

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA

Comparación de costos y de la exactitud en la medición de la proteína del sistema de análisis con espectroscopia infrarroja cercana (NIR) contra el sistema de análisis químico de referencia tradicional para la inspección de calidad de materias primas sólidas en concentrados alimenticios para animales

PROYECTO DE GRADUACIÓN SOMETIDO A LA CONSIDERACION DE LA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
COMO REQUISITO FINAL PARA OPTAR POR EL GRADO DE
LICENCIATURA EN INGENIERÍA QUÍMICA

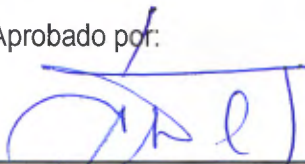
MARIELA HERRERA ZÚÑIGA

CIUDAD UNIVERSITARIA RODRIGO FACIO
SAN JOSÉ, COSTA RICA
2010

Proyecto de graduación presentado ante la Escuela de Ingeniería Química de la Universidad de Costa Rica, como requisito final para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería Química

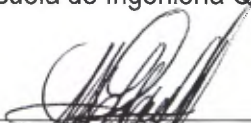
Sustentante: Mariela Herrera Zúñiga.

Aprobado por:



M Sc. Alvaro Flores Zamora
Director
Escuela de Ingeniería Química, UCR

Presidente del tribunal



Dr. Michael Chazón Scheidelaar
Profesor Asociado
Escuela de Ingeniería Química, UCR

Director del proyecto

Dr. Eduardo Rivera Porras
Profesor Instructor
Escuela de Ingeniería Química, UCR

Asesor del proyecto



M Sc. Alexander Vásquez Calvo
Profesor Adjunto
Escuela de Ingeniería Química, UCR

Asesor del proyecto



Ing. Carlos Campos López
Sub-Gerente General
Scanco

Miembro Invitado

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio
Febrero-2010

IMAGINE...
JOHN LENNON

A mis padres, por estar conmigo siempre que los he necesitado,
y darme las bases intelectuales, económicas y espirituales para llegar hoy hasta este punto.

A quienes han dedicado su trabajo a construir una
universidad gratuita y accesible a todos los sectores de la sociedad costarricense.

Agradecimientos

Al Dr. Michael Chacón S, gracias por toda la ayuda brindada en el desarrollo de este proyecto, por toda su disponibilidad en todo momento que necesité de su tiempo y de su asesoría, pero sobre todo gracias por su calidad humana.

Al Dr. Eduardo Rivera Porras, muchas gracias por todos sus conocimientos teóricos y prácticos que hoy los sigo utilizando en el día a día del trabajo.

Al MSc-Ing. Gerardo Chacón y al MSc-Ing. Alexander Vásquez, por toda la ayuda brindada durante el desarrollo de este proyecto.

A todos los profesores de la Escuela de Ingeniería Química, muchas gracias por haber construido en mí los cimientos para ser una profesional sin miedo a los retos en un mercado cada día más competitivo.

A la Licda. Marielos Torres del Centro de Investigación en Tecnología de Alimentos CITA y a la Licda. Lisbeth Rojas del Centro de Investigación en Nutrición Animal CINA, muchas gracias por toda su ayuda, por toda su asesoría en este proyecto y en otros proyectos personales.

Licda. Sandra Quirós del Laboratorio de Concentrados de Dos Pinos y en general a todo el personal del departamento de Calidad de Dos Pinos, por toda su ayuda y disponibilidad en el desarrollo de este proyecto.

Al Ing. Carlos Campos, Ing Antonio Smitter de Scanco, por haberme dado la oportunidad de trabajar con ustedes.

Sylvia, Kira, Rosita, Lili y Diego, muchas gracias por estar siempre conmigo en los momentos difíciles y en los felices. Adri, por toda tu ayuda, tu consejos y tu amistad, de verdad estoy segura nuestro proyecto va a ser un éxito.

A mi familia, gracias infinitas por toda su ayuda todos los días conmigo y con Jime, igualmente a la familia Padilla Canales, gracias por estar ahí cuando más lo necesite.

Resumen

En esta investigación, se tiene como objetivo general, comparar los costos de análisis y la exactitud en la medición de la proteína, utilizando el sistema de análisis mediante espectroscopia infrarroja cercana contra los costos, utilizando análisis tradicionales por medio del método vía húmeda para la inspección de materias primas sólidas en concentrados alimenticios para animales y determinar tanto su costo como su eficacia. En la mayoría de las empresas de alimentos concentrados alimenticios para aves, se utiliza como parámetro para pago de materias primas a proveedores, el porcentaje de proteína de la materia prima. Este porcentaje se verifica mediante el método *Kjeldahl*, para determinación de proteína según el método AOAC 979.09 2005

Se evalúa el método de análisis de materia prima mediante espectroscopia infrarroja cercana NIR, por sus siglas en inglés, como una opción confiable para el análisis bromatológico rápido, tomando en cuenta tanto la exactitud con el método de referencia aceptado a nivel mundial, como el ahorro en reactivos por ser innecesarios en esta técnica. Se cuantifican los gastos actuales que tiene el laboratorio por análisis tradicional, y por otro lado, se calcula el gasto en la compra del equipo y en su implementación. Se toman 6 materias primas y se realizan 10 mediciones, utilizando el espectrofotómetro NIR y 10 mediciones de la misma muestra en un digestor destilador tipo *Kjeldahl*, se plantea la hipótesis nula, se encuentra que excepto para la harina de soya, los resultados presentan diferencia significativa entre el resultado del método de referencia y el método NIR, por lo que es necesario realizar la validación de la curva y un ajuste de intercepto para los granos secos de destilería (DDGs por sus siglas en inglés), el maíz, la puntilla de arroz, el acemite y la semolina. Los resultados no tienen la exactitud del método de referencia, se necesita realizar el procedimiento de validación y ajustar a la curva de acuerdo con el documento ISO-DIS 120099 para bajar el error estándar de predicción del modelo para materias primas. Para el departamento de producción y nutrición, la velocidad de análisis del equipo es una ventaja, que compensa la pérdida de precisión, al menos para harina de soya no existe diferencia significativa entre métodos, cuando se analiza harina de soya con contenido de proteína de 48,48%, por lo tanto, se puede utilizar el análisis NIR como alternativa al análisis por el método tradicional. Adicionalmente, para la harina de soya, se recomienda realizar los análisis del método de referencia *Kjeldahl* bajo condiciones de baja humedad relativa y baja temperatura para prevenir resultados de porcentaje de proteína bajos, producto de la pérdida del amoníaco, que genera el proceso de reacción de la muestra digerida con el hidróxido de sodio.

El tiempo de retorno de la inversión que cuantifica los ahorros en reactivos es de 1,6 años, suponiendo un análisis proximal de 6 muestras de materia prima por día. Para el departamento de nutrición y producción, al reducir el margen de seguridad, para la formulación del alimento de las aves, se obtiene un ahorro en materias primas de 191 659 USD por año, incluyendo los costos de validación y ajuste del modelo de predicción utilizado para materias primas.

Se recomienda evaluar el modelo de predicción de subproductos de origen animal disponible para equipos NIR Infraxact. Las variaciones en proteína de estas materias primas tienen variaciones

mayores a las materias primas de origen vegetal. Finalmente, se recomienda también hacer una *evaluación del ahorro* en producto reprocesado fuera de la especificación en proteína, y comparar costos de producción de alimentos antes y después de implementar el equipo NIR.

Índice general

Comité evaluador	i
Epígrafe	ii
Dedicatoria	iii
Agradecimientos	iv
GENERALIDADES	1
1.INTRODUCCIÓN	1
1.1 INTRODUCCIÓN	
1.2 OBJETIVOS	4
2. FUNDAMENTO TEÓRICO	6
2.1 OPERACIÓN DE LA TÉCNICA NIR	6
2.2 MÉTODOS DE ANÁLISIS TRADICIONAL PARA INSPECCIÓN DE MATERIAS PRIMAS EN PLANTAS DE CONCENTRADOS.	9
2.3 BENEFICIOS Y DESVENTAJAS DEL USO DE LA TÉCNICA NIR EN PLANTAS DE CONCENTRADOS.	14
2.4 REQUISITOS PARA LA IMPLEMENTACIÓN DE UN EQUIPO NIR COMO PARTE DE LOS ANÁLISIS PARA INSPECCIÓN DE CALIDAD DE MATERIAS PRIMAS.	17
2.5 SOFTWARE DE ANÁLISIS Y CALIBRACIONES	
2.6 MATERIAS PRIMAS PARA LA FORMULACIÓN DE CONCENTRADOS PARA AVES	20
	26
3. DESCRIPCIÓN DEL PROCESO DE PRODUCCIÓN DE CONCENTRADOS	32
4. MATERIALES, EQUIPO Y METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	38
4.1 INTRODUCCIÓN	38
4.2 DEFINICIÓN DE VARIABLES	38
4.3 MÉTODOS DE ANÁLISIS	41
4.4 MATERIALES	42
4.5 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL PARA LA COMPARACIÓN DE MÉTODOS Y MODELO ESTADÍSTICO	44
4.6 PLANTEAMIENTO DE LA HIPÓTESIS	44
5. ANÁLISIS DE RESULTADOS EXPERIMENTALES, COMPARACIÓN DEL MÉTODO NIR CON EL MÉTODO TRADICIONAL KJELDAHL	46

6. EVALUACIÓN DE COSTOS DEL PROYECTO	54
7. MANUAL DE IMPLEMENTACIÓN Y OPERACIÓN PARA EL EQUIPO NIR	61
7.1 TÉRMINOS Y DEFINICIONES BÁSICAS	61
7.8 MONITOREO PERIÓDICO DE LA CALIBRACIÓN	68
7.9 ESTADÍSTICA PARA EL DESEMPEÑO DE LA CALIBRACIÓN	68
8.CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	
8.1 CONCLUSIONES	70
8.2 RECOMENDACIONES	71
9. BIBLIOGRAFÍA	73
10.NOMENCLATURA	76
APÉNDICE	
A. DATOS EXPERIMENTALES	78
B. MUESTRA DE CÁLCULO	82
C. PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES	83
ANEXOS	
A. RESULTADOS DE LABORATORIO	86

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 2.1	Requerimientos de instalación previos a la instalación del equipo NIR en el laboratorio.	19
Cuadro 2.2	Técnicas matemáticas, con su respectivo acrónimo en inglés, utilizadas en la quimiometría para desarrollo de calibraciones	23
Cuadro 2.3	Ámbitos cubiertos para diferentes parámetros en la calibración para materias primas desarrollada para Infraxact TM , reportados en base húmeda	24
Cuadro 2.4	Concentración total de aminoácidos y su digestibilidad en la harina de soya producida por INOLASA.	27
Cuadro 2.5	Concentración total proteína y aminoácidos digestibles en el maíz común utilizado en formulación para pollos	29
Cuadro 4.1	Materias primas empleadas en la etapa experimental	43
Cuadro 4.2	Reactivos utilizados en la determinación de proteína en materias primas	43
Cuadro 4.3	Equipo utilizado para la etapa experimental	44
Cuadro 5.1	Porcentaje de proteína obtenido con 2 diferentes técnicas de análisis y porcentaje de proteína garantizado por el proveedor de materias primas, para 6 materias primas de origen vegetal diferentes.	46
Cuadro 5.2	Resultados para la prueba de hipótesis planteada para evaluar si las medias del método de referencia y el método alternativo NIR son iguales, para un nivel de significancia de 95%	47
Cuadro 5.3	Resultados de variación en el contenido de proteína para un mismo lote de harina de soya, analizada por el método de referencia por combustión de Dumas y el equipo NIR	50
Cuadro 6.1	Evaluación de costos de inversión para la instalación y puesta en marcha del sistema de análisis NIR en la planta de alimentos para pollos	55
Cuadro 6.2	Evaluación económica costo de análisis tradicional para proteína, grasa, humedad , fibra, ceniza y almidón y tiempo de retorno de la inversión utilizando método por espectroscopia NIR.	58
Cuadro 6.3	Evaluación económica basada en el ahorro en formulación, utilizando equipo NIR como fuente de datos para formulación del alimento en tiempo real	59
Cuadro A.1	Pruebas de repetibilidad para acemite realizadas en paralelo utilizando el equipo NIR Infraxact Pro y método Kjeldahl	78
Cuadro A.2	Pruebas de repetibilidad para maíz realizadas en paralelo utilizando el equipo NIR Infraxact Pro y método Kjeldahl.	78
Cuadro A.3	Pruebas de repetibilidad para DDGs realizadas en paralelo utilizando el equipo NIR Infraxact Pro y método Kjeldahl	79
Cuadro A.4	Pruebas de repetibilidad para puntilla de arroz realizadas en paralelo utilizando el equipo NIR Infraxact Pro y método Kjeldahl.	79
Cuadro A.5	Pruebas de repetibilidad para semolina realizadas en paralelo utilizando el equipo NIR Infraxact Pro y método Kjeldahl.	80
Cuadro A.6	Pruebas de repetibilidad para harina de soya realizadas en paralelo utilizando el equipo NIR Infraxact Pro y método Kjeldahl.	80
Cuadro A.7	Pruebas de repetibilidad para harina de soya realizadas en paralelo utilizando el equipo NIR Infraxact Pro y método Kjeldahl en 2 laboratorios acreditados.	81
Cuadro A.8	Pruebas de repetibilidad para harina de soya realizadas en paralelo utilizando el equipo NIR Infraxact Pro y método de combustión de Dumas	81

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1	Espectro electromagnético, longitudes de onda y diferentes tipos de radiación.	7
Figura 2.2	Sistemas de detección de luz en equipos NIR	8
Figura 2.3	Espectros electromagnéticos de 10 muestras de harina de soya generada en un espectrofotómetro NIR Infraxact® utilizando el software WinISI IV.	9
Figura 2.4	Pasos para la determinación de nitrógeno orgánico, mediante el método de <i>Kjeldahl</i> .	11
Figura 2.5	Equipo NIR Infraxact utilizado en ese estudio, instalado de acuerdo a los requerimientos de instalación mencionados en el Cuadro 2.1	20
Figura 2.6	Pantalla ISIScan, programa de análisis de rutina para Espectrofotómetros NIR de Foss	22
Figura 2.7	Porcentaje de proteína en harina de carne y hueso, para diferentes lotes, Recibidos durante el periodo 2008-2009.	30
Figura 3.1	Diagrama de bloques para el proceso de inspección de calidad de materia prima.	33
Figura 3.2	Diagrama de bloques para el proceso de producción de alimentos concentrados.	36
Figura 3.3	Integración de los departamentos en la planta de producción de alimento balanceados para aves, basado en los resultados rápidos generados con el equipo NIR.	37
Figura 5.1	Resultados de laboratorio para harina de soya, muestras medidas con método NIR, Kjeldahl y sistema de combustión Dumas.	49
Figura 5.2	Resultados de laboratorio para DDGs, muestras medidas con método NIR y con el método Kjeldahl , porcentaje de proteína certificado por el proveedor 26.0% de proteína.	51
Figura 5.3	Resultados de determinación de proteína en 10 muestras de harina de soya con 2 diferentes métodos de referencia y el método NIR	52
Figura 7.1	Celda para producto molido del equipo NIR (izquierda) y tapa para compactar la muestra.	66
Figura 7.2	Equipo NIR con pantalla táctil integrada para ser utilizado al lado de la línea de producción	67

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

La alimentación, como necesidad básica de los seres humanos, genera demandas crecientes en las plantas de alimentos; en esta investigación en particular, se busca mejorar la eficiencia productiva de las plantas avícolas, con el fin de tener mayor control desde el inicio del proceso, en el cual se involucran materias primas de diferentes proveedores hasta la liberación del producto terminado.

1.1 INTRODUCCIÓN

Dentro de las plantas de producción de alimentos para animales, es imprescindible, el análisis químico de las materias primas y del producto terminado, los parámetros como la proteína, la grasa, la fibra y la humedad, los aminoácidos totales y/o digestibles, la energía disponible son parámetros utilizados, tanto para el pago de materias primas, la formulación de los alimentos a partir de ellas, al igual que para la verificación del producto dentro de las especificaciones del nutricionista y el etiquetado nutricional.

Conforme crece la población, aumenta simultáneamente la demanda de alimento y con ello, la demanda de análisis por parte de los laboratorios de control de calidad de las plantas se incrementan; como resultado de este proceso, se produce un mayor consumo de ácidos, solventes orgánicos, y otros reactivos utilizados en los métodos de análisis tradicionales de rutina para materias primas, en los laboratorios de las plantas. En búsqueda de soluciones para hacer más amigable con el ambiente, estos análisis, unido a la necesidad de hacer mínimo el riesgo de manipulación de estos reactivos peligrosos por parte del analista, al igual que una mayor rapidez de análisis para llegar a tener proceso de comunicación más dinámico con el área de producción y nutrición, implica la evaluación de nuevas técnicas de análisis químico como sustituto de los métodos tradicionales.

Las principales plantas de producción de alimentos para animales dentro de Centroamérica, el Caribe y Suramérica compran varias de sus materias primas de origen vegetal a proveedores en Estados Unidos y Canadá, principalmente el trigo y sus subproductos, el maíz, la soya y los *DDGs* (granos secos de destilerías por sus siglas en inglés). Estas materias primas se analizan por el

laboratorio para verificar su composición y respaldar posibles quejas a los proveedores, relacionadas con el contenido de proteína de los productos comprados por la planta. Por otro lado, esta información la requiere también el departamento de producción y los especialistas en nutrición animal, los cuales utilizan diferentes formulaciones de acuerdo con las necesidades de los animales en las granjas: gallinas ponedoras, reproductoras, de engorde, etc. Estos análisis y divulgar la información con los resultados del laboratorio, entre todas las partes interesadas en el proceso productivo, debe llevarse a cabo en el menor tiempo posible, para poder aceptar o rechazar embarques de materias primas, al igual que para realizar la formulación con datos reales de composición de materias primas.

La rapidez en el tiempo de respuesta de análisis es una de las ventajas de la tecnología NIR; puede verse como una vía para aliviar la carga del laboratorio, ocupándose del grueso de trabajo de análisis, dejando que el laboratorio se centre más en nuevos proyectos de investigación que mejoren los procesos de control de la seguridad alimentaria dentro de la planta, por ejemplo, implementar nuevos análisis para metales pesados, micotoxinas o implementación de buenas prácticas de manufactura en la planta.

La técnica NIR permite el análisis de materias primas y de productos terminados. Los parámetros críticos para pago a proveedores y para la formulación de producto como el porcentaje de proteína, grasa, fibra, cenizas, etc., se miden simultáneamente en menos de un minuto. Los resultados analíticos registrados en el equipo, evitan el registro manual y no existe la necesidad de digitar, todo entra directamente al programa de software que controla el equipo, se genera mayor trazabilidad del análisis bromatológico, tanto para sistemas de pago a proveedores de materia prima como garantía de calidad a los clientes.

El *software* que controla el equipo posee varios niveles de seguridad, por tanto, los resultados estimados por el NIR no pueden ser cambiados o borrados, esto asegura a la planta y a los proveedores de materias primas que la información del análisis químico está libre de error o manipulación.

Este tipo de tecnología también responde a la presión mundial de protección del ambiente, al no usar ningún reactivo para el análisis y al simplificar el volumen de residuos que deben ser tratados posteriormente, en la planta de tratamiento de desechos de la planta. Por ejemplo, un simple análisis de proteína mediante el método *Kjeldahl*, utiliza sustancias corrosivas que implican riesgo de daños a la salud y al ambiente: Ácido sulfúrico concentrado, ácido bórico, hidróxido de sodio y finalmente, ácido clorhídrico. Todos estos análisis generan desechos que deben ser tratados por las plantas de tratamiento de desechos antes de descartarlos. Una debilidad del mercado centroamericano es la ausencia de regulaciones ambientales tan estrictas como las de Estados Unidos o la Unión Europea, para que se busquen y utilicen alternativas de análisis que sean cada vez más amigables con el ambiente; es común en el área, ver laboratorios que usan métodos tradicionales inclusive, únicamente, con equipos de cristalería que consumen volúmenes de reactivo 2 o 3 veces que los equipos semiautomáticos.

Es posible, sustituir los análisis por métodos tradicionales utilizados por más de 100 años, por análisis mediante la técnica NIR, con la ventaja de que todo se hace a menor costo, en menos de un minuto, aplicando una técnica no destructiva, es decir, manteniendo la integridad de la muestra. Adicionalmente, puede ser utilizado por el departamento de producción para conocer la composición de macronutrientes de las materias primas, antes de realizar la formulación del producto, bajar el ámbito de operación, cuando se formula, ya sea con base en proteína total, o más recientemente bajo el concepto “proteína ideal”, mediante los aminoácidos digeribles, este es un parámetro crítico para el proceso de desarrollo del ave y garantiza una retención máxima de proteína en los pollos de engorde, cuando estos aminoácidos deben adicionarse de forma sintética al alimento, aumenta el costo dentro del proceso de producción: los aminoácidos sintéticos como lisina, metionina, triptófano o treonina, también se miden mediante equipos NIR para determinar la disponibilidad de aminoácidos en las harinas de origen animal y vegetal [Leclercq, 2006].

El uso de datos más reales, cuando es posible analizar muestras de forma continua, permite eliminar los tiempos muertos de producción y la necesidad de reprocesar productos que se encuentren fuera de especificación. Unido a lo anterior, el aumento creciente en los precios de las materias primas como consecuencia directa de la producción de biocombustibles hace imprescindible un mayor control en la inspección de calidad del insumo y la formulación del alimento.

Sin embargo, uno de los puntos críticos que evaluará el presente estudio, es la capacidad de la tecnología NIR para tener la misma confiabilidad que posee el laboratorio, cuando se realizan los análisis mediante un método primario: la misma exactitud, la precisión y la versatilidad para diferentes muestras. Existe la necesidad en las plantas de Centroamérica de realizar estudios de prefactibilidad, dentro de empresas locales, donde existen características muy particulares dentro del proceso de producción, control de calidad y gerencia del proceso para poner en marcha este tipo de equipos, lo cual asegura a los usuarios, datos no solo rápidos, sino confiables. Existe la necesidad de respaldar con datos numéricos los beneficios de la tecnología NIR, incluyendo ahorros en mano de obra del laboratorio, ahorro en reactivos y ahorros en tiempos de reproceso, para la justificar la inversión, en esta clase de tecnología.

1.2 OBJETIVOS

El objetivo general del proyecto es evaluar los costos asociados a análisis tradicional para la inspección de calidad de materias primas y el ahorro generado por el uso la tecnología NIR en la planta de producción, por otro lado dado que las calibraciones o modelos de predicción heredan el error de los métodos de referencia se compara la exactitud del método NIR con el análisis *Kjeldahl* de referencia.

1.2.1. Objetivo general

Comparar los costos de análisis y la exactitud en la medición de la proteína, utilizando el sistema de análisis mediante espectroscopía infrarroja cercana contra los costos utilizando análisis tradicionales mediante el método vía húmeda para la inspección de materias primas sólidas, en concentrados alimenticios para animales y determinar tanto su costo como su eficacia.

1.2.2 Objetivos Específicos

Los objetivos específicos del proyecto son:

- Realizar un estudio bibliográfico acerca de los métodos de análisis para control de calidad para grasa, proteína, fibra y humedad durante el proceso de producción en plantas avícolas,

tecnología NIR, sus ventajas, desventajas, requisitos para la implementación y software de análisis.

- Confeccionar el diagrama de flujo del proceso de producción de concentrados alimenticios para aves.
- Describir el proceso de producción de alimentos concentrados para aves, detallando los puntos donde se utiliza un equipo analizador NIR.
- Evaluar la exactitud en la medición de la proteína en 5 materias, utilizando el método NIR, tomando como referencia los valores obtenidos en el método de referencia.
- Evaluar los costos de análisis de materia prima por el método de análisis tradicional para proteína, grasa, humedad y fibra.
- Evaluar los costos de análisis de materia prima por el método NIR
- Calcular el periodo de pago de la inversión con los datos generados en los dos objetivos anteriores.
- Redactar un manual de operación para implementar el nuevo método de análisis propuesto.

