6,6%	-0,64
4	141,40	7,1%	1,12	15,80	4,2%	-0,24	114,93	8,1%	-0,51	259,71	3,9%	1,11
5	138,25	4,7%	0,83	16,27	1,4%	0,32	129,46	3,6%	0,79	246,76	1,3%	0,24
6	128,60	2,6%	-0,09	17,39	5,4%	1,64	102,15	18,3%	-1,65	231,72	7,3%	-0,76
7	134,94	2,2%	0,51	15,11	8,4%	-1,05	107,40	14,1%	-1,18	254,34	1,7%	0,75
8	106,65	19,2%	-2,17	15,58	5,6%	-0,50	128,35	2,7%	0,69	252,17	0,9%	0,61
9	121,95	7,6%	-0,72	14,76	10,5%	-1,47	118,68	5,1%	-0,18	239,01	4,4%	-0,27
10	140,05	6,1%	1,00	15,30	7,3%	-0,83	141,30	13,0%	1,84	226,25	9,5%	-1,12
VALOR ESPERADO	132,00			16,50			125,00			250,00		

PARÁMETROS ESTADÍSTICOS				
MUESTRA	Iniciador-793	Engorde 3-481	Engorde 3-087	Concentrado Ponedora-254
Desviación Estándar	10,55	0,85	11,20	15,00
Promedio	129,53	16,00	120,66	243,10
Coefficiente de Variación	8,1%	5,3%	9,3%	6,2%

Conclusión Valor Z

En la producción de los productos: Iniciador 793, Engorde 3-481, Engorde 3-087 y concentrado ponedora 254, presentan valores comprendidos $-3 < X < 3$, trabajando al 95% de confianza, lo que evidencia que la variabilidad existente en los procesos no son debido, a errores aleatorios asociados a datos atípicos que se encontrarían fuera $-3 < X < 3$.

Hipótesis Nula (H0):	No existen diferencias entre las concentraciones de los 4 productos
Hipótesis Alternativa (H1):	Existen diferencia entre las concentraciones de los 4 productos
Si $F <$ Valor crítico se acepta H0; caso contrario se descarta	

Análisis de varianza de Magnitud

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Iniciador-793	10	1295,34	129,534	111,3341156
Engorde 3-481	10	160,02	16,002	0,716173333
Engorde 3-087	10	1206,57	120,657	125,4113789
Concentrado Ponedora-254	10	2430,95	243,095	224,8555389

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	258448,451	3	86149,48366	745,3712076	1,92041E-32	2,866265551
Dentro de los grupos	4160,85486	36	115,5793017			
Total	262609,3058	39				

Interpretación: El valor de $F >$ F crítico por lo tanto se descarta la hipótesis nula, que evidencia que los 4 productos analizados presentan diferencias estadísticamente significativas, dado que la magnitud evaluada "concentración" no es semejante entre productos, sino más bien característica y única en cada producto.

Análisis de varianza de Exactitud

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Iniciador-793	10	0,590454545	0,059045455	0,002903749
Engorde 3-481	10	0,475151515	0,047515152	0,001134186
Engorde 3-087	10	0,7332	0,07332	0,003394465
Concentrado Ponedora-254	10	0,535	0,0535	0,001265038

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0,003655009	3	0,001218336	0,560319652	0,644661114	2,866265551
Dentro de los grupos	0,078276941	36	0,002174359			
Total	0,08193195	39				

Interpretación: El valor de $F < F$ crítico acepta la hipótesis nula, que establece que los 4 productos analizados no presentan diferencias estadísticamente significativas, dado que la magnitud evaluada "Exactitud" asociada a % Error calculado, no es diferente entre los diferentes productos, la variabilidad existente entonces se puede atribuir a errores de tipo sistemático dentro de la producción.