El objetivo general y los objetivos específicos planteados en este capítulo delimitan el alcance de esta investigación. A continuación, en el Capítulo 2 se plantean los principios de funcionamiento de la tecnología NIR y las ventajas de este tipo de tecnología, se estudia el procedimiento que plantea los métodos de referencia, para el análisis de materias primas y alimentos terminados en las plantas de alimentos para aves, los requerimientos físicos del laboratorio donde se instalara este equipo y las materias primas de origen vegetal y animal, que se utilizan en la formulación del alimento balanceado para las aves que posteriormente será enviado a las granjas, la correcta formulación del alimento basada en la cantidad de aminoácidos disponibles a partir de las materias primas utilizadas debe permitir que el ave llegue al final del proceso de engorde al peso objetivo, para que el proceso de producción de carne tenga la rentabilidad esperada por el productor.

CAPÍTULO 2

PRINCIPIOS DE LA TECNOLOGÍA NIR Y LOS MÉTODOS DE ANÁLISIS TRADICIONALES PARA CONTROL DE CALIDAD EN EL PROCESO DE PRODUCCIÓN DE ALIMENTOS PARA AVES

El descubrimiento de la región espectral del infrarrojo cercano se atribuye a Sir William Hersche, cuando en el año 1800, examinó la radiación infrarroja a través de la medida de temperatura de los colores creados por el paso de la luz solar a través de un prisma.

2.1 OPERACIÓN DE LA TÉCNICA NIR

“La región del infrarrojo comprende el intervalo dentro 780 nm y 10^6 nm. Según el fenómeno espectroscópico que provoca la absorción de la energía por parte de la materia, se puede dividir esta región en 3 zonas” [Alcalá, 2006]:

Infrarrojo cercano (NIR): 780-2500nm

Infrarrojo medio (MIR): 2500- 4×10^4 nm

Infrarrojo lejano (FIR): 4×10^4 - 10^6 nm

Una molécula absorbe radiación infrarroja, cuando experimenta un cambio neto en el momento dipolar, como consecuencia de su movimiento de vibración y/o rotación. Si esto ocurre, el campo eléctrico asociado a la radiación, puede interaccionar con el campo eléctrico, originado por la fluctuación del momento dipolar de la molécula. Si la frecuencia de la radiación iguala exactamente a la frecuencia de vibración natural de la molécula, ocurre una transferencia neta de energía que da lugar a un cambio en la amplitud de vibración molecular, y como consecuencia, se absorbe la radiación [Alcalá, 2006].

NIR viene de las palabras en inglés, *Near InfraRed*, es decir, infrarrojo cercano que es la parte del espectro electromagnético denominada así, por estar muy cerca de la parte visible. Con base en años de experiencia, se concluyó que esta región del espectro electromagnético es, donde se hallan mejores respuestas a la luz de ciertos enlaces o grupos químicos (C-H, O-H, N-H, S-H), y en donde existe mayor información y experiencia en infrarrojo. Esto es particularmente cierto para aplicaciones

en *productos naturales* y la industria alimenticia, tanto para materias primas, como para producto terminado [Alcalá, 2006]. En la Figura 2.1, se muestra la región del espectro electromagnético a la que se hace referencia.

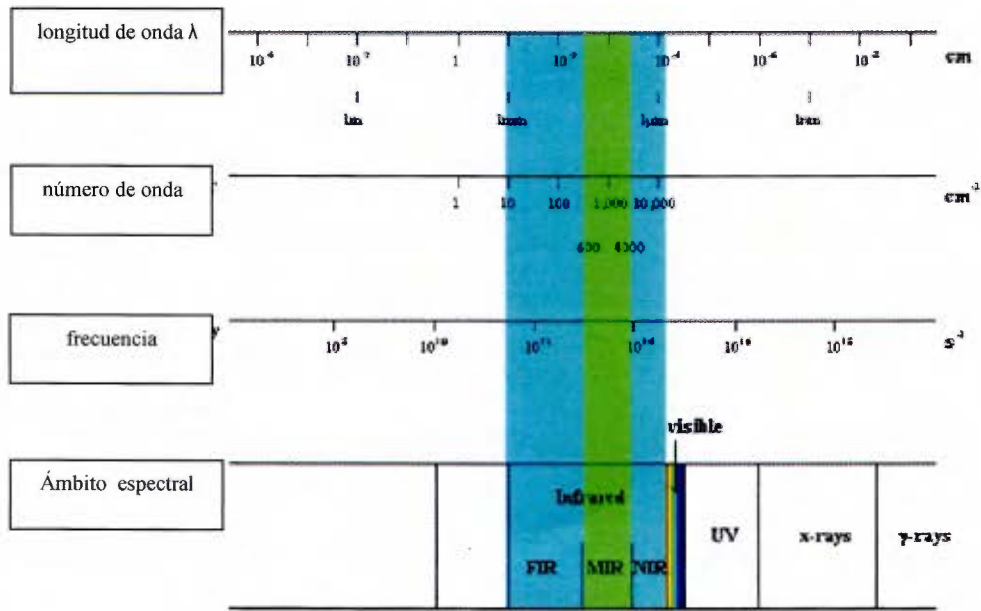


Figura 2.1. Espectro electromagnético, longitudes de onda y diferentes tipos de radiación.

La técnica por análisis mediante espectrofotometría cercana infrarroja, consiste en emitir un rayo de luz monocromática para que atraviese la muestra líquida o se proyecte sobre la muestra sólida, como se presenta en la Figura 2.2. La porción de luz que no se absorbe por la muestra, se transmite o refleja y se recoge por medio de detectores ubicados en el monocromador del equipo. Esta información en los detectores se envía a la tarjeta electrónica del sistema y con ella, se construye un espectro de la muestra, el cual se almacena en la memoria del computador.

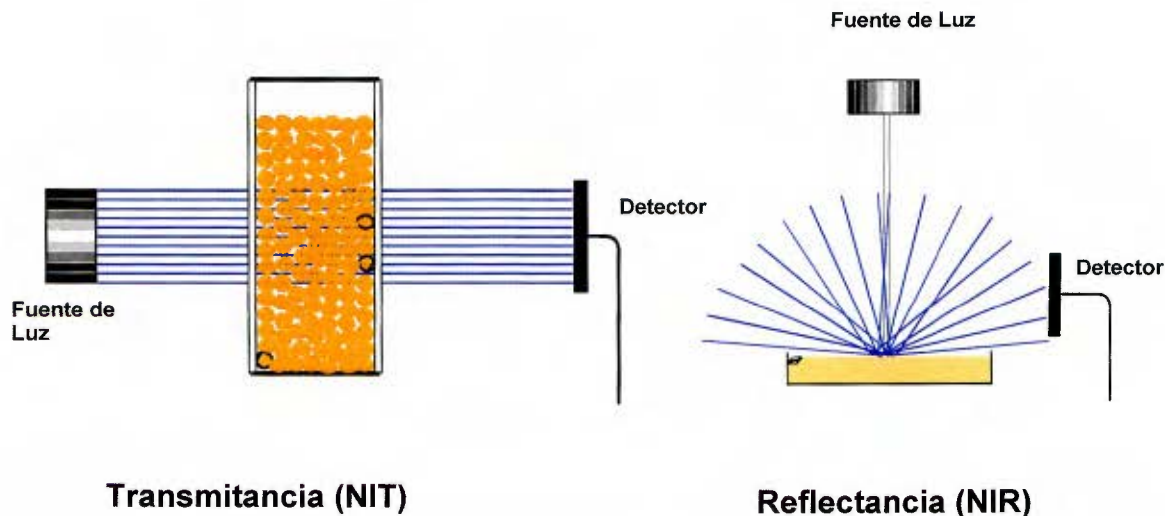


Figura 2.2. Sistemas de detección de luz en equipos NIR.

El análisis por la técnica NIR es indirecto, esto quiere decir que se necesita inicialmente el soporte de métodos tradicionales de análisis de laboratorio para alimentar el software, o sea, para un espectro de una muestra dada, se introducen los valores de los parámetros medidos por el laboratorio. Entre mejores sean los datos de referencia, mejores serán las mediciones del equipo NIR. Una vez que el software capture suficiente información (de 50 á 200 muestras con su respectivo valor de referencia, dependiendo de lo complejo de la matriz analizada y de la homogeneidad o heterogeneidad de la muestra), este realiza una correlación entre la “forma” del espectro de la muestra, como el que se muestra en la Figura 2.3 y los datos del laboratorio, mediante métodos matemáticos como regresión multi lineal, mínimos cuadrados, análisis de discriminante disponibles en el software del equipo.

Luego de aplicar métodos matemáticos y estadísticos avanzados, el software genera una ecuación también llamada calibración, que busca predecir o correlacionar de la mejor manera posible, los resultados de los análisis de las muestras. En estas calibraciones, se desarrollan una para cada una de las materias primas: la harina de soya, los DDGs, el maíz y productos terminados: concentrados para pollos de engorde, gallinas reproductoras, gallinas ponedoras, para cada uno de los grupos antes mencionados, existen diferentes fases de alimento, cuya formulación depende de las necesidades de aminoácidos, según la etapas de crecimiento de las aves.

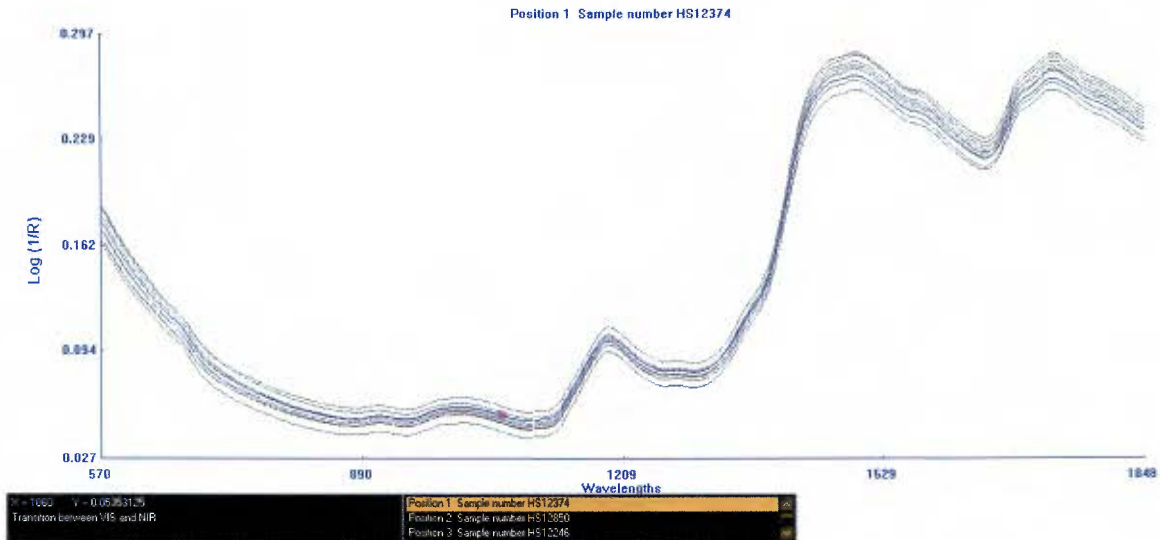


Figura 2.3. Espectros electromagnéticos de 10 muestras de harina de soya generada en un espectrofotómetro NIR Infracact® utilizando el software WinISI IV.

Una vez que el equipo calcula los parámetros que se le han definido, existe la posibilidad de que estos se almacenen o se graben en formato de texto(.txt) o Excel(.xls) para ser incorporados, ya sea a un programa de pagos a proveedores, o a uno de control de procesos para el proceso de formulación de alimentos como el sistema de *software* Brill®. Lo anterior elimina la posibilidad de errores, debido a repetidas digitaciones de datos y genera simultáneamente, una mayor trazabilidad del proceso.

2.2 MÉTODOS DE ANÁLISIS TRADICIONAL PARA INSPECCIÓN DE MATERIAS PRIMAS EN PLANTAS DE CONCENTRADOS

En las actividades de control de calidad es frecuente, que sea necesario inspeccionar lotes de materia prima, partes o productos terminados, para asegurar que se cumplen con los niveles de control de calidad con un buen grado de seguridad. El muestreo de aceptación es un proceso que se utiliza diariamente en las plantas alimentos, para inspeccionar una o varias muestras extraídas de un lote, con el propósito de aceptar o rechazar todo el lote.

“Dentro de la relación cliente- proveedor que existe en las plantas, es necesario analizar los contenidos de proteína como parámetro para el pago de materia prima, adicionalmente, para la formulación no solo de la proteína, sino también, el porcentaje de la grasa cruda, la humedad y la fibra cruda. Por lo anteriormente mencionado, se hace imprescindible el análisis en la composición de las materias primas, no solo como parte del proceso de pago, sino también, como una medida defensiva para protegerse contra la amenaza del posible deterioro de la calidad” [Gutiérrez, 2005].

Las materias primas más comunes en los molinos de concentrados son tanto de origen vegetal como animal: alfalfa, maíz, harina de carne, harina de pescado, harina de de subproductos avícolas, arroz, harina de soya, trigo, DDGs, entre otras. Algunas materias primas como la harina de carne, la harina de soya y el trigo se pagan con base en el perfil de aminoácidos de la muestra [Stewart, 1999]. En general, los sistemas de pago en las empresas de concentrados se basan en la cantidad de nitrógeno presente en la materia prima, asociada principalmente, a las proteínas, aminoácidos como lisina, metionina, etc, y mas recientemente, la energía digerible, la cual se determina mediante un proceso de combustión por bomba calorimétrica.

2.2.1 MÉTODO KJELDAHL

“El método mas común para determinación de nitrógeno orgánico es el *de Kjeldahl*, que se basa en una titulación de neutralización; fue desarrollado por Johannes Kjeldahl, un químico danés, quien lo describió por primera vez en 1883” [Skoog, 2001]. El método original presentado por *Kjeldahl* se ha modificado en varias oportunidades para hacerlo más rápido, seguro y amigable con el ambiente. Este desarrollo en el método se traduce en mejoras en los aspectos de impacto ambiental: eliminación del mercurio como catalítico del proceso de digestión y seguridad del analista: sistemas cerrados con puestas de seguridad para proteger al analista en caso de explosión de la mezcla del destilado, aumento en la velocidad: uso de catalíticos de cobre y destilación de la mezcla directa, esta mezcla se colecta directamente en una disolución de ácido bórico que se titula una vez finalizada la destilación y versatilidad del método: el método original fue desarrollado únicamente para trigo y cebada en cervecería, posteriormente se desarrollaron los procedimientos para

productos cárnicos, harinas, granos, lácteos, entre otros alimentos; y en términos generales, una mejora global a todo el procedimiento.

“Otra de las ventajas de este método es su aceptación a nivel mundial, como el análisis de referencia, cuando se quiere determinar proteína en diferentes productos, El método *Kjeldahl* constituye el procedimiento estándar para la determinación del contenido proteínico en cereales, carnes y otros materiales biológicos. Como la mayoría de las proteínas contiene aproximadamente el mismo porcentaje de nitrógeno, al multiplicar este porcentaje por un factor adecuado (6,25 para carnes, 6,38 para productos lácteos y 5,70 para cereales) se obtiene el porcentaje de proteína de la muestra” [Skoog, 2001].

“En el método de Kjeldahl, una vez preparada la muestra adecuadamente, se descompone en caliente con ácido sulfúrico concentrado, para convertir el nitrógeno combinado en un ión amonio. La solución resultante se enfría, se diluye y se vuelve básica mediante la adición del hidróxido de sodio. El amonio que se libera, se destila, se recibe en una solución acida y se determina por medio de una titulación de neutralización” [Skoog, 2001]. En la Figura 2.4 se muestran en resumen los pasos por seguir para el método de *Kjeldahl*.

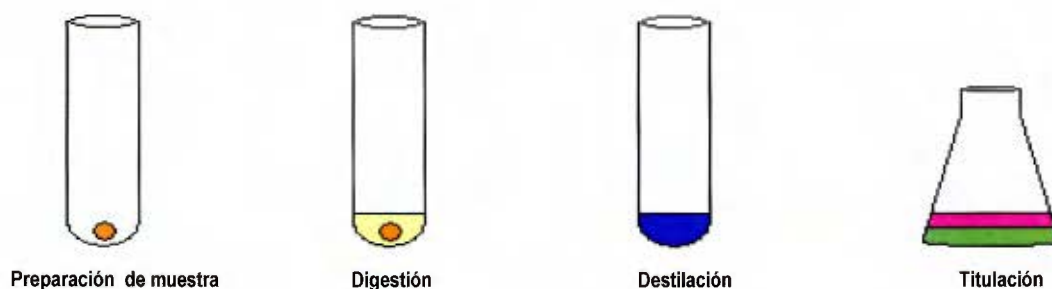


Figura 2.4. Pasos para la determinación de nitrógeno orgánico, mediante el método de *Kjeldahl*.

La etapa difícil en el método de Kjeldahl es la descomposición de la muestra con ácido sulfúrico, que oxida el carbono y el hidrógeno de la muestra hasta dióxido de carbono y agua. Sin embargo, la transformación de nitrógeno depende de su estado de combinación en la muestra original.

El nitrógeno de grupos amino y amida se convierte cuantitativamente en ión amonio. Por el contrario, los grupos nitro, azo y azoxi pueden formar nitrógeno elemental o algunos óxidos de nitrógeno, que se pierden en el medio ácido caliente. Esta pérdida se evita al tratar previamente la muestra con un agente reductor, para formar productos que se comportan como el nitrógeno de los grupos amino y amida. En uno de estos esquemas de reducción previa, se agrega ácido salicílico y tiosulfato de sodio a la solución de ácido sulfúrico concentrado que contiene la muestra. Poco después, se realiza la digestión de manera usual.

En una determinación Kjeldahl, la etapa que frecuentemente consume más tiempo, es la etapa de descomposición. Algunas muestras pueden necesitar periodos de calentamiento mayores a una hora. Se han propuesto numerosas modificaciones al procedimiento original, con la intención de disminuir el tiempo de la digestión. En la modificación más utilizada, se adiciona una sal neutra, como sulfato de potasio, para aumentar el punto de ebullición de la solución de ácido sulfúrico y, por lo tanto, aumentar la temperatura para que se lleve a cabo la descomposición. En otra de las modificaciones, después de que la digestión descompone la mayoría de los compuestos orgánicos, se agrega una solución de peróxido de hidrógeno, como oxidante adicional.

“Muchas sustancias catalizan la descomposición de los compuestos orgánicos con ácido sulfúrico. El mercurio, el cobre y el selenio son muy efectivos, ya sea en estado libre o combinados. Cuando se utiliza mercurio (II), antes de la destilación, se precipita con sulfuro de hidrógeno, para evitar la retención del amoníaco en forma de un complejo aminomercurio (II)” [Skoog, 2001].

2.2.2 MÉTODO 2001.11 PARA LA DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA CRUDA EN ALIMENTOS CONCENTRADOS, GRANOS SEMILLAS, SEGÚN LA ASOCIACIÓN DE COMUNIDADES ANALÍTICAS: (AOAC)

El método de *Kjeldahl*, tal y como fue concebido inicialmente, se modificó en varias ocasiones. Estas modificaciones mejoraron las condiciones de seguridad del personal del laboratorio y se ha reducido el impacto ambiental del análisis, lo cual incrementa la velocidad y versatilidad del método y simplificando en términos generales, todo el procedimiento de análisis.

“En 1970, el químico sueco Roger Mossberg introdujo el concepto moderno del método *Kjeldahl*, utilizando el bloque de digestión, con el cual el uso de reactivos disminuye considerablemente y se mejora la eficiencia de la digestión. En 1974, se introdujo el concepto de destilación directa con vapor, el cual disminuye drásticamente el tiempo necesario para la destilación, debido a que el destilado se recibe en una disolución de ácido bórico, por lo tanto, se elimina la estandarización de un reactivo” [Thiex, 2002] .

Este método es universalmente el oficial, utilizado en miles de laboratorios alrededor del mundo. Sin embargo, cuando se habla del estatus del método oficial, la situación de cierta manera se complica. En casos seleccionados, los métodos oficiales estándares están disponibles: *International Organization for Standardization, Deutsches Institut für Normung, American National Standards Institute, American Society for Testing and Materials and AOAC Internacional*. Estos métodos describen en detalle, el método de *Kjeldahl* para un tipo de muestra en particular:

La mayoría de laboratorios implementan diariamente procedimientos de inspección/control de la calidad, con el fin de mejorar tanto la eficiencia del laboratorio, como la calidad de los datos generados. Para apoyar este proceso de mejora de los laboratorios, se requiere que los métodos oficialmente aceptados, se actualicen sistemáticamente, con el fin de que la tecnología disponible en el mercado, esté al servicio del laboratorio.

“De acuerdo con el método *Kjeldahl*, la muestra se digiere en ácido sulfúrico H_2SO_4 , para convertir el nitrógeno presente en las proteínas en sulfato de amonio $(NH_4)_2SO_4$, se utiliza durante la digestión K_2SO_4 con el objetivo de elevar la temperatura de ebullición de la disolución y $CuSO_4$ como catalítico para acelerar la velocidad de la reacción” [Thiex, 2002].

Al finalizar la digestión de la muestra en el bloque de digestión, se coloca en el sistema de destilación, donde la muestra digerida se diluye con agua destilada, la cual se agrega manual o automáticamente, mediante un destilador con sistema de dosificación de reactivos automática, para evitar la reacción violenta del H_2SO_4 concentrado remanente y el NaOH al 40% m/m. El hidróxido de sodio concentrado se agrega para neutralizar el H_2SO_4 y subir el pH de la muestra digerida se

asegura la formación de NH_3 "in situ", el cual se destila con vapor y se recibe en una disolución de ácido bórico que contiene indicadores de rojo de metilo y azul de bromocresol y finalmente, se titula con HCl estandarizado.

2.3 BENEFICIOS Y DESVENTAJAS DEL USO DE LA TÉCNICA NIR EN PLANTAS DE CONCENTRADOS

Como se explicará en el siguiente capítulo, un espectrofotómetro NIR puede utilizarse en varios puntos de la producción de concentrados. Comenzando con el recibo de materia prima, el equipo se utiliza para inspección de materias primas, como se mencionó anteriormente, para fines de pago a proveedores por calidad del insumo, siguiendo la premisa que: "El producto de mayor calidad tiene un precio más elevado en el mercado", las materias primas con mayor contenido de proteína en su composición, tienen un precio mayor que las de bajo contenido de proteína; como segundo paso, se utiliza para proveer información exacta a los nutricionistas, a la hora de realizar la formulación del alimento. Se previene de esta forma la entrada de materia prima fuera de especificación, con contenido bajo de nutrientes y por otro lado, se puede obtener un costo menor en el proceso de producción, basado en mediciones reales, para formular el alimento en lugar de "valores promedios" utilizados frecuentemente.

Como parte de la estrategia de operaciones, no solo de una planta de concentrados, sino de todas las industrias, el costo, la calidad y la confiabilidad del producto son parámetros críticos dentro de la planeación que coordina las metas operacionales de la organización [Chase, 2003]. Con respecto al costo del producto, suele existir un segmento del mercado que compra exclusivamente con base en costos bajos. Para competir exitosamente en esta área, se requiere bajar los costos de producción del producto, sin afectar sustancialmente su calidad ni la calidad del proceso. En este punto, la inspección de materias primas representa un punto crítico, a la hora de utilizar eficientemente, los insumos de la producción, y realizar un pago a los proveedores por calidad de la materia prima.

En cuanto al proceso de producción, el primer paso consiste en pasar las materias primas a la mezcladora, donde a la salida, es necesario monitorear la composición del producto de la mezcla. Una mezcla inadecuada de materias primas puede producir a la salida, alimentos con bajo

porcentaje de proteína. Cuando se pesan las materias primas con balanzas mal calibradas o sus dosificadores están descalibrados ocurre esta falla, por lo tanto, es importante verificar en este punto, la composición química del alimento.

Por el contrario, cuando los dosificadores de la grasa líquida utilizada en el proceso, presentan fallas en dosificación baja, pueden también, presentarse alimentos con alto contenido de proteína, se incrementa de esta forma, el costo de producción del concentrado. En su publicación del 2008 *“Control en la planta de alimentos balanceados: una perspectiva de la trazabilidad de operaciones”* el Ing. Hans Mann, plantea: El alimento balanceado en la producción animal monogástrica representa alrededor del 50% al 70% del costo de la producción animal y además, está íntimamente relacionado con la calidad final del producto animal, es por lo tanto, indispensable el pensar en alimentos animales de alta calidad, para satisfacer no sólo los requerimientos animales, sino las demandas de los consumidores”. Es así como controlando el contenido de proteína en el alimento, asociada directamente a la cantidad de aminoácidos, mantenido este porcentaje en el límite mínimo recomendado por el nutricionista, se bajan directamente los costos de fabricación del alimento.

Una vez terminado el mezclado del alimento, la mezcla pasa al secador, donde también su composición puede ser monitoreada utilizando NIR; en este punto, es importante monitorear el contenido de humedad en el alimento, para prevenir la formación de hongos, durante el tiempo de almacenamiento del alimento en los silos; esta presencia de hongos conlleva a la formación de micotoxinas, las cuales son metabolitos tóxicos, producidos por diversos hongos que crecen en diversos granos de cereales y en alimentos concentrados, que se producen a partir de granos. La presencia de micotoxinas en alimentos concentrados puede pasar al organismo del animal y eventualmente, al entrar en la cadena alimenticia del ser humano, causar daños a la salud, cuando son ingeridas de forma gradual y constante en pequeñas dosis [Riera, J, 2008].

Finalmente, una vez que el alimento se empaca para su venta, este puede ser analizado nuevamente, para emitir un certificado de calidad de cada lote. De esta forma, el fabricante del producto tiene la opción de proveer a sus clientes, los granjeros en este caso, un concentrado con valor agregado.

Tomando en cuenta los puntos críticos de la producción de concentrados para pollos antes mencionados, una ventaja de la espectroscopia infrarroja cercana es que permite monitorear el producto desde el recibo de materia prima, hasta el final del proceso, aunque este control de puntos críticos de proceso en cada una de las unidades que forman parte de él, aumenta el número de muestras por parte del laboratorio, la velocidad del equipo para analizar y reportar resultados disminuye el tiempo de análisis, adicionalmente a lo anterior el NIR produce la reducción del costo por análisis al eliminar el uso de reactivos.

Al liberar la carga de análisis tradicionales del laboratorio y hacer más dinámico el trabajo de análisis de rutina, se permite a los químicos trabajar con análisis más complejos, como por ejemplo, análisis de micotoxinas en las materias primas, aminoácidos totales o digestibles, perfiles de ácidos grasos, vitaminas, metales pesados etc. Adicional a ello, el equipo es una sólida base de apoyo al sistema de gestión de calidad, pues existe mayor trazabilidad y control del proceso. Los resultados se guardan en el equipo, sin opción de modificación de resultados, para que el resultado no se modifique por el analista ni tampoco la información de la muestra, como por ejemplo, nombre del proveedor, fecha de análisis, etc. Inclusive, es posible tener acceso a los resultados del día y los resultados de las diferentes pruebas de diagnóstico y otros monitoreos que el equipo realiza: *performance test* y *auto test*, sin necesidad de estar frente al computador, conectándose de forma remota mediante el programa de soporte remoto RINA® por sus siglas en inglés (*Remote Internet Network Analysis*). Utilizando el programa RINA® desarrollado para equipos NIR marca Foss, el gerente de calidad de la planta puede estar al tanto de los resultados en diferentes equipos, aunque estos estén en diferentes provincias, países o continentes; este punto es de particular interés en plantas transnacionales de alimentos que buscan controlar al máximo sus estándares de formulación.

Por otro lado, una de las desventajas que presenta la técnica analítica NIR, es que al ser un método indirecto, los resultados son diferentes al método del laboratorio; en algunos casos, al estar las curvas de predicción o calibraciones desarrolladas con base en un método primario o de referencia, existe una propagación del error del método primario en ellas, de esta forma se gana

sustancialmente velocidad y repetibilidad; sin embargo, se pierde la precisión del método de referencia.

No existe hasta hoy: enero 2010, aprobación oficial AOAC, AACC, ISO, etc para el uso de esta técnica en materias primas ni productos terminados en alimentos concentrados, sin embargo, existe la aprobación de AOAC para el uso de NIR, en análisis de productos cárnicos y productos farmacéuticos.

2.4 REQUISITOS PARA LA IMPLEMENTACIÓN DE UN EQUIPO NIR COMO PARTE DE LOS ANÁLISIS PARA INSPECCIÓN DE CALIDAD DE MATERIAS PRIMAS

Para asegurar el correcto funcionamiento mecánico y electrónico del equipo y la correcta lectura de las curvas de predicción, es necesario tener en consideración varios puntos como factores ambientales que pueden afectar la lectura dentro del sistema óptico del equipo, o posibles ajustes en la pendiente o el intercepto de la curva de predicción.

2.4.1 MUESTRAS DE LABORATORIO DE REFERENCIA, PARA VALIDACIÓN DE CURVAS

Para el proceso de validación de las curvas de predicción, deben tenerse muestras de referencia analizadas previamente por un laboratorio confiable, ya sea el laboratorio de la planta o un laboratorio externo, acreditado en los ensayos, para los parámetros a monitorear en las curvas de predicción; para cada producto por medir, se requieren como mínimo 20 muestras con datos de referencia, en este caso en particular proteína, grasa, fibra cruda, humedad, almidón y ceniza, los cuales son los parámetros que predice la curva de materias primas de el Infraxact®. En algunos casos es necesario realizar ajustes de intercepto, cuando por ejemplo, la predicción varía del valor esperado en alguna unidad, a este proceso se le llama validación de la curva. Si la validación demuestra que es necesario un ajuste de intercepto, se hace la corrección para el o los parámetros en cada uno de los productos. Posteriormente a la modificación del intercepto de la curva, es necesario tener 10 muestras para cada grupo de producto y los datos de referencia para verificar que el ajuste de intercepto corrigió el error en la predicción del parámetro; a este proceso, se le llama re-validación. Además, se deben tener disponibles muestras de los productos a analizar.

2.4.2 AMBIENTE PERIFÉRICO DE LOCALIZACIÓN DEL EQUIPO

Según el fabricante, varios requisitos deben cumplirse para garantizar el mejor desempeño del equipo, en el Cuadro 2.1 se detallan los requerimientos de instalación, los cuales buscan proteger la parte electrónica del equipo y controlar el nivel de ruido en la medición que puede generarse por fuentes de luz que incidan directamente en el equipo, o vibraciones de la mesa donde se instala el equipo.

El requerimiento que se menciona de primero en el Cuadro 2.1, son las dimensiones de la mesa de trabajo donde se colocará el equipo, en la mesa del laboratorio se debe tener suficiente espacio disponible, para evitar que el equipo quede colocado de forma inestable, y evitar el riesgo de una caída del equipo, como la molienda de la muestra se realiza en un cuarto aparte, cuando la muestra se transporta del cuarto de molienda hacia la mesa de trabajo, también se deberá contemplar suficiente espacio para el llenado de las celdas que tienen diferentes dimensiones, depende de qué tipo de producto se mida, si es homogéneo se utilizan celdas circulares con un diámetro de 3cm, cuando el producto es molido como granos o alimento terminado se utilizan las celdas circulares para producto molido, y cuando se miden granos enteros, alimento pelletizado o forrajes se utiliza la copa para producto sin moler, el espacio para llenado y vaciado de las celdas debe de estar cerca del equipo para evitar el transporte de las celdas en el laboratorio, ya que la excesiva manipulación de las celdas puede provocar que se acumule grasa en el cristal de la base, se recomienda para evitar esto, que se utilicen guantes cuando se está haciendo la lectura de las muestras, y que la limpieza de las copas se realice todos los días con jabón especial para lavar cristalería de laboratorio, por otro lado, puede quebrarse el cristal de la celda cuando se transporta de un lado a otro. Como la luz que viene de la iluminación del laboratorio puede afectar los resultados de la medición, pues emite radiaciones que perturban la luz que se cuantifica en los detectores del equipo, también no debe de instalarse el equipo debajo de bombillos o lámparas, ni al lado de ventanas donde la luz del sol entre directamente. La vibración de equipos también afecta la medición, es por ello que se recomienda, no colocar el molino de preparación de muestra en el mismo cuarto del equipo.

Cuadro 2.1 Requerimientos de instalación previos a la instalación del equipo NIR en el laboratorio.

	<p>Dimensiones mínimas: la mesa de trabajo donde se colocara el equipo debe de tener un espacio tal que el equipo se pueda colocar adecuadamente (dimensiones del equipo: frente 457 mm, alto 445 mm, fondo 812 mm) y que sobren al menos 76 mm atrás y al lado izquierdo del mismo y al menos 156 mm al lado derecho para colocar las muestras cerca del equipo, es conveniente dejar el maximo espacio posible al frente, para el manejo de las muestras, ademas el lugar de trabajo debe de contemplar un espacio suficiente para el computador y accesorios.</p> <p>Peso: Que soporte un peso mínimo de 30.6 kilogramos más el peso de la computadora y el UPS.</p>
Mesa de laboratorio	<p>A prueba de vibraciones, construda preferiblemnte en concreto o con superficie de granito La electricidad debe ser AC monofase, separada, estable, libre de transientes y filtrada. La tierra del sistema debe tener un valor de 10 ohmios o menos. El circuito electrico debe tener protencion contra transientes. El rango de operación de voltaje del instrumento es de 100 a 240 VAC, 50/60 HZ. La fuente de poder del equipo cambia automáticamente y provee el voltaje correcto de operación.</p>
Fuente de poder	
Consumo de poder	Máximo 750 W.
Temperatura ambiente	10-35 grados Celsius.
Humedad ambiente	De 10% a 90% de humedad relativa no condensable. No debe haber cambios bruscos de humedad, se recomienda tener un medidor de humedad cerca del equipo. El lugar donde se va a colocar el aparato, debe ser firme, con una superficie totalmente plana y lejos de excesiva y vibración, esto para una mejor estabilidad del aparato, además que no haya campos magnéticos fuerte cerca del instrumento.
Medio ambiente	Es recomendable que el ambiente esté libre de ruido, recomendable menos de 70Db.
Nivel de ruido	
Protección contra picos de voltaje	Se recomienda utilizar un protector de picos y estabilizador de corriente ademas de una UPS con capacidad para el equipo(750W), así como para el computador que va a trabajar con este. Cada conexión de red debe de estar protegida contra picos.

En la Figura 2.5 se muestra el equipo NIR utilizado para este estudio, un ejemplo de la mesa y el tipo de iluminación que se recomienda. La iluminación no debe de incidir directamente en el equipo, el cuarto donde se instala puede estar cerca del área de producción o inclusive a un lado de la línea de producción, debe haber suficiente espacio para el llenado de las celdas con las muestras y el



Figura 2.5. Equipo NIR Infraxact utilizado en ese estudio, instalado de acuerdo a los requerimientos de instalación mencionados en el Cuadro 2.1

2.5 SOFTWARE DE ANÁLISIS Y CALIBRACIONES

Los espectrofotómetros infrarrojos cercanos, funcionan controlados por los softwares desarrollados para el análisis de rutina y para desarrollo y ajuste de los modelos de predicción o calibraciones. El espectrofotómetro NIR Infraxact de Foss utiliza dos *softwares* para su operación. El primero, ISIsScan® corresponde a un software desarrollado para la operación de rutina del espectrofotómetro; este permite el análisis de rutina rápido y en un interfase amigable con los operarios, basta con seleccionar el producto por analizar: harina de soya, DDGs(*Dried distillers grains*), trigo, maíz, etc, colocar la muestra en la celda por medir y finalmente, presionar la opción “Scan” en el menú del programa, ubicado en la esquina inferior derecha de la pantalla mostrada en la Figura 2.5.

Como se muestra en la Figura 2.6, en el menú superior horizontal, se ubican las opciones para acceder a las opciones del programa, tales como manejo de archivos, diseño de reportes, diagnósticos del equipo y manejo de perfiles y configuración para conexión RINA.

En el menú de la izquierda, se ubica el árbol de productos, donde se definen las diferentes materias primas y productos terminados.

Finalmente, los resultados se muestran a la derecha de la pantalla, incluyendo los parámetros estadísticos *Globalhood(GH)* y *Neighbourhood(NH)*. Estos 2 parámetros permiten determinar cuando una curva debe expandirse, es decir introducir nuevas muestras en la curva de predicción; esto es necesario principalmente, cuando se utilizan diferentes cultivos, se realiza cambio de proveedor, o en caso de producto terminado, se hacen cambios en la formulación del alimento. Cuando más de un 10% de las muestras leídas dan GH mayores a 3,0 y NH mayores a 0,6, es necesario una expansión del modelo de predicción. La población para la expansión debe ser de al menos un 10% de el total de muestras que contiene el modelo actual de predicción, inicialmente por recomendación del fabricante se requieren mínimo 50 muestras del producto a expandir, con sus respectivos valores de referencia de acuerdo con el manual del *software* ISIScan.

El segundo software que requiere el espectrofotómetro, corresponde a un software quimiométrico, en el cual a partir de los espectros infrarrojos de las muestras y los datos de laboratorio, se desarrollan calibraciones para utilizarse en el espectrofotómetro. A través de la quimiometría es posible generar modelos matemáticos, estadísticos y otros que utilizan los datos químicos de una sustancia, como es el caso de los espectros infrarrojos.

En 1975, La International Chemometrics Society (ICS) definió la quimiometría como:

“...la disciplina química que utiliza métodos matemáticos y estadísticos para diseñar o seleccionar procedimientos de medida y experimentos óptimos, y para proporcionar la máxima información química mediante el análisis de datos químicos” [Petersen, 2007].

Esta aplicación de métodos matemáticos, estadísticos y lógicos, busca:

1. Diseñar y seleccionar procedimientos y experimentos de medición óptimos, y
2. Proporcionar la máxima información química relevante al analizar datos químicos.

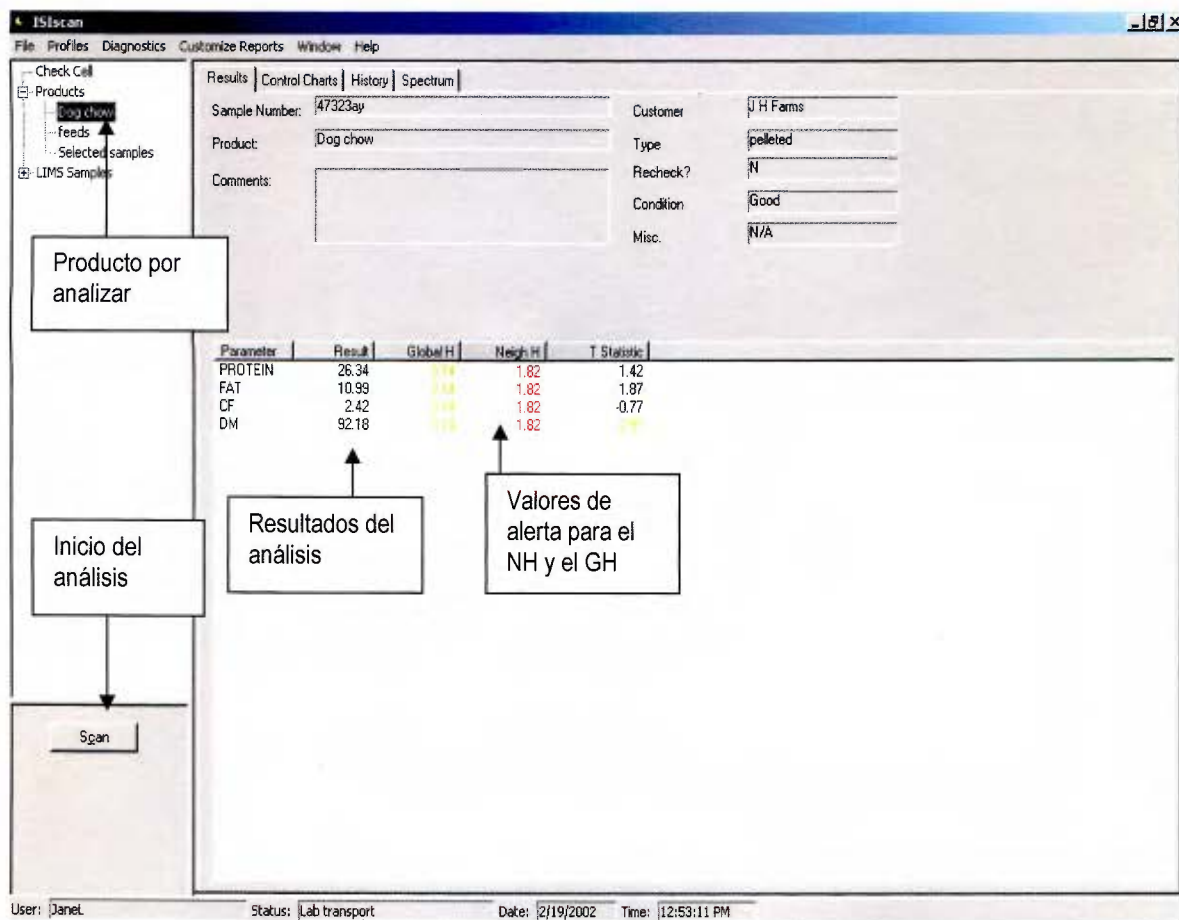


Figura 2.6. Pantalla ISIscan, programa de análisis de rutina para Espectrofotómetros NIR de Foss

El avance en la quimiometría ha permitido el desarrollo de calibraciones, las cuales corresponden a modelos matemáticos para la predicción del porcentaje de los macronutrientes en la muestra [Petersen, 2007]. Para crear una calibración son necesarios los espectros Infrarrojos de las muestras medidas y los correspondientes análisis de referencia determinados en el laboratorio, estas muestras son llamadas muestras de calibración [Petersen, 2007]. La precisión y exactitud de los métodos de referencia, son fundamentales para el desarrollo, mantenimiento, actualización y validación de las calibraciones. Hay que conocer el método de referencia en el que se basa la calibración y, lo más importante, el método con respecto al cual se validó el modelo de predicción y el método con el que se compararan los resultados previos.

Un punto crítico para obtener resultados deseados es la adecuada escogencia de las muestras, las cuales deben ser analizadas en un laboratorio confiable, preferiblemente acreditado, con métodos de referencia aprobados por entidades reconocidas en el nivel internacional: ISO, AOAC, AACC, AAFCO etc. Igualmente, se debe tener un conjunto de muestras con un ámbito amplio en los diferentes parámetros por utilizar, con el fin de tener una base de datos amplia. Cuando se desarrollan curvas con ámbitos pequeños de proteína, grasa, etc, pueden tenerse a menudo, valores altos de GH y NH, cuando se miden muestras con contenidos de estos parámetros que estén fuera del ámbito inicial de la curva de predicción, los cuales indican que el modelo de predicción tiene poca información en su base de datos, para ese tipo particular de “muestra nueva”. La ventaja de trabajar con modelos de predicción ANN, como el que utiliza el paquete de curvas para materias primas de Foss, es que se cubre casi todo el ámbito de valores para los parámetros, y se trabaja con bases de datos mayores, donde se almacena información de las muestras con mayor cantidad de parámetros y mayor cantidad de muestras por ejemplo, las muestras utilizadas para predicción de proteína en la calibración que se utilizó en este estudio, incluye 8037 muestras, las cuales tienen valores de este parámetro desde 0,3% hasta 70,1%; en el caso de grasa se tienen 3425 muestras con valores de grasa, desde 0,2% hasta 48,6%, como se muestra en el Cuadro 2.3.

Para crear una calibración, se establece una relación matemática entre los espectros y los datos generados en el laboratorio de referencia, por medio de un método primario aceptado por entidades como las mencionadas en el párrafo anterior. Este proceso de correlación entre los picos de los espectros y los contenidos de los distintos parámetros se lleva a cabo mediante varias técnicas quimiométricas; entre las más comunes como la técnica ANN ó PLS, se muestran en el Cuadro 2.2:

Cuadro 2.2 Técnicas matemáticas, con su respectivo acrónimo en inglés, utilizadas en la quimiometría para desarrollo de calibraciones

Abreviatura de la Técnica	Significado en inglés
MLR:	<i>Multiple Linear Regression</i>
PLS:	<i>Partial Least Squares</i>
ANN:	<i>Artificial Neural Network</i>
LOCAL:	<i>Calibración LOCAL</i>

[Fuente: http://www.winisi.com/NIRS_theory.htm, 2008]

Cada una de estas técnicas quimiométricas establece una relación matemática entre la variación en el espectro NIR de la muestra con la variación en el parámetro medido. El desarrollo de un modelo matemático usando esta correlación puede ser utilizado para el valor de los parámetros, ya sea proteína, grasa, fibra en muestras desconocidas.

Es posible utilizar las calibraciones para materia prima ya hechas por el fabricante del equipo. Estas curvas incluyen principalmente, muestras de materia prima de Europa, Norte América y el Sudeste Asiático, están desarrolladas en específico para el espectrofotómetro Infraxact®.

Las materias primas incluidas son principalmente cereales: trigo, cebada, avena y centeno, semolina de trigo, harina blanca, subproductos de panadería, soya y sus derivados: harina y cascarilla, maíz: grano, germen y gluten, arroz: puntilla y salvado, canola, DDGs y en menor cantidad, muestras de harina de girasol, harina de semilla de algodón. Todos los ingredientes anteriormente mencionados se han combinado en un modelo común de calibración denominado “*Feed ingredient application*”

La curva o modelo de aplicación, contiene modelos de calibración para seis parámetros: grasa, humedad, proteína, fibra cruda, ceniza y almidón; ella fue desarrollada utilizando la técnica quimiométrica ANN. Los ámbitos de concentración cubiertos con esta calibración pueden verse en el siguiente Cuadro:

Cuadro 2.3. Ámbitos cubiertos para diferentes parámetros en la calibración para materias primas desarrollada para Infraxact™, reportados en base húmeda

Parámetro	Número de muestras	Concentración Mínima	Concentración Máxima
		(%)	(%)
Grasa	3425	0.2	48.6
Humedad	6942	1	19
Proteína	8037	0.3	70.1
Fibra cruda	2110	0.9	31.2
Ceniza	2241	0.3	10.5
Almidón	606	4.2	68.5

[Fuente: Foss Analytical, 2008]

Cuando las calibraciones son del tipo ANN, la única modificación que puede hacer el usuario directamente al modelo de predicción, es un ajuste de intercepto de curva, también llamado ajuste de BIAS. Si se quiere hacer una expansión el archivo con los espectros de las muestras y los valores de referencia, se envían al fabricante para que realice la expansión.

Para evaluar si una ecuación requiere un ajuste de BIAS, es necesario tomar 20 muestras mínimo y realizarles la lectura en el NIR, utilizando la curva del fabricante. Las mismas 20 muestras deben ser enviadas al laboratorio de referencia, para la determinación de los valores de referencia. Cada uno de los resultados del laboratorio se compara contra el valor predicho por el equipo. Al restar ambos resultados, la diferencia debe ser la mínima posible. Si las diferencias presentan alguna tendencia, es decir diferencias de más/menos un valor racional, es posible realizar ese ajuste en el programa.

El propósito de los softwares que se utilizan para análisis de rutina y para desarrollo de curvas es el siguiente:

- Escaneo de muestras para generar los espectros infrarrojos
- Análisis de rutina
- Manipulación de espectros: ver espectros previamente escaneados, agregar nuevos espectros de nuevas muestras, caracterizar muestras, entre otras funciones.
- Tratamiento matemático de espectros y datos ópticos en general.
- Desarrollo de modelos de predicción, también llamados calibraciones.
- Evaluación de la calidad de resultados de los modelos de predicción mediante análisis estadístico.
- Corrección de pendiente y o intercepto.
- Detección de muestras que no pertenecen a la población de muestras utilizadas, para el desarrollo del modelo de predicción
- Análisis de discriminante
- Diagnósticos del instrumento
- Desarrollo de gráficos para control histórico del perfil de materias primas.

2.6 MATERIAS PRIMAS PARA LA FORMULACIÓN DE CONCENTRADOS PARA POLLOS DE ENGORDE

Dentro de las plantas de elaboración de alimentos balanceados para pollos y gallinas, se formulan dietas para cada fase de crecimiento; para esto, se utilizan tanto materias primas de origen vegetal: maíz, soya, trigo, semolina, granos de destilería con solubles: *DDGs* por sus siglas en inglés, etc, así como materias primas de origen animal como harina de carne y hueso, harina de plumas, harina de pescado, entre otras. Algunos de los alimentos antes mencionados son de alto contenido proteico y logran satisfacer los requerimientos de aminoácidos que el ave necesita para su mantenimiento, crecimiento y producción. A continuación se detallan las más utilizadas actualmente para la formulación de los alimentos para pollos.

2.6.1 HARINA DE SOYA

La harina de soya corresponde a una de las materias primas con mayor fuente de proteína (48% aproximadamente), adicionalmente, presenta una composición equilibrada de aminoácidos con alto porcentaje de digestibilidad, los niveles de lisina y triptófano se encuentran en concentraciones elevadas. Estas características nutritivas hacen que la proteína de soya ofrezca un equilibrio adecuado de los aminoácidos esenciales, aproximándose a las normas establecidas por la FAO [Carrão, 1995].