Anexo N°7: Análisis de Varianza (ANOVA) de las muestras de QUEVEDO

ESTABILIDAD DEL PROCESO												
Muestra	Engorde 3 Pellet 929			Engorde 3 Polvo-333			Engorde 3 Rel-476			Engorde 4-209		
	Medició n	% Error	Valor Z	Medició n	% Error	Valor Z	Medició n	% Error	Valor Z	Medició n	% Error	Valor Z
1	189,60	2,8%	-0,05	94,50	17,8%	-1,43	96,80	12,0%	-0,84	116,13	3,2%	0,05
2	176,95	9,3%	-1,24	107,04	6,9%	-0,08	110,65	0,6%	1,70	104,54	12,9%	-1,61
3	203,71	4,5%	1,27	117,57	2,2%	1,05	103,85	5,6%	0,45	123,52	2,9%	1,10
4	201,30	3,2%	1,04	110,80	3,7%	0,32	95,30	13,4%	-1,12	119,71	0,2%	0,56
5	171,07	12,3%	-1,79	121,37	5,5%	1,45	103,98	5,5%	0,48	113,76	5,2%	-0,29
6	192,41	1,3%	0,21	117,41	2,1%	1,03	102,15	7,1%	0,14	121,72	1,4%	0,85
7	184,86	5,2%	-0,50	109,61	4,7%	0,19	102,40	6,9%	0,19	105,14	12,4%	-1,53
8	195,65	0,3%	0,51	96,78	15,8%	-1,18	98,35	10,6%	-0,56	122,87	2,4%	1,01
9	200,10	2,6%	0,93	104,76	8,9%	-0,33	107,13	2,6%	1,06	119,45	0,5%	0,52
10	186,05	4,6%	-0,39	98,30	14,5%	-1,02	93,30	15,2%	-1,49	111,25	7,3%	-0,65
VALOR ESPERADO	195,00			115,00			110,00			120,00		

PARÁMETROS ESTADÍSTICOS				
MUESTRA	Engorde 2-412	Engorde 2-077	Engorde 3-113	Engorde 3-077
Desviación Estándar	10,68	9,33	5,44	6,98
Promedio	190,17	107,81	101,39	115,81
Coefficiente de Variación	5,6%	8,6%	5,4%	6,0%

Conclusión Valor Z

En la producción de los productos Engorde 3 Pellet 929, Engorde 3 Polvo 333, Engorde 3 Rel 476 y Engorde 4-209, presentan valores comprendidos $-3 < X < 3$, trabajando al 95% de confianza, lo que evidencia que la variabilidad existente en los procesos no son debido, a errores aleatorios asociados a datos atípicos que se encontrarían fuera $-3 < X < 3$.

Hipótesis Nula (H0):	No existen diferencias entre las concentraciones de los 4 productos
Hipótesis Alternativa (H1):	Existen diferencia entre las concentraciones de los 4 productos
Si $F <$ Valor crítico se acepta H0; caso contrario se descarta	

Interpretación: El valor de $F >$ F crítico por lo tanto se descarta la hipótesis nula, que evidencia que los 4 productos analizados presentan diferencias estadísticamente significativas, dado que la magnitud evaluada "concentración" no es semejante entre productos, sino más bien característica y única en cada producto.

Análisis de varianza de Magnitud							
RESUMEN							
<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>			
Engorde 3 Pellet 929	10	1901,7	190,17	113,9928			
Engorde 3 Polvo-333	10	1078,14	107,814	86,95818222			
Engorde 3 Rel-476	10	1013,91	101,391	29,54427667			
Engorde 4-209	10	1158,09	115,809	48,73729889			
ANÁLISIS DE VARIANZA							
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>	
Entre grupos	51267,08394	3	17089,02798	244,7999347	5,39134E-24	2,866265551	
Dentro de los grupos	2513,09302	36	69,80813944				
Total	53780,17696	39					

Análisis de varianza de Exactitud

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Engorde 3 Pellet 929	10	0,460615385	0,046061538	0,001322115
Engorde 3 Polvo-333	10	0,82226087	0,082226087	0,003401388
Engorde 3 Rel-476	10	0,794454545	0,079445455	0,002234583
Engorde 4-209	10	0,484416667	0,048441667	0,002132491

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0,011345948	3	0,003781983	1,664133085	0,191959347	2,866265551
Dentro de los grupos	0,081815198	36	0,002272644			
Total	0,093161146	39				

Interpretación: El valor de $F < F$ crítico acepta la hipótesis nula, que establece que los 4 productos analizados no presentan diferencias estadísticamente significativas, dado que la magnitud evaluada "Exactitud" asociada a % Error calculado, no es diferente entre los diferentes productos, la variabilidad existente entonces se puede atribuir a errores de tipo sistemático dentro de la producción.