“El concepto de aminoácidos digestibles es cada día más utilizado en la alimentación animal; la cantidad de aminoácidos digestibles se utiliza para estimar la disponibilidad de los aminoácidos para las aves; de esta forma, el ave recibe la cantidad adecuada de aminoácidos que necesita. Estudios demuestran mejores resultados en cuanto a la eficiencia alimenticia, basando la formulación, en el concepto de “proteína ideal” bajo el concepto de suministrar al ave los aminoácidos necesarios para su desarrollo” [Campabadal, 2008].

Para Costa Rica, el principal proveedor de harina de soya es Industrias Oleaginosas Americanas S.A (INOLASA); en el Cuadro 2.4, se detalla la composición con base en aminoácidos de la harina

de soya producida en esta planta, el pago de ella se realiza con base en el contenido de proteína, y la formulación en la planta de concentrados del cliente se realiza tomando en consideración, en algunos casos, el contenido de proteína y en otros casos los porcentajes de digestibilidad de aminoácidos que se detallan en el Cuadro 2.4.

Basándose en la información del Cuadro 2.4, se explica porqué la harina de soya es considerada como una materia prima y fuente importante de proteína con una digestibilidad alta; por ello, su costo corresponde a una de los insumos con mayor precio. En la formulación, se prefiere la harina de soya por su alta digestibilidad de aminoácidos, sin embargo, su precio, al ser un producto importado, hace que día a día los productores y veterinarios involucrados en el proceso de fabricación de concentrados experimenten con materias primas alternativas como subproductos avícolas, harina de coquito, DDGs, entre otras.

Cuadro 2.4. Concentración total de aminoácidos y su digestibilidad en la harina de soya producida por INOLASA.

AMINOÁCIDOS	Concentración total de aminoácidos (%)	Digestibilidad de aminoácidos (%)
Ácido aspártico	5,37	91,50
Treonina	1,83	89,70
Serina	2,10	91,60
Ácido glutámico	8,54	93,50
Prolina	2,28	90,80
Alanina	2,06	87,40
Cistina	0,72	88,10
Valina	2,41	89,90
Metionina	0,69	91,70
TSAAs (promedio)	1,41	89,90
Isoleucina	2,26	91,10
Leucina	3,72	91,10
Tirosina	1,74	92,10
Fenilalanina	2,45	92,10
Histidina	1,29	92,10
Lisina	3,08	91,60
Arginina	3,48	91,90
Triptofano	0,66	96,50

[Fuente: Universidad de Geogia Dr. Nick Dale, 2007]

2.6.2: DDGS

“Los granos secos de destilería con solubles o como se les conoce comúnmente por sus siglas en inglés *DDGs* son un producto cada vez más utilizado en la alimentación de animales monogástricos y rumiantes. Esta materia prima es un subproducto del proceso de molienda seca para la producción de etanol, tiene un contenido de proteína moderado y un nivel de energía similar al de la pasta de soya, según el reporte del U.S. Grains Council” [Cromwell, 1993].

Existen varios estudios donde se evalúa la inclusión de los *DDGs* en diferentes porcentajes, en las dietas de pollos y ganado. En un reporte presentado por Cromwell y colaboradores, se analizaron 9 muestras diferentes de *DDGs* y se probaron en dietas para pollos. La respuesta de los pollos a la inclusión de estas muestras en dietas iso-nitrogenadas e iso-calóricas con ámbitos de inclusión del 63% al 84% de la dieta control con base en maíz-soya- almidón, fue un mayor rendimiento en carne en las dietas con mayor contenido de lisina, independientemente de que esta proviniera de *DDGs*, el maíz, la soya o el almidón.

2.6.3 MAÍZ Y SUBPRODUCTOS

“El gluten y el forrage de maíz son subproductos del proceso de molienda en húmedo del maíz para la manufactura de miel o sirope de maíz alto en fructuosa. La remoción tanto del almidón como del germen, hace que estos subproductos sean altamente concentrados en los componentes proteínicos originales. El gluten de maíz contiene aproximadamente un 60% en proteína y es comparable con la proteína animal para efectos de formulación” [Otárola, 2008]. El gluten se suplementa con fuentes sintéticas de lisina y resulta muy efectivo, cuando se quiere formular un alimento con alta densidad de nutrientes.

En el Cuadro 2.5, se muestra la composición de proteína del maíz común y el porcentaje de aminoácidos digeribles. Si se compara con el Cuadro 2.4, se observa que la digestibilidad de los aminoácidos en los *DDGs* es menor que la digestibilidad en la harina de soya.

Cuadro 2.5. Concentración total proteína y aminoácidos digestibles en el maíz común utilizado en formulación para pollos

AMINOÁCIDOS	Digestibilidad de aminoácidos (%)
Proteína Cruda (%)=7,9	
Lisina	79,3
Metionina	83,0
Cistina	65,2
Arginina	79,3
Treonina	67,4
Histidina	81,2

[Fuente: Araba, M.1996]

“Existen en el mercado otras variedades de maíz, alternativas al maíz común, con mayor digestibilidad, tal es el caso del maíz alto en aceite, maíz alto en amilosa y maíz blanco. De particular interés es el maíz alto en aceite, el cual es un ingrediente de bajo costo energético que se utiliza para incrementar la densidad energética de la dieta, desplazar alguna porción o toda la grasa de la dieta pues contiene de 4,8% a 6% más de energía metabolizable que el maíz común.”[Araba, 1996].

2.6.4 HARINAS DE SUBPRODUCTOS DE ORIGEN ANIMAL

Las harinas de origen animal, se utilizan como aporte de proteínas, algunos de ellas obtenidas a partir de subproductos de la industria cárnica. Entre ellas se pueden mencionar: la harina de huesos, la harina de sangre, la harina de plumas y la harina de pescado. Las harinas de carne de origen animal, intervienen en la formación de los músculos; se usa en la alimentación de aves, ganado porcino. Es un producto con alto contenido de lisina, fuente de vitaminas del grupo B, contiene minerales como el zinc, magnesio, sodio, cloro y en mayor cantidad el calcio y fósforo.

“Por lo heterogéneo de esta materia prima, la variación en el contenido de proteína, puede variar desde un 45% hasta un 70%” [Zumbado, 2009]. En la Figura 2.6, se muestra la variación del contenido de proteína en la harina de carne, recibida en el periodo 2008-2009 en la planta de producción del alimento, para este periodo, en particular las variaciones estuvieron en el ámbito de 36% mínimo hasta 55%, certificada 50-55% de proteína por el proveedor.

Harina de Carne y Hueso 45-50% PC: Variación en Proteína

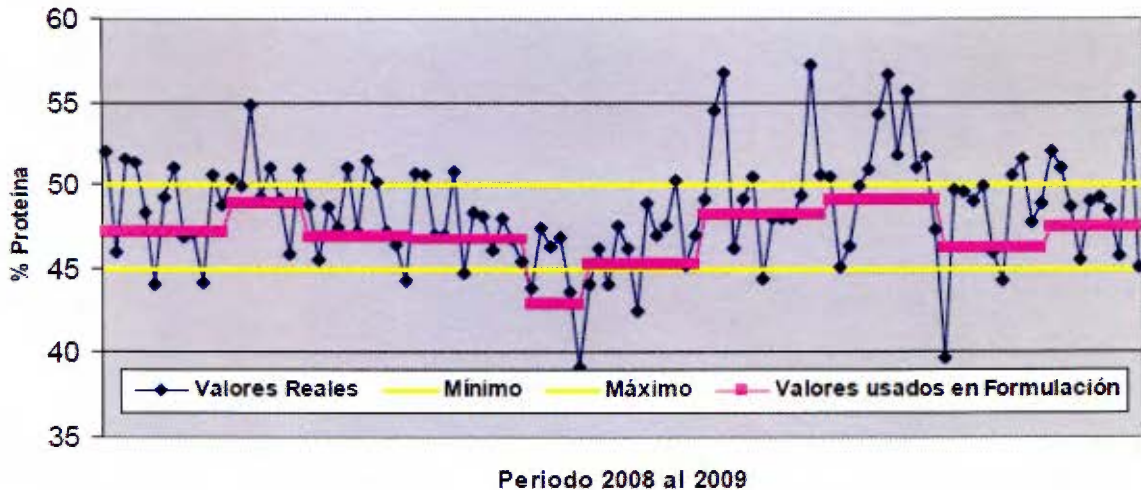


Figura 2.7 Porcentaje de proteína en harina de carne y hueso, para diferentes lotes, Recibidos durante el periodo 2008-2009.
[Fuente: Zumbado,2009]

La Figura 2.7, hace evidente el riesgo que se corre cuando se formula con promedios, en lugar de con valores reales, que pueden ser medidos de forma casi inmediata con el equipo NIR, como por ejemplo, para la muestra con un contenido de 36% de proteína, la formulación tradicional utilizó un valor promedio de 44%, sin embargo la misma muestra analizada con el equipo NIR, detectó el porcentaje de 36% real, por lo que se logró reformular en el software el alimento, antes de iniciar la producción, de no haber hecho esta corrección, la ganancia en peso de los pollos hubiese sido mucho menor a lo esperado, lo que se traduce en una pérdida de dinero de la empresa.

En resumen, existe una amplia variedad de materias primas para la formulación de concentrados, depende del criterio del nutricionista establecer los porcentajes de inclusión en las dietas de las aves en sus diferentes etapas de crecimiento. Independientemente de la materia prima; se utiliza el perfil de aminoácidos digeribles de las materias primas, ya sea midiéndolos directamente con NIR o utilizando correlaciones matemáticas para cada materia prima, estas ecuaciones permiten predecir el porcentaje de digestibilidad a partir del contenido de proteína o de aminoácidos totales. En particular las materias primas de origen animal, tienen variaciones en el contenido de proteína, para

ellas una herramienta de análisis rápido como el NIR, brinda una ventaja competitiva a la planta, y a los nutricionistas, para evitar errores en la formulación.

En el presente capítulo, se plantearon las bases para comprender los principios de la espectroscopia infrarroja cercana, en sistemas de monocromador con detección post- dispersiva tipo *grating*, y sus posibles aplicaciones en la inspección de materias primas en plantas de alimentos balanceados. Se han descrito las principales materias primas que se utilizan en esta industria y las principales características de cada una de ellas. Por otro lado, se describen los métodos tradicionales de análisis de materias primas y beneficios de la espectroscopia infrarroja cercana sobre los análisis tradicionales. Se describen las diferentes técnicas quimiométricas que existen para generar a partir espectros infrarrojos, los cuales son la huella digital de la muestra, modelos de predicción también llamados calibraciones para poder determinar a partir de los datos de referencia del laboratorio y un modelo matemático la composición de la muestra. Las características del modelo de predicción, utilizado en esta investigación, también se explican en este capítulo, al igual que los requerimientos de instalación del equipo *NIR*.

CAPÍTULO 3

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO DE PRODUCCIÓN DE ALIMENTOS BALANCEADOS PARA AVES

“El manejo, la alimentación y la nutrición que reciben las aves en las granjas, influyen directamente los rendimientos que se obtienen de los pollos de engorde. Se sabe que este rendimiento está asociado con la cantidad de ración que reciben las gallinas reproductoras y su calidad genética” [Valle,2008]. Unido a la calidad del alimento está la calidad de la materia prima que se utiliza para su elaboración, dentro de la planta se busca controlar eficazmente el proceso de producción de alimento, para lograr bajar los costos en alimentación y lograr los objetivos de producción de carne a partir de las toneladas de alimento suministrado en el proceso de crecimiento y engorde de los pollos, ser más eficaz en la utilización de las dietas de los pollos se refleja en la rentabilidad de la producción de carne. A continuación, se describe el proceso de producción del alimento y los puntos en los que interviene el laboratorio de control de calidad, en la Figura 5.1 se muestra mediante un diagrama de bloques las operaciones que se llevan a cabo, cuando el camión con la materia prima ingresa en la planta de concentrados para aves.

La materia prima que ingresa a la planta de concentrados, inicialmente se pesa en la entrada, en la unidad de pesaje a camiones. Posteriormente, cada camión se muestrea mediante el método zig zag, seleccionando en forma diagonal y al azar, diferentes sacos; las muestras se recolectan utilizando un muestreador de pico, con el que se extrae una cantidad aproximada de 5 á 10 gramos por saco, dicha muestra ingresa directamente al Laboratorio de Control de Calidad, la muestra es molida en un molino Retch con tamiz de 1mm y colocada en la celda del equipo NIR, donde en 60s se determina la composición de la proteína, la grasa, la fibra cruda, la humedad, la ceniza y el almidón. Utilizando este resultado, se realiza la caracterización de la materia prima; esta información se envía directamente al departamento de producción, simultáneamente el departamento de compras y pago a proveedores recibe la información para el pago por calidad de materia prima, en caso que la materia prima esté fuera de los parámetros de proteína mínimos aceptados, se aplica el procedimiento de reclamo a proveedores, según lo establecido en producto no conforme, donde dependiendo del acuerdo que se tenga con el proveedor, la materia prima se rechaza del todo o se penaliza un porcentaje del pago.

Cuando la materia prima contiene una calidad superior o inferior a la estándar, se segrega en diferentes tolvas y se utiliza según el criterio del nutricionista en alimentos, donde el contenido de proteína debe ser menor o se mezcla con materias primas de alto contenido de proteína para ajustar el porcentaje final requerido por las aves, dependiendo de su etapa de crecimiento.

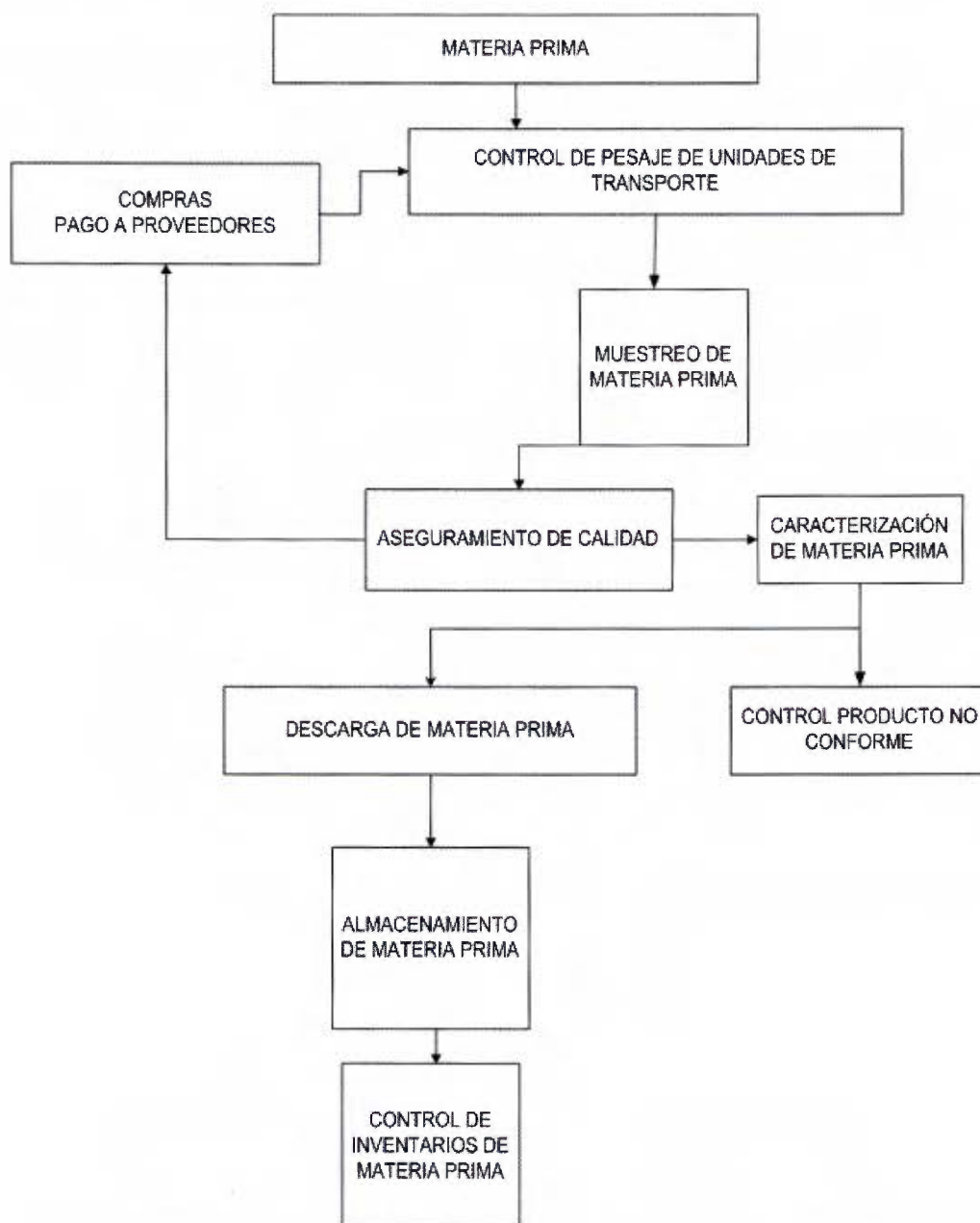


Figura 3.1 Diagrama de bloques para el proceso de inspección de calidad de materia prima.

Cuando se descarga la materia prima, una vez segregada en diferentes silos a partir de su calidad, se considera también la digestibilidad de los aminoácidos de la proteína que contiene la materia prima, este parámetro puede medirse también con el equipo NIR, utilizando modelos de predicción para aminoácidos digestibles, que han sido desarrollados por proveedores de aminoácidos sintéticos como Adisseo® o pueden calcularse mediante modelos matemáticos y tablas, basadas en el tipo de materia prima y su contenido de proteína. “La ventaja de la formulación, bajo el concepto de proteína ideal, es que se obtienen mejores conversiones, al considerar únicamente la porción digestible en la formulación, se establece un candado de seguridad para la correcta utilización de la proteína, los aminoácidos y el nitrógeno aportado, evitando así los desbalances, excesos y deficiencias que afectan la productividad” [Leclercq, 2000].

Al formular un alimento para pollos, y en general para animales monogástricos, es muy importante además de considerar la variación existente en los aportes de los aminoácidos, conocer los coeficientes de su digestibilidad en contenidos totales. En los granos comúnmente utilizados, (maíz, arroz, trigo, etc.) son bajos, sin embargo, sus coeficientes de digestibilidad verdadera son constantes. Por otro lado, en el caso de los subproductos agrícolas (harina de soya, harina de coquito, girasol), son mayores que en los granos, y en forma más significativa, en los subproductos de origen animal (harina de carne y hueso, pluma, pescado, etc.), se tienen mayores contenidos de proteína pero digestibilidad menor que en una harina de soya, sin embargo, la concentración de proteína en la muestra es menos constantes que en los granos y las harinas de subproductos agrícolas.

Para la producción de alimentos, una vez conocida la composición, se programa la producción y se coordina el despacho de materia prima, la materia prima se pesa en la báscula y entra al proceso de molienda. Posteriormente, se dosifican los micronutrientes como vitaminas, enzimas y aminoácidos sintéticos para balancear la ración, se da el proceso de mezclado y la peletización en algunos casos; por lo general, para los concentrados no se aplica la peletización, aunque existe la ventaja con los pelets de asegurar que en cada unidad, se le brinde al animal, la cantidad de nutrientes; necesaria para suplir las necesidades de nutrientes la energía requerida, la energía involucrada en el picoteo del alimento es muy alta, por lo que se prefiere suministrar el alimento en polvo.

El producto terminado también se libera de una forma rápida, midiendo su composición con el equipo NIR, utilizando una calibración para producto terminado. Para ello, es necesario desarrollar una ecuación para cada una de las etapas, ya sea fase 1, 2, 3 de engordes, o para las dietas de las gallinas ponedoras o reproductoras. El proceso antes mencionado, se ilustra en la Figura 3.2. Antes de enviar el alimento a las granjas ya sea a granel o en sacos, se debe garantizar que el alimento sale de la planta de producción libre o con el contenido mínimo permitido de micotoxinas. "Cuando la materia prima o el alimento terminado tiene contaminación por micotoxinas produce como consecuencia la muerte de los pollos en la granja" [Riera,2008], para evitar este problema se recomienda, realizar el control de micotoxinas desde la entrada de la materia prima en la planta, otros puntos que menciona el estudio de Riera, son:

- Concientización al productor sobre el riesgo de adquirir materia prima "supuestamente económica"
- Adquirir kits o metodología que permitan al producto monitorizar la presencia de micotoxinas. Los kits rápidos de identificación funcionan mediante el método ELISA, estos permiten determinar ausencia o presencia de micotoxinas, o calcular el ámbito de concentraciones.
- Hacer prueba de monitoreo cada vez que se adquiera materia prima nueva.
- Evitar el almacenamiento prolongado de los granos post-cosecha.

El trabajo con NIR permite integrar las operaciones de varios departamentos, basándose en los resultados rápidos del equipo, tal y como se ilustra en la Figura 3.3, donde las diferentes operaciones dentro de la planta están conectadas iniciando en el rechazo de materia prima o reclamo a proveedores, hasta la entrega del producto en las granjas con el análisis químico del producto terminado.

En resumen, la materia prima, se inspecciona a la entrada de los contenedores en la planta, los resultados pueden exportarse simultáneamente al departamento de compras, para que acepte la mercadería y realice el pago de acuerdo con la calidad de la materia prima y al departamento nutrición para que se les clasifique de acuerdo con la calidad de los granos o que del todo, se les rechace como producto fuera de especificación, a la entrada de las básculas en el despacho de materias primas, como se muestra en la Figura 3.2, se puede formular en tiempo real, pues se

conoce el contenido de proteína, grasa, fibra, ceniza, humedad y almidón y en algunos casos, se puede trabajar en conjunto con proveedores de aminoácidos como las empresas Evonik, o Adiseo las cuales brindan la lectura del perfil de aminoácidos como lisina, metionina, treonina entre otros, trabajando en línea con la computadora del laboratorio, haciendo la lectura con las curvas de aminoácidos que la empresa ha desarrollado para uso interno y como un valor agregado a sus clientes. Igualmente el producto terminado, también puede ser inspeccionado, utilizando una curva para producto terminado específico para cada formulación.

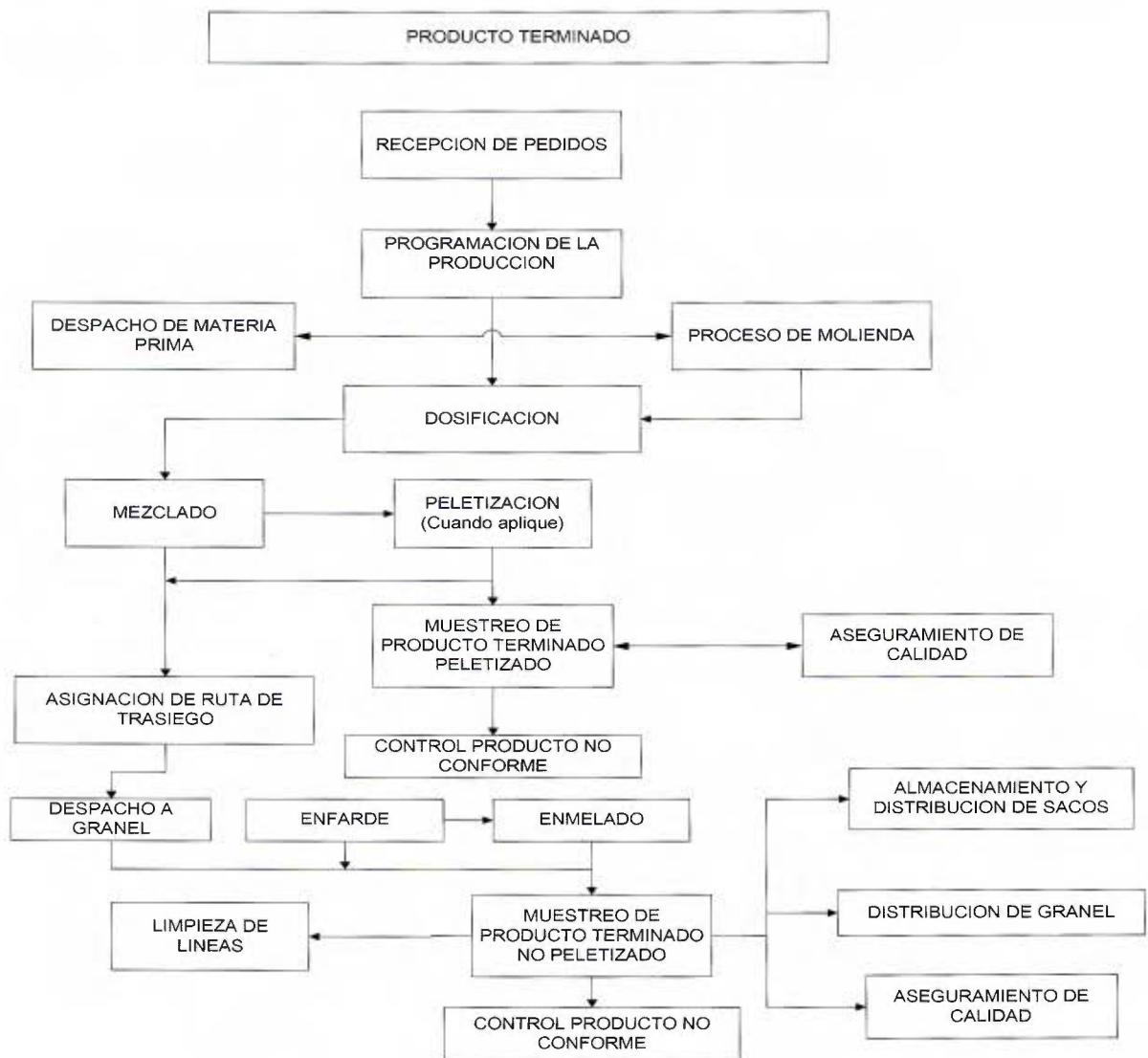


Figura 3.2 Diagrama de bloques para el proceso de producción de alimentos concentrados.



Figura 3.3 Integración de los departamentos en la planta de producción de alimento balanceados para aves, basado en los resultados rápidos generados con el equipo NIR.

Un parámetro que también se mide antes de liberar el producto terminado, es la presencia de micotoxinas, las cuales hasta este momento, enero 2010, no es posible medir con equipos NIR, sin embargo, varias empresas de nutrición animal están haciendo investigaciones, para lograr medir las micotoxinas con tecnología NIR, en el modelo de equipo NIR XDS, este equipo tiene límites de detección menores ya que, cuantifica la señal del espectro cada 0,5nm, el equipo que se utilizó en esta investigación lo hace cada 2nm.

CAPÍTULO 4

MATERIALES, EQUIPO Y METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

En este capítulo, se presenta la metodología seguida en desarrollo del proyecto, la cual incluye los objetivos, los procedimientos y la selección de los diseños estadísticos de los experimentos, para cada una de las mediciones llevadas a cabo. Además, se incluyen las características de las materias primas, los equipos y los reactivos utilizados.

4.1 INTRODUCCIÓN

En el análisis tradicional de las proteínas, la metodología aplicada en los laboratorios se asocia con el método *Kjeldahl*. El desarrollo de nuevas tecnologías, que utilizan técnicas de análisis como los espectrofotómetros infrarrojos cercanos, brinda a los laboratorios, opciones alternativas para agilizar el análisis tradicional. El NIR, tecnología de punta, en el año 2009, viene a sustituir los métodos tradicionales, en el sentido de que requiere menos tiempo para obtener resultados, al igual que minimiza la producción de desechos de análisis. Como el NIR es un método nuevo, su utilización en los laboratorios de control de calidad se debe demostrar como alternativa viable, eficiente, económica y certera en comparación con el método *Kjeldahl*.

Hasta la fecha (agosto 2009), no existen datos técnicos ni información experimental que sustente la calidad superior del método NIR, por ende, el objetivo de la etapa experimental de este proyecto es: recopilar información estadística que determine la eficiencia del método NIR en comparación con el método *Kjeldahl*, para la determinación del porcentaje de proteína en materias primas, para concentrados alimenticios.

4.2 DEFINICIÓN DE LAS VARIABLES Y PARÁMETROS QUE AFECTAN LA EXPERIMENTACIÓN

Todo proceso experimental conlleva la utilización de parámetros que varían y permiten el análisis integral del efecto que tienen sobre un proceso determinado: variables de la experimentación. Estas últimas a su vez, se clasifican en 4 grandes categorías: variables de experimentación (son aquellas

que se perturban y alteran el proceso), variables fijas (aquellas que por su naturaleza en un principio fueron variables de experimentación, pero por las condiciones del proceso, permanecen constantes durante el mismo), parámetros (son aquellas variables de las que no se posee ningún control de variación y por ende, se convierten en fijas predeterminadas por las condiciones del proceso) y variables de respuesta (son aquellas que representan y plasman las perturbaciones hechas en el proceso por los otros 3 tipos de variables). A continuación, se presentan los parámetros y variables que afectan la comparación del método NIR con respecto al método tradicional.

4.2.1 VARIABLE DE EXPERIMENTACIÓN

Para la evaluación del objetivo experimental, se definen en las condiciones de experimentación, las siguientes variables de experimentación:

1. Tipo de sustrato: acemite, maíz, DDGs, puntilla de arroz, semolina y harina de soya.
2. Método de análisis químico utilizado para determinación de proteína: M1, método Kjeldahl y M2, método NIR.

Para la harina de soya, se realiza un análisis adicional con el método Dumas M3, debido a que durante la primera etapa de análisis, se encuentran desviaciones de más del 3% en algunos casos entre el valor del método de referencia, el método NIR y el valor certificado por el proveedor.

4.2.2 VARIABLE DE RESPUESTA

Los métodos de análisis anteriormente descritos en las variables de experimentación reportan directamente la variable de respuesta; la variable de respuesta para el diseño experimental es el porcentaje de proteína para cada una de las materias primas. En el caso del método Kjeldahl M1 y el método Dumas M3, se cuantifica inicialmente el porcentaje de nitrógeno obtenido a partir del proceso de digestión y combustión respectivamente, ese porcentaje de nitrógeno se multiplica por el factor para proteína, el cual depende del tipo de materia prima. En el caso del método NIR, el porcentaje de proteína se calcula directamente utilizando el modelo matemático que se desarrolla basándose en los datos de referencia.

4.2.3 VARIABLES FIJAS

Las variables fijas son diferentes para cada método utilizado; a continuación, se describen para cada metodología las variables fijas:

Para la determinación de proteína por método Kjeldahl:

1. Tipo de molino, diámetro de tamiz 1mm.

Para la medición con el espectrofotómetro NIR, y el equipo de combustión, se tienen las siguientes condiciones:

1. Humedad relativa: 35%
2. Temperatura ambiente: 25 C
- 3.Ámbito de longitud de onda del equipo NIR: 570 nm-1850 nm. En este ámbito, se fija la longitud de onda para medir proteína según el tipo de sustrato.
4. Tipo de celda.
5. Temperatura de combustión.

4.2.4 PARÁMETROS

Los parámetros de la etapa de experimentación se fijan basándose en la metodología AOAC seguida para el método Kjeldahl con bloque de digestión y para el método de combustión. Estos parámetros son:

1. Masa del sustrato, se utiliza 1 g de muestra.
2. Tiempo y temperatura de digestión. Se digiere por 1 hora a 420 C.
3. Volúmenes de reactivos y masa de catalíticos: 12 mL de H₂SO₄, 50 mL de NaOH, 30 mL de H₃BO₄, 80mL de agua y 2 tabletas de catalítico.
4. Tiempo de destilación: 4 minutos.

4.3 MÉTODOS DE ANÁLISIS

Para evaluar la precisión y exactitud del equipo Infracact, el cual trabaja utilizando la tecnología NIR vs. el método de referencia mediante análisis Kjeldahl descrito en el procedimiento 979.09 AOAC 2005 del manual AOAC, se lleva a cabo la medición de 6 diferentes materias primas de origen vegetal, se mide la proteína con ambos métodos para posteriormente realizar una comparación estadística entre los promedios de los resultados y sus respectivos valores de desviación estándar.

4.3.1 PREPARACIÓN DE MUESTRA

Muestras representativas de cada ingrediente, se cuartean y muelen en el laboratorio de concentrados, utilizando un molino Retch modelo ZM 200, con un tamiz de 1,0mm para estandarizar el diámetro de partícula de las muestras. Se muelen 750g en total de cada muestra de materia prima.

Las muestras se almacenan en bolsas selladas y se espera a que lleguen a la temperatura ambiente del laboratorio, para evitar errores en la predicción del NIR por variaciones en la temperatura. Se determina el contenido de proteína en cada materia prima, tal y como se describe el 4.3.2 y 4.3.3

4.3.2 DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA UTILIZANDO EL MÉTODO POR INFRARROJO CERCANO NIR

Se mide el contenido de proteína en las muestras de materias primas previamente molidas, realizando 10 lecturas de la misma muestra con el espectrofotómetro infrarrojo cercano. La muestra se coloca en la celda del equipo para muestras molidas y se lee utilizando el equipo NIR InfraXact marca Foss, modelo Pro en conjunto con la calibración ANN para materias primas de concentrados alimenticios, para animales número de parte 10013191, desarrollada por el fabricante.

Para cada una de las 10 lecturas, se mezcla nuevamente el producto con la muestra en la bolsa y se procede a llenar nuevamente la celda para la siguiente lectura.

Las muestras se analizan en el laboratorio de alimentos concentrados de la Cooperativa de productores de leche Dos Pinos, posteriormente, las muestras escaneadas con el espectrofotómetro infrarrojo se envían al laboratorio de referencia.

4.3.3 DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA UTILIZANDO EL MÉTODO KJELDAHL SEGÚN AOAC 979.09 2005

Se calcula el contenido de nitrógeno en las muestras de materias primas, siguiendo el método oficial 979.09 AOAC 2005 para determinación de proteína cruda en alimentos balanceados, forrajes granos y semillas; esto es aplicable para muestras que contengan desde 0,5% hasta 50% de nitrógeno Kjeldahl.

Las muestras se analizan utilizando el método Kjeldahl con bloque de digestión de acuerdo con el procedimiento AOAC antes mencionado, el equipo utilizado se describe en el cuadro 4.4.3. Para el caso de la harina de soya, la cual fue la materia prima que presentó mayor variación entre los valores de proteína, se realizaron 2 análisis en paralelo en 2 laboratorios diferentes.

4.4 MATERIALES

Para evaluar la exactitud, la precisión del método de referencia y el NIR se eligen 6 sustratos de origen vegetal más comunes en las plantas de concentrados de Centroamérica. Se detalla a continuación los materiales: materias primas, reactivos y equipo utilizados durante la realización de este proyecto:

4.4.1 MATERIAS PRIMAS

Se toman 6 diferentes materias primas de origen vegetal: acemite, maíz, DDGs, puntilla de arroz, semolina de trigo y harina de soya. En el cuadro 4.1, se detallan las materias primas utilizadas y sus proveedores.

Cuadro 4.1 Materias primas empleadas en la etapa experimental

Materia Prima	Proveedor
Acemite	Molinos de Costa Rica S.A
Maíz	Archer Daniel's Midland(Importado EE.UU)
DDGs	Archer Daniel's Midland(Importado EE.UU)
Puntilla de arroz	Macoasa
Semolina	Macoasa
Harina de Soya	Inolasa S.A

4.4.2 REACTIVOS

Para realizar la determinación de proteína mediante el método *Kjeldahl* en las 6 materias primas del cuadro 4.1, se utilizan los reactivos que se tabulan en el cuadro 4.2, descritos también en el método AOAC 979.09 2005.

Cuadro 4.2 Reactivos utilizados en la determinación de proteína en materias primas

Reactivo	Marca	Pureza	Calidad
Tabletas de catalítico Kjeltabs(3,5gK ₂ SO ₄ +0,4g CuSO ₄)	Foss	99%	Reactivo
Ácido clorhídrico	Merck	0,1000M	Reactivo /Titrisol®
Etanol	Sigma-Aldrich	95%	Reactivo
Sulfato de amonio	Sigma-Aldrich	99,0%	Reactivo ACS
Verde de bromocresol	Sigma-Aldrich	95%	Reactivo ACS
Rojo de metilo	Sigma-Aldrich	95%	Reactivo ACS
Ácido Bórico 99,5%	Sigma-Aldrich	99,5%	Reactivo plus
Lisina	Sigma-Aldrich	98,5-101,0%	Estándar primario
Hidróxido de sodio 99,5%	Sigma-Aldrich	98%	Reactivo
Ácido sulfúrico 98%	Sigma-Aldrich	95,0-98,0%	Reactivo ACS

4.4.3 EQUIPO

En el cuadro 4.3 se especifican los principales equipos requeridos en las diferentes etapas de experimentación. En el caso de la balanza analítica usada para pesar las muestras, el número de serie del equipo no estaba visible y era necesario remover la placa con el número de identificación interno del laboratorio.

Cuadro 4.3. Equipo utilizado para la etapa experimental

Equipo	Marca	Modelo	Ámbito	Número de serie
Molino Retch	Retch	ZM 200	Tamiz 1mm	12104047123
Balanza Analítica	Sartorius	BP221S	220g ±0,1mg	ND
Bloque de digestión	Foss	DS2020	25C-420C	962344/520014897
Destilador para Proteína	Foss	KT2200	0,1 a 200mg N	44147/ 520000349
Espectrofotómetro NIR	Foss	Infraxact	570nm-1850nm	520019240
Sistema de combustión	Elementar	Rapid N	0,1 a 200mg N	ND

4.5 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL PARA LA COMPARACIÓN DE MÉTODOS Y MODELO ESTADÍSTICO

Para evaluar el objetivo de la etapa experimental, se realiza la medición de proteína con cada uno de los métodos propuestos, cada materia prima se lee realizando 10 repeticiones de cada una. Se comparan los resultados de los promedios de porcentaje de proteína para cada uno de los métodos antes descritos utilizando la prueba comparativa de t-Student, para un modelo de 6 experimentos con 10 repeticiones cada uno, y de esta forma, determinar la validez de la suposición de la igualdad en la exactitud de los métodos experimentales. Por otro lado, se comparan las desviaciones estándar de las 10 repeticiones para evaluar la repetibilidad de ambos métodos. Todos los cálculos estadísticos se realizan utilizando una hoja de cálculo electrónica.

4.6 PLANTEAMIENTO DE LA HIPOTESIS

Se plantea para evaluar la exactitud del método NIR:

$H_{0\mu}$ = No existe diferencia significativa entre las medias: $\mu_{M1} = \mu_{M2}$

$H_{1\mu}$ = Existe diferencia significativa entre las medias: $\mu_{M1} \neq \mu_{M2}$

Por otro lado, para evaluar la precisión de cada uno de los métodos, se comparan las desviaciones estándar de las 10 mediciones de proteína con cada uno de los 2 métodos, se plantea la hipótesis:

H_{0s} = No existe diferencia significativa entre las desviaciones estándar: $s_{M1}=s_{M2}$

H_{1s} = Existe diferencia significativa entre las medias de las desviaciones estándar: $s_{M1}\neq s_{M2}$

En resumen, se delimita en este capítulo, el alcance de la fase experimental, se definen las 6 materias primas por evaluar, con el método de referencia y con el equipo NIR, el equipo y los reactivos empleados en cada uno de los análisis y la metodología utilizada, se describen las secciones 4.3 y 4.4, por último, el planteamiento de la estadística utilizada para la comparación de la exactitud y la precisión entre métodos, se describe en la sección 4.5. Una vez realizada la etapa experimental, se comparan las medias de cada una de las materias primas, para determinar la exactitud de cada uno de los métodos y las varianzas para evaluar la precisión de cada uno de ellos.

CAPÍTULO 5

ANÁLISIS DE RESULTADOS EXPERIMENTALES, COMPARACIÓN DEL MÉTODO NIR CON EL MÉTODO TRADICIONAL KJELDAHL

En este capítulo, se realiza el análisis de los resultados obtenidos durante la parte experimental de este proyecto de investigación, la comparación de los métodos para definir si existe diferencia significativa entre el método que utiliza la espectroscopia NIR y el método de referencia *Kjeldahl* para una muestra en específico de 6 diferentes materias primas, y cuál de los 2 tiene mayor precisión y exactitud, si se comparan los resultados suministrados por el proveedor de materia prima con el porcentaje de proteína de cada una de las muestras de materia prima.

Los resultados de porcentaje de proteína para cada una de las 6 materias primas, se muestran en el Cuadro 5.1, se incluyen el porcentaje obtenido con el equipo NIR, utilizando como modelo de predicción desarrollado para paquete de calibración de materias primas, los resultados del laboratorio de referencia analizados con el procedimiento tradicional por método *Kjeldahl* y el porcentaje de proteína que reporta el proveedor de materia prima a la planta de alimentos.

Cuadro 5.1 Porcentaje de proteína obtenido con 2 diferentes técnicas de análisis y porcentaje de proteína garantizado por el proveedor de materias primas, para 6 materias primas de origen vegetal diferentes.

Muestra	Promedio de proteína para 10 repeticiones método <i>Kjeldahl</i> (%)	Promedio de proteína para 10 repeticiones método NIR (%)	Porcentaje de proteína certificado por el proveedor (%)
Acemite	15,21	17,37	14,00
Maiz	7,29	7,84	7,00
DDGs	25,47	25,17	26,00
Puntilla de Arroz	7,4	7,79	8,00
Semolina	10,2	12,11	12,00
Harina de soya Laboratorio 1	45,41	48,35	48,48
Harina de soya Laboratorio 2	45,25	48,35	48,48
Harina de soya Laboratorio 3	48,22	48,35	48,48

Para la harina de soya, se realizaron mediciones en 3 laboratorios diferentes, pues se registraron diferencias de más de 3% entre el método de referencia y el porcentaje de proteína que certifica el proveedor.

La hipótesis nula, para la primera parte del análisis de resultados, plantea que no hay diferencia significativa entre los resultados de las medias obtenidas por el método *Kjeldahl* y el método NIR; la comparación entre el resultado de ambos métodos se realizó utilizando el programa de la hoja de cálculo electrónica, los resultados de las pruebas t de Student se muestran en el Cuadro 6.2 junto con el resultado para la prueba de hipótesis para un nivel de significancia del 95% y un total de 10 análisis con los 2 métodos para cada materia prima.

Cuadro 5.2 Resultados para la prueba de hipótesis planteada para evaluar si las medias del método de referencia y el método alternativo NIR son iguales, para un nivel de significancia de 95%

Muestra	Valor crítico t-Student 2 colas	Valor t calculado (2 colas)	Prueba de Hipótesis $\mu M1 = \mu M2$
Acemite	2,26	2,98	Se rechaza
Maiz	2,26	12,22	Se rechaza
DDGs	2,26	4,48	Se rechaza
Puntilla de Arroz	2,26	4,76	Se rechaza
Semolina	2,26	10,14	Se rechaza
Harina de soya Lab 1	2,26	11,59	Se rechaza
Harina de soya Lab 2	2,26	15,77	Se rechaza
Harina de soya Lab 3	2,26	0,80	No se rechaza

Para las materias primas: acemite, maíz, DDGs, puntilla de arroz, semolina y la harina de soya, analizadas en los laboratorios uno y dos, se rechaza la hipótesis nula y por lo tanto, se acepta la hipótesis alternativa, por ello existe diferencia significativa entre el resultado del método de referencia para proteína y el resultado del equipo NIR para el mismo parámetro. En el caso particular de la harina de soya, por ser el ingrediente de mayor costo en todo el proceso de producción, se realizó una corrida extra en el laboratorio de la planta de balanceados, pues la diferencia entre el porcentaje certificado por el proveedor y el resultado de los laboratorios externos 1 y 2 es cercana al 3%, valor que representa esta diferencia representa pérdidas de cientos de miles de dólares anualmente para la planta, basándonos en la producción de 60 000 toneladas de alimento por año. El resultado de este último análisis se muestra en la última fila del Cuadro 5.2, controlando la humedad relativa al 35%, aumentando el tiempo de destilación a 5 minutos,

obteniendo aproximadamente 220mL de destilado, 20mL más de destilado que en los laboratorios 1 y 2, se mantuvo temperatura del laboratorio en 20C-21C. En este caso, no se rechaza la hipótesis nula por lo tanto, no se acepta la hipótesis de que exista diferencia significativa entre los 2 métodos, el resultado de los análisis es del 48,35% con una desviación estándar de 0.31 de proteína utilizando el equipo NIR, contra un 48,22% de proteína obtenida utilizando el método *Kjeldahl* la desviación estándar, en este caso es de 0,37% con las variables fijas mencionadas anteriormente. Por otro lado, se realiza una verificación con un tercer método de referencia utilizando un sistema por combustión mediante el método de Dumas, en el cual se obtiene un promedio de 48,63% de proteína con una desviación del 0,30, el cual es ligeramente mayor al porcentaje certificado por el proveedor, pues con este método, se incluyen en el resultado el nitrógeno proveniente de las sales como nitratos y nitritos que se encuentran en la muestra.

Por otro lado, cuando se compara la exactitud de ambos métodos con el valor certificado por el proveedor, se encuentra que para las materias primas: harina de soya, semolina y puntilla de arroz y el resultado de la técnica NIR es más exacto que el método tradicional. El DDGs, el maíz y el acemite analizados mediante el método *Kjeldahl* dan valores más cercanos al porcentaje de proteína certificada por el proveedor. Estos valores se muestran en el Cuadro 5.1.

Para la harina de soya, por lo tanto, no existe suficiente evidencia para rechazar la hipótesis que supone la igualdad sobre las medias entre los 2 métodos, las varianzas de ambos métodos tienden a ser iguales. El valor de t calculado es igual a 0,80 para un 95% de confianza, el valor crítico para rechazar la hipótesis nula sobre la igualdad de las medias y aceptar la diferencia entre las mismas es de 2.26. Como se muestra en la Figura 6.1, la distribución de los valores obtenidos por NIR es aleatoria sobre la línea de 45 grados que representa la función identidad entre el método de referencia y el método NIR, igualmente los resultados del método Dumas, que se utiliza para confirmar el resultado del NIR y del Laboratorio 3, se distribuyen aleatoriamente sobre la línea de la función identidad, y todos los valores se ubican alrededor del valor certificado por el proveedor, comportamiento diferente al que se muestra con las otra materias primas, donde la predicción del equipo NIR tiende a estar por encima para el maíz, puntilla de arroz, acemite y semolina o por debajo de la línea de la función identidad como en el caso de los DDGs.

Lo planteado en el párrafo anterior sugiere que para las otras materias, excepto la harina de soya, es necesario realizar un ajuste del intercepto de la curva, el cual debe ser evaluado con al menos 10 muestras en todo el ámbito de concentraciones de proteína para cada una de las materias primas, pues los resultados estadísticos obtenidos plantean que existe diferencia significativa entre el método de referencia o *Kjeldahl* y el valor de proteína que brinda la calibración, excepto para la harina de soya. Sin embargo los lotes de materia prima presentan diferentes composiciones, ya que la materia prima no es completamente homogénea, por esto, para el departamento de producción para los nutricionistas, la variación de proteína entre un mismo lote de materia prima es mayor que la variación entre el método *Kjeldahl* y el método NIR, como se muestra en el Cuadro 5.3.