Anexo N°8: Análisis de Varianza (ANOVA) de las muestras de DURÁN

ESTABILIDAD DEL PROCESO												
Muestra	Engorde 2-412			Engorde 2-077			Engorde 3-113			Engorde 3-077		
	Medición	% Error	Valor Z	Medición	% Error	Valor Z	Medición	% Error	Valor Z	Medición	% Error	Valor Z
1	14,65	5,5%	-0,26	16,50	5,7%	-0,36	139,80	3,6%	1,69	117,13	0,7%	0,31
2	13,64	12,0%	-1,01	19,04	8,8%	1,46	121,65	9,9%	-1,58	111,34	5,6%	-0,58
3	13,89	10,4%	-0,82	16,27	7,0%	-0,53	127,85	5,3%	-0,46	112,52	4,6%	-0,40
4	13,99	9,7%	-0,75	16,80	4,0%	-0,15	134,23	0,6%	0,69	124,71	5,7%	1,48
5	15,46	0,3%	0,35	16,27	7,0%	-0,53	129,06	4,4%	-0,24	116,76	1,1%	0,26
6	16,68	7,6%	1,25	19,39	10,8%	1,72	132,15	2,1%	0,31	126,72	7,4%	1,79
7	14,94	3,6%	-0,04	18,11	3,5%	0,80	131,32	2,7%	0,16	114,34	3,1%	-0,12
8	15,79	1,9%	0,59	15,58	11,0%	-1,02	128,35	4,9%	-0,37	112,17	4,9%	-0,45
9	17,46	12,6%	1,83	16,76	4,2%	-0,17	123,53	8,5%	-1,24	109,01	7,6%	-0,94
10	13,45	13,2%	-1,15	15,30	12,6%	-1,22	136,21	0,9%	1,04	106,25	10,0%	-1,36
VALOR ESPERADO	15,50			17,50			135,00			118,00		

PARÁMETROS ESTADÍSTICOS				
MUESTRA	Engorde 2-412	Engorde 2-077	Engorde 3-113	Engorde 3-077
Desviación Estándar	1,35	1,39	5,55	6,49
Promedio	15,00	17,00	130,42	115,10
Coficiente de Variación	9,0%	8,2%	4,3%	5,6%

Conclusión Valor Z

En la producción de los productos Engorde 2-412, Engorde 2-077, Engorde 3-113 y Engorde 3-077, presentan valores comprendidos $-3 < X < 3$, trabajando al 95% de confianza, lo que evidencia que la variabilidad existente en los procesos no son debidos a errores aleatorios asociados a datos atípicos que se encontrarían fuera $-3 < X < 3$.

Hipótesis Nula (H0):	No existen diferencias entre las concentraciones de los 4 productos
Hipótesis Alternativa (H1):	Existen diferencia entre las concentraciones de los 4 productos
Si $F < \text{Valor crítico}$ se acepta H0; caso contrario se descarta	

Interpretación: El valor de $F > F \text{ crítico}$ por lo tanto se descarta la hipótesis nula, que evidencia que los 4 productos analizados presentan diferencias estadísticamente significativas, dado que la magnitud evaluada "concentración" no es semejante entre productos, sino más bien característica y única en cada producto.

Análisis de varianza de Magnitud							
RESUMEN							
<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>			
Engorde 2-412	10	149,95	14,995	1,815538889			
Engorde 2-077	10	170,02	17,002	1,936173333			
Engorde 3-113	10	1304,15	130,415	30,77240556			
Engorde 3-077	10	1150,95	115,095	42,17998333			
ANÁLISIS DE VARIANZA							
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>	
Entre grupos	115163,1552	3	38387,71839	2001,860022	4,37E-40	2,866265551	
Dentro de los grupos	690,33691	36	19,17602528				
Total	115853,4921	39					

Análisis de varianza de Exactitud

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Engorde 2-412	10	0,768387097	0,07683871	0,002176108
Engorde 2-077	10	0,746285714	0,074628571	0,001033738
Engorde 3-113	10	0,428666667	0,042866667	0,000928396
Engorde 3-077	10	0,507711864	0,050771186	0,000838594

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0,008697438	3	0,002899146	2,330111261	0,090660319	2,866265551
Dentro de los grupos	0,044791531	36	0,001244209			
Total	0,053488969	39				

Interpretación: El valor de $F < F$ crítico acepta la hipótesis nula, que establece que los 4 productos analizados no presentan diferencias estadísticamente significativas, dado que la magnitud evaluada "Exactitud" asociada a % Error calculado, no es diferente entre los diferentes productos, la variabilidad existente entonces se puede atribuir a errores de tipo sistemático dentro de la producción.

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Raquel Anabelli Armijos Montesinos, C.I 1721193397, autora del trabajo de graduación intitulado: “Determinación de manganeso por espectrometría de absorción atómica en alimentos balanceados para aves” previa a la obtención del grado académico de **LICENCIADA EN CIENCIAS QUÍMICAS – MENCIÓN QUÍMICA ANALÍTICA** en la **Facultad de Ciencias Exactas y Naturales**:

1. Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.
2. Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través de sitio web de La Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de Universidad.

Quito, 26 de septiembre de 2011

Srta. Raquel Armijos M.

C.I. 1721193397