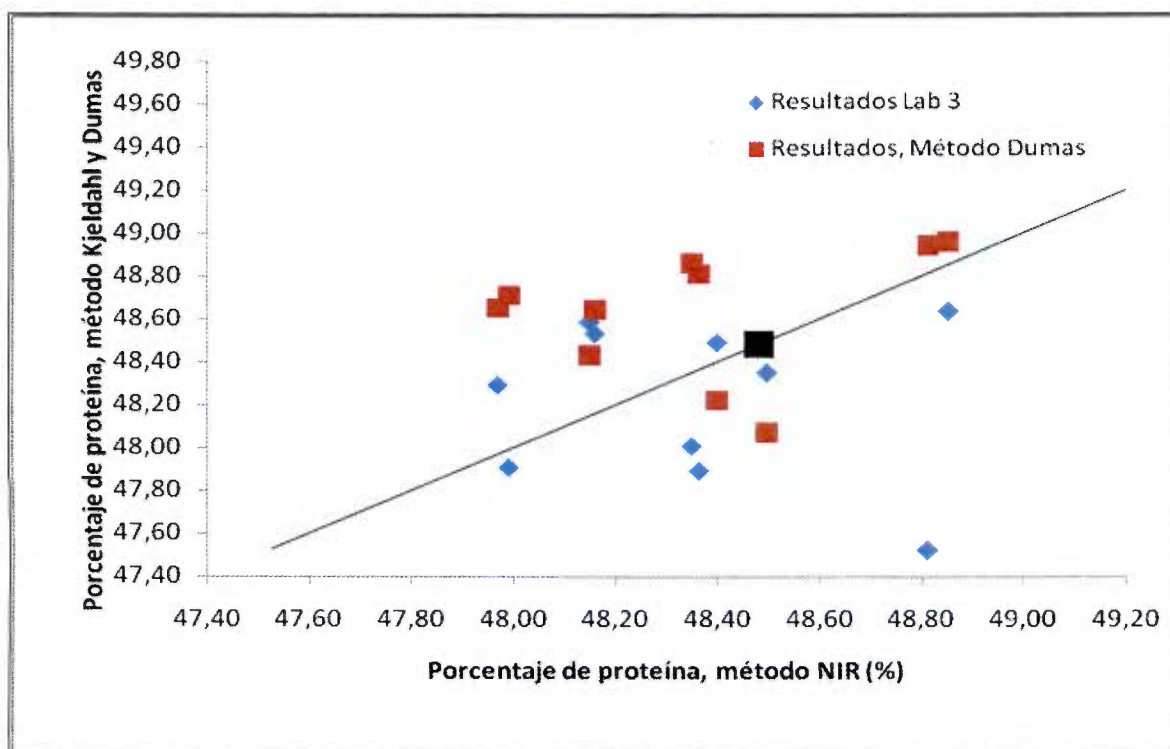


Figura 5.1 Resultados de laboratorio para harina de soya, muestras medidas con método NIR, *Kjeldahl* y sistema de combustión Dumas.

Los resultados que se muestran en el Cuadro 5.3, son de un mismo lote de harina de soya, analizado el 18 de enero del 2008, cuando se realiza la diferencia entre la muestra 21685 que contiene de acuerdo al método de referencia 47,07% de proteína y la muestra 21401 que contiene

48,96%, se encuentra una diferencia de 1,89% de proteína para el mismo lote, esta diferencia es casi 3 veces mayor que la diferencia promedio entre los 2 métodos, que tiene un valor de 0,7%.

Cuadro 5.3 Resultados de variación en el contenido de proteína para un mismo lote de harina de soya, analizada por el método de referencia por combustión de Dumas y el equipo NIR

Referencia	Método Dumas (%)	Método NIR (%)	Diferencia entre métodos (%)
21401	48,96	48,40	0,56
21452	48,64	47,90	0,74
21475	48,81	47,87	0,94
21484	48,71	47,73	0,98
21485	48,43	47,71	0,72
21516	48,65	47,76	0,89
21561	48,86	47,87	0,99
21562	48,22	47,61	0,61
21569	48,07	47,40	0,67
21646	48,94	48,32	0,62
21668	47,96	47,32	0,64
21685	47,07	46,85	0,22
21708	48,82	48,19	0,63
21709	48,43	47,90	0,53
21795	48,42	47,69	0,73
Promedio	48,47	47,77	0,70
Desviación estándar	0,49	0,39	

En la Figura 5.2, se observa que para las 10 mediciones llevadas a cabo para los DDGs, existe una tendencia de predicción del modelo de predicción menor a lo esperado en 9 de 10 mediciones, los valores se ubican por debajo del valor certificado por el proveedor, el cual corresponde a 26,0% de proteína, para los DDGs la hipótesis de igualdad de medias se rechaza aceptándose que existe diferencia significativa entre ambos métodos, pues el valor de $t_{\text{calculado}}$ es mayor que el valor crítico de t para 2 colas, para esta materia prima es necesario realizar una validación en todo el ámbito de concentraciones de DDGs que utiliza la planta de alimentos, la cual usualmente se encuentra entre el 25 y el 26% de proteína. Los resultados obtenidos sugieren que es necesario, posterior al proceso

de validación descrito en el capítulo 7 bajo el apartado 7.4, realizar un ajuste de intercepto de la curva y evaluar nuevamente el error de predicción de la curva.

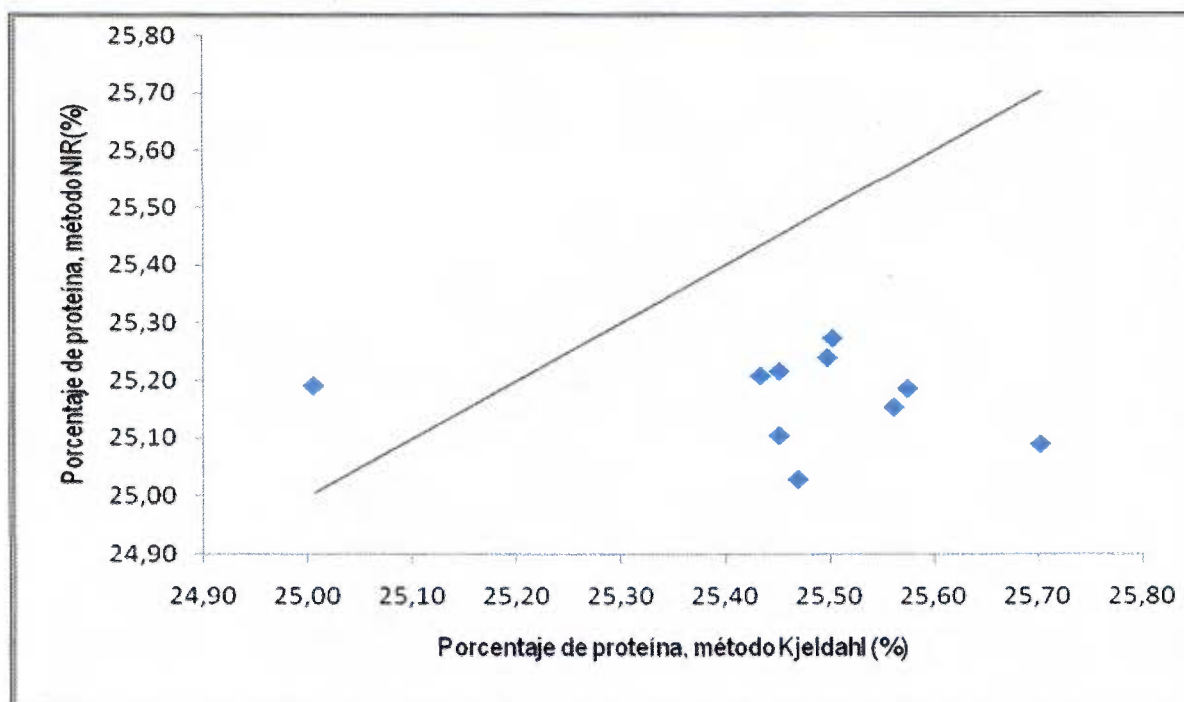


Figura 5.2 Resultados de laboratorio para DDGs, muestras medidas con método NIR y con el método *Kjeldahl*, porcentaje de proteína certificado por el proveedor 26.0% de proteína.

El procedimiento para el ajuste de intercepto se describe también en el documento ISO/DIS 12099 bajo la sección 7.3.1. Por otro lado, para las otras materias primas: el maíz, la puntilla de arroz, el acemite y la semolina, también se rechaza el supuesto de la igualdad de medias y el los gráficos del porcentaje de proteína medida por el método *Kjeldahl* contra el valor reportado por el equipo NIR, se encuentra una tendencia de predicción mayor por el modelo de predicción del NIR, para todas las materias primas de este grupo será necesario también realizar el proceso de validación y ajuste de intercepto y una posterior evaluación para determinar si los errores estándares de predicción son aceptables para el departamento de producción y control de calidad o si es recomendable realizar una calibración local como alternativa al trabajo con la calibración ANN. Como consecuencia de la diferencia en los resultados entre las medias, no es posible utilizar la calibración para materias

primas para el maíz, la puntilla de arroz, el acemite y la semolina, sin antes realizar un proceso de validación, ajuste de intercepto o expansión de la curva de materias primas .

Un aspecto que hay que tomar en cuenta en todo momento cuando se trabaja con tecnología NIR es la precisión y exactitud del método de referencia, dado que las calibraciones o modelos de predicción del equipo “heredan el error” de los métodos de referencia utilizados en el desarrollo de los modelos, las predicciones de NIR dependen de la precisión de los métodos de referencia. Cuando se desarrollan modelos de predicción, o se realizan los procesos de validación y actualización de calibraciones, es imprescindible conocer el error del método de referencia, en la Figura 5.3, se muestra esta variación para 10 muestras de harina de soya,

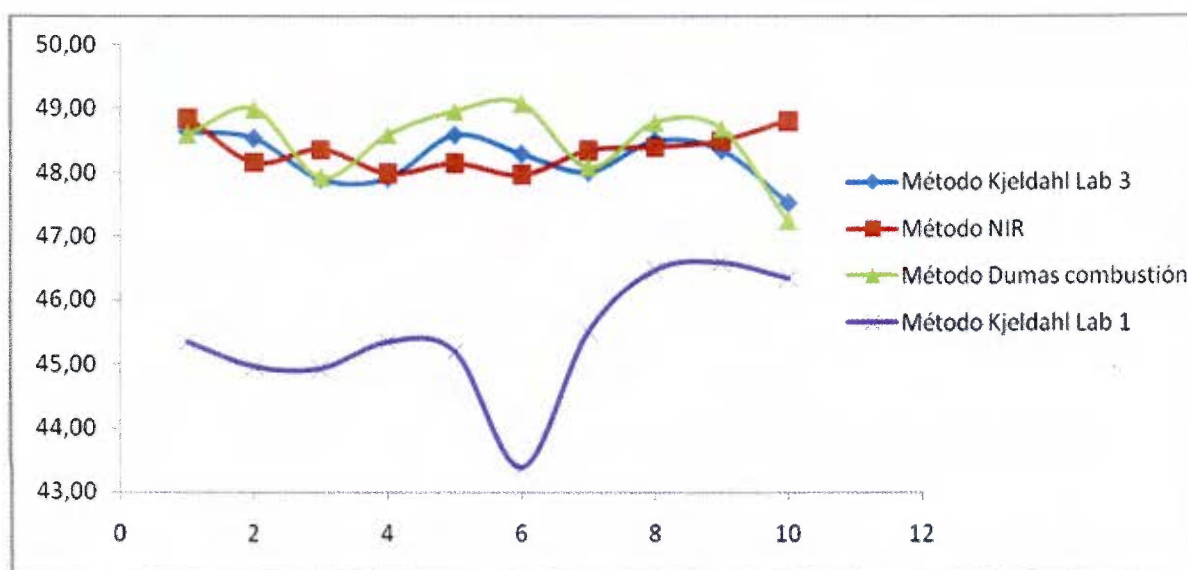


Figura 5.3 Resultados de determinación de proteína en 10 muestras de harina de soya con 2 diferentes métodos de referencia y el método NIR

La línea de tendencia verde, que representa los resultados del método de referencia de combustión Dumas, muestra una tendencia a una predicción mayor al método *Kjeldahl* del laboratorio de la planta de producción 3 y del método NIR, el porcentaje de proteína certificado por el proveedor es de 48,48% el método de referencia del proveedor es el método Dumas por combustión, como en este método el contenido de nitratos y nitritos se incluye como “nitrógeno *Kjeldahl*” el porcentaje de proteína que se determina por este método, tiende a estar por arriba de el otro método de referencia, este caso el método *Kjeldahl* , por otro lado en el laboratorio 1, no se controla la

temperatura ni la humedad relativa del ambiente, el tiempo de digestión y destilación es menor que en el laboratorio 3, por lo tanto hay una digestión y destilación incompleta, unido a esto, la temperatura

En resumen, únicamente para la harina de soya, la curva de materias primas no rechaza la hipótesis nula que plantea la igualdad entre las medias, para las otras materias primas es necesario realizar un ajuste de intercepto y un proceso de validación del modelo de predicción, sin embargo la heterogeneidad de un mismo lote, muchas veces es mayor que la diferencia entre métodos, como se muestra en el Cuadro 6.3, con una muestra de harina de soya. Para esta materia prima en particular se recomienda realizar la destilación y la titulación en un ambiente controlado, pues cuando se realiza a temperaturas y humedades relativas altas se reportan porcentajes de proteína más bajos como se muestra en la Figura 6.3 donde se muestra la variación entre 2 laboratorio con el mismo método de referencia: *Kjeldahl* y el laboratorio de servicio de la planta que utiliza como método de referencia el método Dumas.

CAPÍTULO 6

EVALUACIÓN DE COSTOS

En su libro *Plant design and economics for chemicals engineers* [Peters,2003], plantea que todo nuevo proyecto desde la compra de nueva tecnología para la planta de producción hasta la construcción desde cero de una mega planta requiere un compromiso con los fondos de capital utilizados para la puesta en marcha del proyecto. En las empresas privadas, este compromiso se refiere principalmente a lograr un retorno de inversión atractivo para los inversionistas del proyecto, sin embargo, la viabilidad del proyecto también toma en consideración otros factores que pueden ser atractivos para los inversionistas, además del dinero generado a partir de la producción y venta, estos incluyen aspectos ambientales, seguridad para los empleados y vecinos del lugar, necesidad de diversificación, tiempos de producción, entre otros.

En el presente capítulo, se realiza una evaluación de los costos de inversión del proyecto, se cuantifican los costos de inversión para el equipo, los costos de la preparación física del laboratorio para instalar este tipo de tecnología, estos requerimientos de instalación se detallan en el capítulo 2 en la sección 2.4.4, y finalmente, los costos de laboratorio para el proceso de validación de los modelos de predicción y los costos de mantenimiento preventivo anual.

En el Cuadro 6.1, se detalla la configuración propuesta para el equipo NIR, se incluyen las ecuaciones o calibraciones para materias primas, el sistema de pantalla táctil para el espectrofotómetro, el paquete de copas para producto molido y sin moler (maíz, trigo y soya en grano). También se incluye un sistema para control de picos de corriente con el fin de prevenir daños en los componentes electrónicos del equipo; como el ámbito de temperaturas del NIR es de 0 hasta 40 grados Celsius no se ha incluido el costo del sistema de aire acondicionado, pues este ámbito incluye las temperaturas de operación usuales en las plantas de piensos, sin embargo, si el laboratorio no cuenta con un sistema de aire acondicionado, este costo deberá incluirse en la evaluación económica.

Para los ítems del 1 al 6 del Cuadro 6.1 también se consideran los costos asociados al proceso de validación de las calibraciones incluidas en el equipo, las cuales deben de ser validadas con al menos 20 muestras de cada materia prima por analizar; este conjunto de muestras deberá incluir muestras con diferentes concentraciones de cada uno de los parámetros a medir: proteína, grasa,

fibra cruda, humedad, ceniza y almidón, dentro de los ámbitos de muestras incluidas en la calibración, por ejemplo para harina de soya, se incluyen muestras desde 42.7% hasta 50.0%, por lo tanto, el conjunto de muestras de validación para la calibración debe incluir muestras de harina de soya dentro de ese ámbito de concentraciones. El costo de un análisis proximal para los 6 constituyentes antes mencionados es de 60USD, costo suministrado por el laboratorio de servicio Lambda, ubicado en San José, Costa Rica, para cada una de las 6 materias primas son necesarias 20 muestras de validación, por lo tanto, los costos totales de análisis de laboratorio (CTAL) para las muestras de validación se calculan como:

$$\text{CTAL} = 60\text{USD por muestra} \times 20 \text{ muestras} \times 6 \text{ materias primas} \quad (6.1)$$

Es así como se obtiene el resultado para el total de siete mil quinientos dólares para gastos de validación de las ecuaciones: $\text{CTAL} = 7200\text{USD}$

Cuadro 6.1 Evaluación de costos de inversión para la instalación y puesta en marcha del sistema de análisis NIR en la planta de alimentos para pollos

Item	Equipo	Costo (USD)
1	Espectrofotómetro Infrarrojo cercano NIR, modelo Infracact	70 620
2	Pantalla táctil para espectrofotómetro	9 137
3	Paquete de calibraciones para materia prima: harina de soya, maíz, trigo, semolina, afrecho, DDGs.	4 952
4	Celdas para producto molido, 10 celdas	1 780
5	Celdas para producto sin moler, 5 celdas	1 950
6	Sistema para regulación de picos de corriente	2 500
7	Instalación y entrenamiento del personal	3 000
8	Impuestos de ventas(13%) para items del 1 al 6	11 822
9	Costos de laboratorio para validación de curvas=20 muestras de 6 materias primas, costo de análisis proximal por muestra 60USD.	7 200
Costo total de inversión (USD)		112 961

El cálculo del ahorro en reactivos por muestra, incluyendo el ahorro en los costos de mano de obra del analista del laboratorio, uso de equipo, gastos de tratamiento de desechos sólidos y líquidos generados por el análisis, se calcula dividiendo los 60 USD entre los 6 parámetros que se incluyen en el análisis bromatológico de la muestra: la proteína, la fibra cruda, la grasa, la humedad, la ceniza y el almidón, dicho cociente da como resultado 10 USD por muestra por parámetro analizado.

La evaluación de costos y cálculo del retorno de la inversión utilizando NIR, asociada al ahorro en los reactivos, se muestra en el Cuadro 6.2, en el que se utiliza el programa de software con una hoja de cálculo electrónica para realizar los cálculos. Para realizar los cálculos, se toma como base la siguiente información:

1. Se utilizan 312 días de producción al año, estos son los días de producción de la planta de alimentos. Los otros días son días que se utilizan para limpieza de silos, limpieza de las líneas de producción, evaluación de resultados, procesos de auditorías externas y pruebas de nuevos productos para evaluar nuevas concentraciones.
2. El valor del costo de mantenimiento preventivo anual del equipo 2190 USD, este costo incluye el cambio de la lámpara, la cual corresponde al único consumible del equipo más otra lámpara de respaldo, se supone que el número de muestras de cada lámpara tiene un costo de 435USD, dos días de servicio técnico de la empresa distribuidora del equipo, el cual tiene un costo total por 2 días de 520USD y 800USD por costo de transporte internacional y hospedaje del ingeniero de servicio técnico desde Costa Rica hacia Centroamérica que realiza la operación de mantenimiento preventivo, en caso de que el equipo esté instalado en Costa Rica, este cargo puede eliminarse.
3. Las muestras que se analizan por día son 6, correspondientes a las 6 materias primas que se utilizan en la formulación del alimento, no se consideran los costos actuales de análisis de producto terminado, eventualmente, el producto terminado también puede leerse con el equipo NIR.
4. El tiempo de depreciación de este equipo se estima en 7 años, de forma lineal, con un valor de salvamento de cero, por ser un equipo con características de alta tecnología, la cual tiende a cambiar para mejorar un corto tiempo; se fija un tiempo de depreciación igual al

tiempo de depreciación de equipos de cómputo que se utiliza en la planta de producción de alimento concentrado.

5. Las muestras control que se enviarán al laboratorio como monitoreo de los resultados del equipo NIR son una de cada materia prima, seis en total por semana como se menciona en el Cuadro 5.2. Estas muestras son adicionales a la muestra de chequeo que el estándar de ISO/ DIS 12099 exige correr diariamente, la cual está incluida en conjunto con los accesorios del equipo y buscan monitorear la exactitud del NIR con el método de referencia. Como se menciona en el punto 12 del documento anterior, el método NIR debe ser validado continuamente contra los métodos de referencia para garantizar que las calibraciones están prediciendo dentro del ámbito esperado y monitorear de la precisión del equipo. La frecuencia de verificación del equipo NIR debe ser suficiente para asegurar que el método funciona bajo estado estable, considerando las desviaciones aleatorias y sistemáticas del método de referencia. La frecuencia depende, entre otras cosas, del número de muestras de analizadas por día y de la variabilidad en la población de muestras. El monitoreo debe realizarse en muestras seleccionadas al azar dentro del conjunto total de muestras analizadas. Puede ser necesario recurrir a algunas de las estrategias de muestreo, para garantizar una distribución equilibrada a lo largo de el ámbito de concentraciones que se incluyen en la calibración y a la vez evaluar los resultados en la zona de concentraciones más frecuentes, por ejemplo, para garantizar la cobertura de las muestras con un ámbito de importancia comercial.
6. El costo total por año asociado al uso del equipo, se calculó como la suma del costo de mantenimiento anual 2 190 USD, más el costo asociado con la depreciación del equipo 16 137 USD, este valor es el resultado del cociente entre el costo total de inversión del Cuadro 5.1 y los 7 años en los que se deprecia el equipo, más el costo por las muestras de control que se mencionan previamente en el punto 5.

Tomando en cuenta las consideraciones anteriores, la inversión del equipo se recupera en un periodo de 1,50 años, aproximadamente 2 años de uso del equipo, este tiempo se calcula como el costo total de inversión (Cuadro 6.1) dividido entre los ahorros en análisis de laboratorio los cuales corresponden a 75 273 USD.

Cuadro 6.2 Evaluación económica costo de análisis tradicional para proteína, grasa, humedad fibra ceniza y almidón y tiempo de retorno de la inversión utilizando método por espectroscopia NIR.

Costo equipo mas software, instalación y accesorios necesarios para instalación.	112.961	USD	
Costo total de inversión			112.961 USD
Costos de análisis con NIR: Reactivos	0	USD	
Costo de mantenimiento anual del equipo.	2.190	USD	
Depreciación del equipo NIR.	7	Años	16.137 USD
Muestras de control por semana.	6		18.720 USD
Costo total para uso las 24 horas/día de análisis durante un año.			37.047 USD
Días de producción/año	312	Días	
Precios de costos por análisis tradicional por parámetro, incluyendo reactivos, salario personal, equipo de laboratorio, gasto de tratamiento de desechos*.	Numero de muestras/día	Costo de análisis/muestra (USD)	Costo/año(USD)
Grasa	6	\$ 10,00	\$ 18.720
Proteína	6	\$ 10,00	\$ 18.720
Fibra Cruda	6	\$ 10,00	\$ 18.720
Humedad	6	\$ 10,00	\$ 18.720
Ceniza	6	\$ 10,00	\$ 18.720
Almidón	6	\$ 10,00	\$ 18.720
Costos totales de laboratorio anuales:			\$ 112.320 USD
Ahorros por año			\$ 75.273 USD
Tiempo de retorno de la inversión:			1,50 Años

Por otro lado, se evalúa el ahorro en la parte de formulación, pues uno de los objetivos que se busca es poder integrar el área de control de calidad con el departamento de producción para lograr un proceso de producción y formulación más eficaz. Diferentes estudios plantean que las raciones basadas en maíz y torta de soya, suplementadas con metionina, proporcionan un desempeño adecuado de las aves y rendimientos de carne cercanas a 2 kg, como se menciona en el estudio [Albino,2006], se calcula entonces el retorno de la inversión, suponiendo una producción de 60 000 toneladas de alimento por año, basada teóricamente en maíz y harina de soya, el cálculo se realiza para el alimento de mayor producción que contiene un porcentaje de proteína del 24% . Para la harina de soya, se utiliza una concentración de 48,48% de proteína, el precio vigente en setiembre 2009, para la tonelada de harina de soya con esa concentración es de 505 USD según datos de Inolasa en Barranca, Puntarenas; por otro lado, el contenido de proteína en el maíz utilizado en el cálculo es de 7.0% y su precio en dólares por tonelada es de 240 USD, precio suministrado por el departamento de compras de la planta de concentrados.

Por otro lado, se calculan las toneladas de maíz y harina de soya necesarias para la producción anual de 60 000 toneladas de alimento, realizando el balance de masa, suponiendo que la alimentación está compuesta básicamente por soya y maíz, suposición que es realista pues el 80-85% del alimento para pollos de engorde está compuesta por estos 2 ingredientes, en algunos momentos del año; cuando los costos de la harina de soya se elevan por la demanda en el mercado, se sustituye parte de esta materia prima por harina de pescado, la cual es la fuente alternativa de proteína para las aves.

Cuadro 6.3 Evaluación económica basada en el ahorro en formulación, utilizando equipo NIR como fuente de datos para formulación del alimento en tiempo real

Costo total de inversión de acuerdo a Cuadro 5.1	112.961	USD
Volumen de producción por año	60.000	ton
Porcentaje de proteína en alimento terminado	24,0	%
Concentración de proteína, materia prima 1: Harina de soya	48,48	%
Precio USD por tonelada de harina de soya(USD/ton):	505	USD
Concentración de proteína, materia prima 2: Maíz	7,0	%
Precio USD por tonelada de maíz(USD/ton):	240	USD
Producción de alimento para engorde con 24% de proteína:		
Toneladas de harina de soya/año	24.590	ton
Toneladas de maíz/año	35.410	ton
Costo total de materias primas 1 y 2 por año(USD):	20.916.393	USD
Margen de seguridad en producción hoy en día:	1,00	%
Toneladas de harina de soya/año	26.037	ton
Toneladas de maíz/año	33.963	ton
Costo total de materia prima por año trabajando con 1% de margen de seguridad	21.299.711	USD
Margen de seguridad en producción formulando con NIR:	0,50	%
Toneladas de harina de soya/año	25.313	ton
Toneladas de maíz/año	34.687	ton
Costo total de materia prima por año trabajando con 0.5% de margen de seguridad	21.108.052	USD
Ahorros por año por reducción en el margen de seguridad en formulación:	191.659	USD
Tiempo de retorno de inversión	0,59	años

El cálculo del balance de masa se muestra en el Apéndice y los resultados corresponden a 24 619 toneladas por año de harina de soya y 35 381 toneladas de maíz, como se muestra en el Cuadro 6.3, utilizando esos datos y multiplicándolos por el costo de cada una de ellas, se obtiene un total de 20 916 393 USD por concepto de costo anual de materia prima, cuando se trabaja con márgenes de seguridad de un 1% en la formulación de proteína, pues no se cuenta con resultados de análisis químico rápidos, este valor se incrementa hasta 21 299 711USD ; sin embargo, al bajar ese margen de seguridad formulando en tiempo real con los resultados del NIR a 0,5% de margen de seguridad, el costo total por año para estas 2 materias primas es de 21 108 052USD. Como se muestra en el

Cuadro 5.3, la reducción de 0,5% de proteína en el alimento implica un ahorro para la planta de producción de alimento concentrado de 191 659, por lo tanto, la inversión se recupera en 0,60 años o 7,2 meses.

En resumen en este capítulo, se evalúan los costos de inversión para la implementación del equipo NIR, en el laboratorio de control de calidad, se evalúa a partir de los datos suministrados por la planta de alimentos balanceados; el ahorro que se genera por análisis de laboratorio, se obtiene como resultado en ahorros de reactivos 75 273 USD y un tiempo de retorno de inversión de 1,50 años. La evaluación económica basada en la reducción del factor de seguridad en formulación de un 1% en proteína a un 0,5% de factor de seguridad de proteína del alimento, tomando como base de cálculo una producción de 60 000 toneladas de alimento para pollos de engorde con un 24% de proteína, da como resultado un ahorro de 191 659 USD por año, para un tiempo de retorno de inversión de de 7,2 meses.

CAPÍTULO 7

MANUAL DE OPERACIÓN PARA IMPLEMENTAR EL MÉTODO NIR COMO SISTEMA DE ANÁLISIS DE RUTINA

La implementación del sistema alternativo de análisis propuesto, requiere una serie de procedimientos que se detallan en este capítulo. Para el uso de rutina de los espectrofotómetros infrarrojos cercanos NIR, la Asociación Internacional para la Estandarización ISO por sus siglas en inglés, establece un borrador estándar internacional emitido en septiembre del 2008, con el fin de dar el primer paso en el proceso de estandarización y uso de este tipo de tecnología en materias primas para alimentos concentrados, ya sean cereales molidos o enteros y para alimentos concentrados terminados para animales.

El presente manual de operación para la implementación del método NIR se basa en los lineamientos descritos en el borrador de Estándar Internacional ISO-DIS 12099, anteriormente mencionado en conjunto con los requerimientos de instalación del fabricante del equipo. Los requerimientos de instalación relacionadas con la preparación física del sitio, donde se coloca el equipo, se detallan en el Capítulo 2, en la Sección 2.4.2

7.1 Términos y definiciones básicas

Equipo infrarrojo cercano NIR: Equipo de laboratorio que utilizado bajo las condiciones definidas en el estándar Internacional ISO-TC34-SC10, estima las concentraciones de los constituyentes de la muestra, tales como humedad, proteína, fibra, grasa, almidón y digestibilidad de aminoácidos, a través de correlaciones con los picos de absorción del ámbito infrarrojo cercano del espectro electromagnético.

Alimentos concentrados de animales: Cualquier sustancia o producto, incluyendo aditivos que vayan a ser utilizados en el proceso de alimentación vía oral en los animales, puede estar relacionado tanto con materias primas como producto en proceso o producto terminado.

7.2 Preparación de muestra

Molienda de muestra: Para la homogenización de las materias primas, se requiere un molino Retch modelo ZM 200 con un tamiz de 1,0mm para estandarizar el diámetro de partícula de las muestras. De acuerdo con la información suministrada en el estándar internacional de ISO, los cambios en las condiciones de molienda pueden afectar directamente los resultados para todos los constituyentes calculados en el NIR.

7.3 Calibración inicial del equipo

En el caso de que no se cuente con el paquete de calibración de materias primas para el instrumento, la calibración para la predicción de los ingredientes debe ser desarrollada; a este proceso, se le llama desarrollo de un modelo de predicción.

Para el desarrollo de una curva de calibración, para cada una de las materias primas por analizar, es necesario una base inicial de muestras que incluya los valores de referencia de cada una de ellas, la recomendación general en el menú de ayuda del software es iniciar, por lo menos, con 40 muestras. Estas muestras deben tomar en consideración la variabilidad de la materia prima, para poder obtener una calibración robusta, donde se incluyan muestras que tengan, todo el ámbito de concentraciones de cada uno de los parámetros por medir: proteína, grasa, fibra cruda, humedad, etc. Por otro lado, se debe incluir muestras de diferentes variedades geográficas, por ejemplo harinas de soya, tanto de América del Norte como de América del Sur, se deben incluir también diferentes variedades genéticas: maíz tradicional, maíz con alto contenido de aceite, maíz con alto contenido de humedad, etc.

Las muestras que se utilizan en el proceso de calibración deben ser analizadas por el método tradicional aprobado por AOAC o AACC, para cada uno de los parámetros por incluir en la calibración: proteína por el método *Kjeldahl*, grasa por el método *Soxhlet*, y así con todos los constituyentes que se quieran incluir. Es necesario conocer la precisión y exactitud del método de

referencia utilizado, ya que a partir de ese valor de error, es que se predice el error de precisión en el NIR.

Para el desarrollo de la calibración, se utiliza un software quemométrico como el WinISI® que integre tanto los datos de laboratorio con los espectros de cada muestra para obtener un modelo de regresión matemática que prediga cada uno de los parámetros en cada una de las materias primas por analizar.

7.4 Validación de la calibración

Las ecuaciones también llamadas modelos de predicción que se desarrollaron siguiendo el procedimiento descrito en el Apartado 7. 3, se someten a un proceso de validación; el proceso de validación tiene como objetivo determinar el error estándar de predicción del modelo matemático. Cuando se reportan datos a producción para el proceso de formulación a partir de las concentraciones de los nutrientes de cada una de las materias primas, es necesario tener en consideración, el error estándar de predicción de la calibración del NIR, para fijar los márgenes de seguridad en el software de formulación.

La validación requiere un conjunto nuevo de muestras, diferente al grupo de muestras original, utilizado en el procedimiento de la Sección 7.3, que cubran todo el ámbito de concentraciones de los parámetros que se utilizan en el desarrollo del modelo de predicción y de las que se tengan los datos de referencia de cada una, este conjunto de muestras debe ser mínimo de 20 muestras para calibraciones que han sido desarrolladas localmente. Cuando se utilizan las curvas de materias primas del fabricante, como la que se utilizó en esta investigación, se requieren al menos, 10 muestras para el proceso de validación, el error estándar de predicción ha sido previamente calculado por el fabricante y es reportado en la nota de aplicación , por otro lado, al ser este modelo matemático del tipo ANN (Artificial Neural Network), la calibración permite únicamente un ajuste de intercepto de la forma:

$$V_{\text{referencia}} = A + B V_{\text{NIR}} \quad (7.1)$$

Los resultados del NIR para el set de validación independiente son graficados en conjunto contra los valores de referencia de cada una de las muestras, para determinar si es necesario un ajuste de pendiente o intercepto en el modelo matemático que se está utilizando; por otro lado, se grafican los valores de los residuales contra los valores de referencia, para determinar visualmente el grado de exactitud del modelo de predicción. Si el valor del error estándar de predicción calculado para el set de curvas del equipo es mayor al error que el proveedor de la curva específica, puede solicitarse el ajuste o expansión y ajuste de la curva de predicción.

Por otro lado, cuando los residuales entre el valor del método de referencia y el NIR, muestran una tendencia con un valor constante diferente de cero, es posible ajustar el valor de A en la ecuación 7.1 mediante un ajuste de intercepto, este ajuste, según el estándar de ISO, se le conoce como ajuste de BIAS. El ajuste de la pendiente B en la Ecuación 7.1 no se recomienda según este procedimiento.

7.5 Verificación de la estabilidad del hardware del NIR

Diariamente, antes del inicio del análisis, la celda de verificación del equipo debe correrse para verificar su correcto funcionamiento de hardware y detectar cualquier anomalía en el sistema óptico del monocromador, o en los detectores del equipo. Esta muestra consiste en un material sintético, del cual se conoce su espectro y los valores de absorbancia y por ende, el porcentaje de concentraciones de los parámetros, el material viene dentro de una celda de análisis lista para ser medida en el equipo.

Inicialmente, durante el análisis del equipo, se deben de analizar al menos 20 veces la celda de chequeo, para asegurarse que se cuenta con suficientes datos estadísticos, para asegurar que su funcionamiento se encuentra dentro de las especificaciones del fabricante. Posteriormente, a la instalación solamente es necesario correr la celda de chequeo una vez por día.

De acuerdo al estándar de ISO DIS 12099, se debe guardar el historial de resultados de la celda de chequeo, para realizar gráficos de control de los resultados del equipo, periódicamente; además, para la trazabilidad de los datos de control y uso de rutina es necesario tener estos datos. Con esta información se detectan tendencia y patrones en el comportamiento de la muestra control y del equipo. La exactitud y precisión en la medición, a diferentes longitudes de onda, debe ser monitoreada al menos una vez a la semana, o más frecuentemente si el fabricante lo recomienda. Los resultados se comparan las especificaciones y requisitos. El test de control de ruido, debe correrse semanalmente.

7.6 Muestreo

Todas las muestras que reciba el laboratorio se deben tomar de tal forma que se asegure la representabilidad de todo el *batch* o contenedor, adicionalmente, el procedimiento de muestreo debe asegurar que la muestra no sufra daños que cambien su composición química durante el proceso de transporte de los silos o los contenedores hacia el laboratorio o durante el almacenamiento en la bodega de muestras. En el procedimiento de ISO DIS 12099 para uso de NIR no se establece un procedimiento de muestreo para el análisis; sin embargo, se recomienda seguir el procedimiento descrito en el Capítulo 4 en la Sección 4.3.1, el cual está en concordancia con el estándar de ISO-DIS 24333 para muestreo de cereales.

7.7 Análisis de rutina e interpretación de resultados

La muestra molida se coloca en la celda para el producto molido que se muestra a la izquierda en la Figura 7.1, se compacta para evitar que queden espacios de aire vacíos dentro de la celda; una vez compactada la muestra, se coloca dentro del equipo, en caso de que el producto sea grano entero se utiliza la celda grande de la derecha que se muestra también en la Figura 7.1.



Figura 7.1. Celda para producto molido del equipo NIR (izquierda) y tapa para compactar la muestra.
[Foss analytical,2007]

La celda que contiene la muestra se coloca dentro del equipo NIR, el cual se muestra en la Figura 7.2, la tapa del equipo debe estar cerrada para evitar la interferencia de la luz del laboratorio, se selecciona la materia prima por analizar y la opción scan en el software *IS/Scan*. Los resultados de las concentraciones de cada uno de los nutrientes se despliegan después de 60 segundos en la pantalla principal del software.

Para que el resultado sea tomado como válido, los porcentajes de los parámetros analizados deben estar dentro del ámbito de concentraciones de la calibración utilizada, se tienen los ámbitos de concentración que se describen en el Cuadro 7.1. Cabe mencionar que la calibración utiliza el modelo matemático del tipo ANN, por lo tanto, los ámbitos mencionados en el cuadro incluyen los parámetros para todas las materias primas utilizadas en la calibración de materias primas, por ejemplo, el ámbito de proteína incluye porcentajes muy altos hasta 70%, sin embargo, el valor promedio para la harina de soya es de 48%, para el maíz del 8%.



Figura 7.2 Equipo NIR con pantalla táctil integrada para ser utilizado al lado de la línea de producción [Foss analytical,2007]

Cuadro 7.1. Ámbitos de concentraciones para diferentes parámetros en la calibración de materias primas desarrollada para NIR InfraXact, reportados en base húmeda.

Parámetro	Numero de muestras	Concentración mínima. (%)	Concentración mínima. (%)
Grasa	3425	0.2	48.6
Humedad	6942	1	19
Proteína	8037	0.3	70.1
Fibra Cruda	2110	0.9	31.2
Ceniza	2241	0.3	10.5
Almidón	606	4.2	68.5

[Fuente: Tollebäck , 2008]

Cuando el valor que predice la calibración, está fuera de los ámbitos especificados en el software, se reporta un valor de alarma en el resultado del GH (*globalhood*), esto significa que la muestra

debe ser enviada a un laboratorio de referencia para ser analizada vía química húmeda con el análisis tradicional de referencia, las muestras con valores de GH mayores de 3 no pertenecen estadísticamente, a la población de muestras en el desarrollo de la calibración, por lo que su resultado no es seguro o válido estadísticamente y debe verificarse en el laboratorio de referencia antes de hacer el reporte oficial a otras partes involucradas en el proceso, ya sea el departamento de producción, el departamento de nutrición o el departamento de comprar y pago a proveedores.

7.8 Monitoreo periódico de la calibración

Los equipos NIR deben ser continuamente validados contra los métodos de referencia para asegurar un óptimo funcionamiento de la calibración. En el documento ISO-DIS 12099 para alimentos concentrados para animales y sus materias primas, no se especifica una frecuencia para este procedimiento; sin embargo, la experiencia del fabricante recomienda que al inicio del trabajo, durante los primeros 6 meses después de implementado el análisis, una vez al mes, se realice el monitoreo con 10 muestras aleatorias de cada materia prima, para determinar si los niveles de exactitud con el método de referencia se encuentran dentro de los valores aceptados por el laboratorio.

7.9 Estadística para la medición del desempeño de la calibración

Los resultados que se obtienen con el modelo de predicción, deben evaluarse utilizando un conjunto de muestras de validación, este conjunto de muestras de validación es independiente de las muestras utilizadas en el desarrollo del modelo de predicción que se utiliza en el análisis de rutina, para materias primas, un set de validación corresponde a muestras de diferentes cosechas o de diferentes proveedores, para producto terminado, son muestras

En resumen, la mayor carga en la implementación de este método de análisis, cuando se trabaja con una calibración “lista para analizar”, se centra en el trabajo asociado con la validación y el

monitoreo del modelo de predicción utilizado en el equipo. Los procesos de validación y monitoreo de la calibración requieren de resultados de laboratorio confiables para una exitosa implementación del método NIR y lograr tener resultados más rápidos y minimizar el número de análisis por método de referencia; sin embargo, como el proceso de monitoreo es un procedimiento requerido, no es posible llegar a eliminar un 100% del análisis de referencia. Cuando se trabaja con NIR, el análisis tradicional cobra mayor relevancia, pues el método de análisis que permite verificar el buen funcionamiento de la calibración del equipo, si los métodos de análisis del laboratorio son confiables, se trabaja bajo metodologías aprobadas por entes competentes de reconocimiento internacional, se cuenta con sistemas de buenas prácticas de laboratorio implementadas, se realizan periódicamente, pruebas inter-laboratoriales para evaluar la exactitud de los resultados del laboratorio, en comparación con otros laboratorios, entonces los resultados del NIR cuentan con mayor respaldo, pues existe una plataforma que provee las herramientas necesarias, para que los procesos de validación y monitoreo de los modelos de predicción del NIR se lleven a cabo utilizando información confiable, trazable y bajo los lineamientos de instituciones reconocidas en el nivel internacional.

CAPÍTULO 8

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

8.1 Conclusiones:

Al desarrollar y analizar el proyecto, se obtienen diversos resultados. Estos permiten facilitar la toma de decisiones en relación con la continuación del estudio, las siguientes son las conclusiones:

1. La necesidad de análisis rápidos para la toma de decisiones en el área de producción ubica a la técnica NIR como una técnica con un alto potencial, como alternativa a los métodos de análisis químicos tradicionales en las plantas de alimentos balanceados. Se pierde exactitud, se gana velocidad de respuesta que el departamento de producción requiere y eventualmente, elimina el error humano asociado con el proceso de pesado de muestra, o titulación.
2. Para la curva de materias primas de origen vegetal, suministrada por el proveedor, no existe suficiente evidencia significativa para rechazar la hipótesis nula que plantea la diferencia de las medias entre ambos métodos para la harina de soya con un contenido de proteína de 48,48%
3. Para los granos secos de destilería: DDGs, es necesario una validación de la curva y un ajuste de intercepto de la curva de predicción, pues los resultados obtenidos se sitúan por debajo del valor certificado por el proveedor.
4. El maíz, la semolina, la puntilla de arroz, el acemite requieren un ajuste de intercepto de la curva de materias primas, pues la diferencia entre las medias es estadísticamente diferente, y los valores que reporta el NIR son mayores al valor aceptado como real, el cual corresponde al porcentaje de proteína certificado por el proveedor.
5. Para la harina de soya, cuando se utiliza el método *Kjeldahl*, se recomienda controlar los tiempos de destilación y mantener la temperatura cercana a 20-21C para evitar pérdidas de nitrógeno por evaporación y mantener la humedad relativa cercana a 35%.
6. El costo total de inversión del sistema es de 112 961USD.
7. Al reducir el margen de seguridad, para la formulación del alimento de las aves, se obtiene un ahorro en materias primas de 191 659USD por año, por lo tanto, el tiempo de retorno de la inversión es de 0,60 años, incluyendo los costos de validación y ajuste del modelo de predicción utilizado para materias primas.

8. Por la rapidez de respuesta del equipo NIR Infraxact y sus características de diseño a prueba de polvo, característico del área de producción, donde se fabrica el alimento concentrado para aves, bajo el protocolo de diseño IP65, este se utiliza como un equipo de control de proceso, al lado de la línea de producción, para la verificación de la composición de la mezcla de materias a la salida de la unidad de mezclado, si se desarrolla un modelo de predicción del alimento a la salida del mezclador, es posible detectar si hay errores en la dosificación de los ingredientes, o si las balanzas de pesado están descalibradas, sin necesidad de invertir en un sistema en línea para esta inspección del producto de salida de la unidad de mezclado.

8.2 Recomendaciones:

A continuación, se presentan las principales recomendaciones que permiten obtener mejores resultados en el desarrollo del proyecto:

1. Se recomienda realizar el proceso de titulación para determinar de proteína en harina de soya bajo condiciones de temperatura y humedad relativa baja, para evitar pérdidas de nitrógeno proveniente del amonio, debido al sobrecalentamiento o a la saturación de agua en la atmósfera, que produce que el amoniaco reaccione con el agua del ambiente.
2. Estandarizar el proceso de preparación de muestra y su empaçado, para evitar variaciones en el resultado final de la medición utilizando el equipo NIR.
3. Para los DDGs, es necesario evaluar el error estándar de predicción para determinar si es necesario un ajuste de intercepto, para subir los valores de porcentaje de proteína reportados por el equipo.
4. Es necesario validar el modelo de predicción para el maíz, la puntilla de arroz, el acemite y la semolina, para bajar los valores de predicción a los del método de referencia.
5. Se recomienda evaluar el modelo de predicción de subproductos de origen animal disponible para equipos NIR Infraxact. Tanto la harina de carne y hueso, harina de plumas y la harina de pescado presentan variaciones de proteína mayores a los que muestran las materias primas de origen vegetal, por lo tanto, el análisis del contenido de proteína en estas materias primas de origen animal debe de llevarse a cabo antes de hacer la formulación del alimento, y evitar un exceso o una deficiencia en el contenido final de proteína en el alimento balanceado para las aves.

6. Los costos por reproceso del producto terminado fuera de especificación no se cuantificaron; sin embargo, es importante en una futura investigación, cuantificar dichos costos, para evaluar el ahorro por reducción en frecuencia de reprocesos, si se utiliza este tipo de tecnología en control de proceso de producción a la salida de la mezcladora, para verificar la mezcla de ingredientes de acuerdo con los contenidos en la hoja de formulación o a la salida del secador para verificar el contenido de humedad en el alimento.

7. La adición de muestras locales a la base de datos del modelo de predicción mencionado, disminuye el error estándar de predicción y los valores estadísticos de GH y NH. Si la validación indica que un ajuste de intercepto no disminuye el error, se recomienda incluir estas muestras locales, para ampliar la base de datos de espectros del modelo de predicción y bajar los errores de predicción.

CAPÍTULO 9

BIBLIOGRAFIA

9.1 Referencias Bibliográficas:

- ALCALA, M.(2006). *Utilización de la espectroscopia NIR en el control analítico de la industria farmacéutica*. Universidad Autónoma de Barcelona, España.
- ARABA,M .(1996). *Maíz alto en aceite optimum y sus beneficios para el usuario (Optimum quality grains)*. US Grains Council. EE.UU.
- AOAC INTERNACIONAL .(2000). *Official Method Analysis, Method 991.20*. EE.UU.
- CARRÃO, P. y GONTIJO, M. (1995). *El cultivo de la soja en los trópicos, mejoramiento y producción*. FAO, Roma, Italia.
- CHASE, R . (2003). *Administración de producción y operaciones*. Mc Graw Hill, Colombia.
- CHEEKE, P. (2004). *Applied animal nutrition: Feeds and Feeding*. Prentice Hall,EE.UU.
- CAMPABADAL,C.,VAQUERO,M. y LEDEZMA,R.(1985).*Utilización de la soya integral en la alimentación de pollos de engorde*. Revista Agronomía Costarricense. Vol 9, No 1.
- CENTRO DE PROMOCIÓN DE TECNOLOGÍAS SOSTENIBLES.(2001). *Mayor rentabilidad y producción más limpia: Caso Ingenio Azucarero UNAGRO*. Bolivia.
- CROMWELL,G.L., HERKELMAN,K.L.; Y STAHLY, T.S.(1993). *Physical, chemical and nutritional characteristics of distillers dried grains with solubles for chicks and pigs*. Journal of Animal Science, EE.UU.
- DALE,N.(2008). *Calidad de materias primas en alimentos para aves*. XX Congreso de avicultura Centroamericano y del Caribe. Nicaragua.
- GUTIÉRREZ, P.(2005). *Calidad total y productividad, Mc Graw Hill, México*.

- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION ISO: (2009). *Draft international standard ISO-DIS 12099: Animal feedstuff, cereals and milled cereal products-Guidelines for the application of near infrared spectrometry*. Genova, Suiza.
- LECLERCQ, B. (2000). *El concepto de proteína ideal y el uso de aminoácidos sintéticos: estudio comparativo entre pollos y cerdos*. XIV Curso de especialización, Avances en nutrición y alimentación animal. Nouzilly, Francia.
- OTÁROLA, J.(2008). *Formulación de dietas de pollos de engorde con y sin harinas de origen animal con aminoácidos totales y digestibles medidos por NIRS*. Tesis Licenciatura en Zootecnia, Universidad de Costa Rica. Costa Rica.
- PETERS, M., TIMMERHAUS, K.(2003). *Plant design and economics for Chemical Engineers*. Editorial Mc Graw- Hill, Boston,EE.UU.
- PETERSEN , E. (2007). *Todo lo que siempre quiso saber sobre Quimiometria-pero no quería preguntar*. Foss In Focus Magazine, Vol 31, No 1.
- POMERANZ, Y.(2002). *Food Analysis Theory and Practice*, Chapman & Hall, EE.UU.
- SKOOG, D.(2001). *Química Analítica*, Mc Graw-Hill, México.
- SOLÍS, F. (2004). *Obtención de un complemento alimenticio para animales a partir de la levadura de desecho generada en la producción de cerveza*.Tesis Licenciatura en Ingeniería Química, Universidad de Costa Rica, Costa Rica.
- STEWART, L. (1999). *NIR in the Feed Industry: Purina Mills*. First North and Latin American NIR Users Conference for the Forage and Feed Industries. Mexico.
- THIEX, N.(2002). *Journal of AOAC International*. Vol 85, No. 2. Estados Unidos de América.
- ZUMBADO,M.(2009). *Uso eficiente de ingredientes alternativos en avicultura, con valores de aminoácidos medidos con NIRS*.XX Congreso Latinoamericano de Avicultura. Cuba.

9.2 Direcciones de Internet consultadas:

- ALBINO, L, ROSTAGNO,H.(2006). Dietas Vegetales para pollos de engorde de alta productividad. Universidad de Viçosa, Brazil, consultado desde: http://www.engormix.com/dietas_vegetales_pollos_engorde_s_articulos_446_AVG.htm el 5 de noviembre del 2009.

- AMERICAN ORGANIZATION OF ANALYTICAL CHEMIST.(2007). *Determination of Crude Protein in Animal Feed, Forage, Grain, and Oilseeds by Using Block Digestion with a Copper Catalyst and Steam Distillation into Boric Acid*, Consultado desde: <http://www.aoac.org>, el 8 de febrero del 2007.
- FOSS ANALYTICAL.(2007). *The Determination of Nitrogen According to Kjeldahl Using Block Digestion and Steam Distillation*, Consultado desde: <http://www.foss.dk>, el 26 de noviembre del 2007.
- COMMUNITY OF INTERNACIONAL BUSINESS RELATED TO ANIMAL PRODUCTION. (2008). *Espectroscopia de Infrarrojo Cercano (NIRs) - La técnica de análisis rápidos del futuro*, Consultado desde: http://www.engormix.com/s_articles_view.asp?art=577&AREA=BAL, el 13 de enero del 2008.
- FISHER SCIENTIFIC.(2008). *Catálogo de precios*, Consultado desde: <https://www.fishersci.com> el 9 de Septiembre de 2008.
- INFRASOFT INTERNACIONAL. (2008). *NIRS Theory*, Consultado desde: http://www.winisi.com/NIRS_theory.htm el 22 de Agosto del 2008.
- RIERA,J .LABORATORIO SEDICOMVET. (2008). *Micotoxinas de importancia en la producción animal*, Consultado desde: www.sediomvet.com.ve el 13 de Julio del 2008.
- MANN, H. (2008). "Control en la Planta de Alimentos Balanceados: Una Perspectiva de la Trazabilidad de Operaciones", Consultado desde: http://www.engormix.com/s_articles_view.asp?art=962&AREA=BAL-800 el 8 de mayo del 2008.
- XIE, LIJUAN; YING YIBIN, YING TIEJIN (2007). "Combination and comparison of chemometrics methods for identification of transgenic tomatoes using visible and near-infrared diffuse transmittance technique" *Journal of Food Engineering*, Consultado desde: www.sciencedirect.com el 28 de abril del 2008.

CAPÍTULO 10

NOMENCLATURA

Mayúsculas:

A	Intercepto de la curva de calibración
ANN	Red neural artificial o Artificial Neural Network
B	Pendiente de la curva de calibración
CTAL	Costos totales de análisis de laboratorio
DDGs	Granos secos de destilería
F	Factor para proteína cruda, adimensional
FIR	Infrarrojo lejano
M	Molaridad,g/mol
MIR	Infrarrojo medio
NIR	Infrarrojo cercano
V	Volumen de ácido clorhídrico, mL

Minúsculas:

b	blanco
m	total
t	masa, gramos

APÉNDICES

A.DATOS EXPERIMENTALES

Resultados obtenidos para 6 diferentes materias primas, utilizando el equipo NIR Infraxact Pro, con la curva de predicción de materias primas de concentrados, número de parte 10013196 y resultados de porcentaje de proteína, utilizando el método *Kjeldahl*. Los resultados entregados por el laboratorio de referencia se adjuntan en el anexo de la presente investigación, estos resultados se reportan en porcentaje de nitrógeno, de acuerdo al método oficial AOAC se multiplican por el factor para proteína que se menciona en el apéndice B, apartado B.2.

Cuadro A.1 Pruebas de repetibilidad para acemite realizadas en paralelo utilizando el equipo NIR Infraxact Pro y método Kjeldahl.

Producto	Porcentaje de Proteína método NIR (%)	Porcentaje de Proteína método <i>Kjeldahl</i> (%)
Acemite	17,49	15,58
Acemite	17,12	14,03
Acemite	17,25	14,26
Acemite	16,91	15,65
Acemite	17,20	15,72
Acemite	17,41	14,48
Acemite	17,87	15,39
Acemite	17,26	15,73
Acemite	17,55	15,66
Acemite	17,60	15,59
Promedio	17,37	15,21
Desviación estándar	0,28	0,67
Porcentaje de proteína certificado por el proveedor		14%

Cuadro A.2. Pruebas de repetibilidad para maíz realizadas en paralelo utilizando el equipo NIR Infraxact Pro y método Kjeldahl.

Producto	Porcentaje de Proteína método NIR (%)	Porcentaje de Proteína método <i>Kjeldahl</i> (%)
Maíz	7,70	7,44
Maíz	7,80	7,42
Maíz	7,95	7,25
Maíz	7,90	7,28
Maíz	7,87	7,26
Maíz	7,79	7,26
Maíz	7,90	7,17
Maíz	7,89	7,24

Cuadro A.2. (Continuación) Prueba de repetibilidad para maíz

Maíz	7,77	7,27
Maíz	7,86	7,28
Promedio	7,84	7,29
Desviación estándar	0,08	0,08
Porcentaje de proteína certificado por el proveedor:	7,0%	

Cuadro A.3. Pruebas de repetibilidad para DDGs realizadas en paralelo utilizando el equipo NIR Infraxact Pro y método Kjeldahl.

Producto	Porcentaje de Proteína método NIR (%)	Porcentaje de Proteína , método Kjeldahl (%)
DDGs	25,19	25,01
DDGs	25,27	25,50
DDGs	25,03	25,47
DDGs	25,09	25,70
DDGs	25,24	25,50
DDGs	25,15	25,56
DDGs	25,21	25,43
DDGs	25,11	25,45
DDGs	25,22	25,45
DDGs	25,19	25,58
Promedio	25,17	25,47
Desviación estándar	0,08	0,18
Porcentaje de proteína certificado por el proveedor:	26,0%	

Cuadro A.4. Pruebas de repetibilidad para puntilla de arroz realizadas en paralelo utilizando el equipo NIR Infraxact Pro y método Kjeldahl.

Producto	Porcentaje de proteína método NIR (%)	Porcentaje de proteína , método Kjeldahl (%)
Puntilla de arroz	8,16	7,45
Puntilla de arroz	7,87	7,11
Puntilla de arroz	7,64	7,52
Puntilla de arroz	7,52	7,43
Puntilla de arroz	7,65	7,53
Puntilla de arroz	7,60	7,27
Puntilla de arroz	7,60	7,44
Puntilla de arroz	8,01	7,52
Puntilla de arroz	8,02	7,44
Puntilla de arroz	7,87	7,27
Promedio	7,79	7,40
Desviación estándar	0,22	0,14
Porcentaje de proteína certificado por el proveedor:	8,5%	

Cuadro A.5. Pruebas de repetibilidad para semolina realizadas en paralelo utilizando el equipo NIR Infraxact Pro y método Kjeldahl.

Producto	Porcentaje de proteína método NIR (%)	Porcentaje de proteína , método Kjeldahl (%)
Semolina	12,13	10,66
Semolina	12,51	10,32
Semolina	12,12	9,97
Semolina	12,20	10,49
Semolina	11,84	10,65
Semolina	12,39	9,81
Semolina	12,00	9,30
Semolina	11,82	10,48
Semolina	12,11	10,66
Semolina	11,95	9,70
Promedio	12,11	10,20
Desviación estándar	0,22	0,48
Porcentaje de proteína certificado por el proveedor:	12,0%	

Cuadro A.6. Pruebas de repetibilidad para harina de soya realizadas en paralelo utilizando el equipo NIR Infraxact Pro y método Kjeldahl.

Producto	Porcentaje de proteína método NIR (%)	Porcentaje de proteína , método Kjeldahl (%)
Harina de Soya	48,19	45,25
Harina de Soya	48,07	44,53
Harina de Soya	48,07	44,14
Harina de Soya	48,09	45,45
Harina de Soya	48,15	45,41
Harina de Soya	48,23	44,60
Harina de Soya	48,25	40,94
Harina de Soya	48,20	45,36
Harina de Soya	48,36	45,57
Harina de Soya	48,23	43,27
Promedio	48,18	44,45
Desviación estándar	0,09	1,43

La diferencia de 3,73% en proteína reportada en el cuadro A.6 entre el NIR y el método Kjeldahl es un valor alejado en más de 4 puntos porcentuales de que certifica el proveedor que tiene la harina de soya; por este motivo, se realizó un muestreo adicional en el silo y se analizó nuevamente en 2

laboratorios diferentes, Cuadro A.7 y también alternativamente con el método de combustión de Dumas, Cuadro A.8. y con el método *Kjeldahl* con temperatura y humedad relativa controlada.

Cuadro A.7 Pruebas de repetibilidad para harina de soya realizadas en paralelo utilizando el equipo NIR Infraxact Pro y método *Kjeldahl* en 2 laboratorios acreditados.

Producto	Porcentaje de proteína método NIR (%)	Porcentaje de proteína, método <i>Kjeldahl</i> Laboratorio 1 (%)	Porcentaje de proteína, método <i>Kjeldahl</i> Laboratorio 2 (%)
Harina de Soya R2	48,85	45,35	45,60
Harina de Soya R2	48,16	44,96	45,40
Harina de Soya R2	48,36	44,93	45,40
Harina de Soya R2	47,99	45,35	45,60
Harina de Soya R2	48,15	45,20	45,00
Harina de Soya R2	47,97	43,38	45,20
Harina de Soya R2	48,35	45,52	45,20
Harina de Soya R2	48,40	46,48	45,20
Harina de Soya R2	48,50	46,60	43,80
Harina de Soya R2	48,81	46,35	46,10
Promedio	48,35	45,41	45,25
Desviación estándar	0,31	0,94	0,59

Cuadro A.8 Pruebas de repetibilidad para harina de soya realizadas en paralelo utilizando el equipo NIR Infraxact Pro y método de combustión de Dumas

Repetición 2	Porcentaje de proteína método NIR (%)	Porcentaje de proteína, método Dumas (%)	Porcentaje de proteína, Método <i>Kjeldahl</i> , Lab 3 (%)
Harina de Soya R2	48,85	48,96	48,64
Harina de Soya R2	48,16	48,64	48,53
Harina de Soya R2	48,36	48,81	47,89
Harina de Soya R2	47,99	48,71	47,91
Harina de Soya R2	48,15	48,43	48,59
Harina de Soya R2	47,97	48,65	48,29
Harina de Soya R2	48,35	48,86	48,01
Harina de Soya R2	48,40	48,22	48,49
Harina de Soya R2	48,50	48,07	48,35
Harina de Soya R2	48,81	48,94	47,53
Promedio	48,35	48,63	48,22
Desviación estándar	0,31	0,30	0,37
Porcentaje de proteína certificado por el proveedor:		48,48%	

B. MUESTRA DE CÁLCULO

B.1 Determinación de nitrógeno en las materias primas

Para los Cuadros A.1 hasta A.7 se calcula el porcentaje de proteína a partir del porcentaje de nitrógeno utilizando la ecuación C.1.1:

$$\% \text{ Nitrógeno Kjeldahl} = \frac{(V_t - V_b) * 14,01 * M}{m * 10} \quad (\text{B.1.1})$$

Donde:

V_t : Volumen total de HCl consumido por la muestra, mL.

V_b: Volumen total de HCl consumido por el blanco, mL.

14,01: Masa molar del nitrógeno, g/mol.

M: Molaridad del HCl estandarizado, mol/L

m: Masa de la muestra, g.

B.2 Determinación de proteína en las materias primas

$$\% \text{ Proteína} = \% \text{ Nitrógeno Kjeldahl} * F \quad (\text{B.1.2})$$

F= Factor para proteína cruda, el cual es igual a 5,70 para trigo, 6,38 para productos lácteos y 6,25 para las otras materias primas.

B.3 Balance de masa para el cálculo de volumen de materias primas, basándose en una formulación de 2 ingredientes para cálculo de toneladas de materia prima anual

Base de cálculo: 60 000 ton de alimento por año

Porcentaje de proteína requerida en el alimento: 24%

Porcentaje de proteína en el maíz: 7,0%

Porcentaje de proteína en la harina de soya: 48,48%

Balance de masa total:

$$m_{\text{HARINA SOYA}} + m_{\text{MAÍZ}} = 60\ 000 \text{ ton} \quad (\text{B.1.3})$$

Balance de masa proteína:

$$0,07 * m_{\text{HARINA SOYA}} + 0,48 * m_{\text{MAÍZ}} = 14\ 400 \text{ ton} \quad (\text{B.1.4})$$

Resolviendo simultáneamente para (C.1.3) y (C.1.4), se obtiene:

$$m_{\text{HARINA SOYA}} = 24\ 590 \text{ ton y } m_{\text{MAÍZ}} = 35\ 410 \text{ ton}$$

C. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

C.1 PREPARACIÓN DE MUESTRA

1. Moler 750g de muestra, asegurándose que esta es representativa de todo el lote, empleando un molino marca Retch ZM200, utilizando un tamiz de 1,0mm para asegurar la uniformidad del diámetro de muestra de la partícula.

C.2 DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA POR MÉTODO KJELDAHL SEGÚN MÉTODO 979.09 AOAC 2005

C.2.1 Digestión de la muestra

- Encender el digestor y caliente a 420°C, pesar las materias primas como se describe más abajo, utilizando la balanza analítica. Anotar todas las masas de las muestras, pesar aproximadamente 1g de muestra con una precisión del $\pm 0,1$ mg. No exceder más de 1,2g por muestra.
- Para cereales, granos y semillas: Pesar 1g de muestra molida sobre el papel con bajo contenido de nitrógeno, doblar el papel con la muestra adentro y colocarlo en un tubo recto de digestión de 250mL previamente numerado.
- Se deberá colocar un tubo con un estándar de control para el proceso de digestión en cada batch. Los estándares que recomienda el método AOAC 979.09 de la marca Hach Co, Sigma, J.TBaker: triptofan, lisina, p-toluensulfonato de amonio entre otros.
- Agregar a cada tubo, 2 tabletas de catalítico Kjeltabs y 12mL de ácido sulfúrico; si la muestra contiene mas de 10% de grasa, se deberá utilizar 15mL por muestra. Si la muestra genera espuma durante la digestión, se recomienda agregar 2 o 3 gotas de H₂O₂ como agente antiespumante.
- Abrir el flujo de agua al máximo y colocar la gradilla con los tubos en el bloque de digestión, precalentado a 420°C . Digerir por una hora.
- Cuando el tiempo de digestión haya finalizado, apagar el digestor. El flujo de agua del sistema de aspiración de vapores deberá continuar abierto hasta que los vapores desaparezcan totalmente.

- Esperar a que los tubos se enfíen. Posteriormente, utilizando guantes y anteojos de seguridad, proceder a diluir la muestra, agregando 80mL de agua a cada tubo. Si el equipo cuenta con adición automática de agua, la dilución manual puede omitirse.

C.2.2 Destilación de la muestra

- Colocar la disolución al 40% de NaOH en el tanque de hidróxido de sodio. Ajustar el volumen del dispensador de NaOH a 50mL.
- Preparar la disolución de ácido bórico al 4% , disolviendo 400 g de ácido bórico en 5-6 L de agua desionizada; mezclar y agregar más agua desionizada hasta ajustar 9L de disolución; agregar 100 mL de disolución de indicador de verde de bromocresol y 70 mL de disolución de rojo de metilo. Ajustar el volumen de la disolución hasta 10L con agua desionizada. Ajustar la disolución hasta obtener un blanco positivo 0,05-0,15% con NaOH 0,1M para incrementar el valor del blanco o con HCl 0,1M para reducir el valor del blanco.
- Colocar la disolución de H_3BO_4 al 4% en el tanque de ácido bórico. Ajustar el volumen del dispensador de H_3BO_4 a 30 mL; colocar el tubo con la muestra e iniciar el proceso de destilación, durante 4 minutos, o hasta obtener al menos 150 mL de volumen de destilado.
- Titular el destilado utilizando 0,1000M de HCl y titule hasta que tome el tono gris-violeta, antes de que aparezca la tonalidad rosada. Anote los mililitros de HCl consumidos por la muestra.

C.2.3 Verificación de la recuperación

Para verificar la recuperación del equipo y la eficiencia del proceso de digestión, deberán correrse N muestras para chequear que todo el nitrógeno destilado se recupera en la disolución de H_3BO_4 .

- Colocar 0,12g de $(NH_4)_2SO_4$ más 0,67g de sacarosa en un tubo de ensayo, proceder como se describe en C.2.1 y C.2.2. Los resultados deberán ser mayores o iguales a 99%
- Colocar 0,12g de $(NH_4)_2SO_4$ en un tubo de ensayo, proceda como se describe en C.2.2. Los resultados deberán ser mayores o iguales a 99,5 %

- Colocar 0,3g de acetanilida o 0,18g de triptofan, más 0,67g de sacarosa en un tubo de ensayo; proceda como se describe en C.2.1 para la digestión y en C.2.2 para la destilación. Los resultados deberán ser mayores o iguales a 98%

C.3 DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA POR MÉTODO NIR

Antes del análisis de la muestra en el equipo NIR, esta debe ser tomada del contenedor o el silo de tal forma que se asegure una representabilidad de la muestra, con respecto a toda la materia prima recibida en el contenedor o almacenada en los silos.

C.3.1 Muestra de chequeo

El equipo tiene una muestra de chequeo, la cual corresponde a un material sintético que simula un espectro de un alimento concentrado con cantidades conocidas de proteína, grasa y fibra; estos porcentajes se envían al cliente dentro del disco compacto de la celda de chequeo información. La variación aceptada para proteína es de $\pm 0,3$, grasa $\pm 0,1$, fibra cruda $\pm 0,3$. La celda debe almacenarse en la caja diseñada para ese fin, para evitar daños físicos en el cristal o que se adhiera polvo o grasa a la celda.

C.3.2 Lectura de la muestra

Colocar la muestra previamente en la celda para producto molido, tal y como se describe en C.1, y compáctarla para evitar que queden espacios vacíos de aire dentro de la celda; colocar la celda dentro del equipo, cerrar la tapa y seleccionar el producto y la opción *scan* en el *software* ISIScan.

Al finalizar la lectura, devolver la muestra a la bolsa, mezclar, limpiar la celda con la brocha que se utiliza para tal fin y proceder a llenarla nuevamente con el siguiente producto por analizar.

ANEXOS

**PROGRAMA DE APOYO TECNOLÓGICO A LA INDUSTRIA ALIMENTARIA
REPORTE DE ANALISIS QUÍMICO**

TIPO DE SOLICITUD:	PIN	SOLICITANTE:	MARIELA HERRERA
OFERTA N°:	—	EMPRESA O PROYECTO:	TESIARIA
FECHA ENTRADA:	1/10/2008	DIRECCIÓN:	—
FECHA ANÁLISIS:	7/10/2008	TELÉFONO:	8885-9130
FECHA EMISIÓN:	23/10/2008	FAX:	2234-1959

**RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS REALIZADOS POR NÚMERO DE MUESTRA
(Simbología: *ensayo acreditado, **ensayo no acreditado)**

MUESTRA #	699	700	701	MÉTODO EMPLEADO
DESCRIPCIÓN	PUNTILLA	HARINA DE SOYA	MAÍZ	
ANÁLISIS				
NITRÓGENO (%)	1,1914	7,2401	1,1901	979.09 AOAC 2005, AQCITA-M003*
	1,1371	7,1242	1,1865	
	1,2035	7,0624	1,1598	
	1,1887	7,2722	1,1643	
	1,2049	7,2656	1,1619	
	1,1634	7,1356	1,1615	
	1,1900	6,5505	1,1473	
	1,2034	7,2570	1,1582	
	1,1896	7,2912	1,1629	
	1,1627	6,9232	1,1644	
PROMEDIO	1,1835	7,1122	1,1657	
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0,221	0,2292	0,0129	
CV	1,87	3,22	1,11	

LABORATORIOS CON ENSAYOS QUÍMICOS Y SENSORIALES ACREDITADOS
POR EL ENTE COSTARRICENSE DE ACREDITACIÓN - ECA-
DE ACUERDO CON LA NORMA INTE-ISO/IEC 17025:2005



TEL: 2207-3431, FAX: 2253-3762
Ciudad Universitaria Rodrigo Facio 100 m detrás de la Facultad de Ciencias Agroalimentarias

Laboratorio de Ensayos
Alcance de Acreditación No. LE-036
Vigencia 11 set 2006 al 11 set 2009

MUESTRA #	702	703	704	
DESCRIPCIÓN	ACEMITE	SEMOLINA	DDGS	MÉTODO EMPLEADO
ANÁLISIS				
NITRÓGENO (%)	2,7337	1,7059	4,0090	979.09 AOAC 2005, AQCITA-M003*
	2,4613	1,6512	4,0805	
	2,5009	1,5958	4,0752	
	2,7451	1,6780	4,1125	
	2,7580	1,7035	4,0797	
	2,5412	1,5702	4,0899	
	2,7004	1,4876	4,0694	
	2,7605	1,6761	4,0723	
	2,7472	1,7055	4,0723	
	2,7345	1,5515	4,0920	
PROMEDIO	2,6683	1,6325	4,0753	
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0,1180	0,0766	0,0266	
CV	4,42	4,69	0,65	



LABORATORIOS CON ENSAYOS QUÍMICOS Y SENSORIALES ACREDITADOS
 POR EL ENTE COSTARRICENSE DE ACREDITACIÓN - ECA-
 DE ACUERDO CON LA NORMA INTE-ISO/IEC 17025:2005



TEL: 2207-3431, FAX: 2253-3762
 Ciudad Universitaria Rodrigo Facio 100 m detrás de la Facultad de Ciencias Agroalimentarias

Laboratorio de Ensayos
 Alcance de Acreditación No. LE-025
 Vigencia 11 set 2005 al 11 set 2009

NOTA:

1. Este informe de análisis se refiere únicamente a las muestras ensayadas que fueron recibidas en las instalaciones del CITA. El proceso de muestreo ha sido responsabilidad del cliente.
2. Este reporte no debe ser reproducido parcialmente, sin autorización expresa del responsable del laboratorio.
3. Para cualquier consulta sobre los resultados de estos análisis, por favor comuníquese con el responsable de este reporte al 2207-34 17
4. Envíenos sus comentarios sobre nuestros servicios al correo: suopinion.cita@ucr.ac.cr o comuníquese al teléfono: 2207-3564.

OBSERVACIONES: Los equipos utilizados para en los análisis de proteína son:

- Balanza analítica, marca Sartorius, modelo BP221S
- Sistema de digestión, marca Foss Tecator, modelo 2020
- Unidad de destilación automática 2200 kjeltec, marca Foss Tecator, modelo 2200 kjeltec

María de los Angeles Torres

Emitido por: BQ. María de los Ángeles Torres
GERENTE TÉCNICO
LABORATORIO DE ANÁLISIS QUÍMICO



**LABORATORIOS CON ENSAYOS QUÍMICOS Y SENSORIALES ACREDITADOS
POR EL ENTE COSTARRICENSE DE ACREDITACIÓN - ECA-
DE ACUERDO CON LA NORMA INTE-ISO/IEC 17025:2005**



TEL: 2207-3431, FAX: 2253-3762
Ciudad Universitaria Rodrigo Facio 100 m detrás de la Facultad de Ciencias Agroalimentarias

Laboratorio de Ensayos
Alcance de Acreditación No. LE-035
Vigencia 11 set 2008 al 11 set 2009



UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
Centro de Investigaciones en Nutrición Animal



10 de marzo, 2009.
CINA-018-2009.

Mariela Herrera Zúñiga
Escuela de Ingeniería Química
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

Estimada señora (ita):

Sírvase encontrar el detalle del análisis de Proteína cruda realizado a una muestra de harina de soya; con sus respectiva repeticiones.

Código muestra 111	Análisis proteína cruda %
1	45.6
2	45.4
3	45.4
4	45.6
5	45.0
6	45.2
7	45.2
8	45.2
9	43.8
10	46.1

M.Sc. Johnny Villalobos Molina
Jefe Laboratorio Químico
CINA



M.Sc. Lizbeth Mata Ariza
Ingeniera Agrónoma



cc. archivo