



"VIGILADA MINEDUCACIÓN"

AGROSAVIA

Corporación colombiana de investigación agropecuaria

**VERIFICACIÓN DE LA METODOLOGÍA ANALÍTICA PARA LA
DETERMINACIÓN DE FÓSFORO TOTAL EN ALIMENTOS PARA ANIMALES
EN EL LABORATORIO DE QUÍMICA ANALÍTICA DEL C.I TURIPANÁ -
AGROSAVIA.**

DANIELA ISABEL BERRIO BARRAGÁN

JOSÉ JOAQUÍN PINEDO HERNÁNDEZ
Director

AMIR JOSÉ SERPA ORTEGA
Coodirector

**UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE QUÍMICA**

**MONTERÍA
2022**

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente
Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920
www.unicordoba.edu.co



Certificado GP 134-1

Certificado SC 5278-1



"VIGILADA MINEDUCACIÓN"

AGROSAVIA

Corporación colombiana de investigación agropecuaria

**VERIFICACIÓN DE LA METODOLOGÍA ANALÍTICA PARA LA
DETERMINACIÓN DE FÓSFORO TOTAL EN ALIMENTOS PARA ANIMALES
EN EL LABORATORIO DE QUÍMICA ANALÍTICA DEL C.I TURIPANÁ -
AGROSAVIA.**

Informe de prácticas académicas presentado para obtener el título de Químico

DANIELA ISABEL BERRIO BARRAGÁN

JOSÉ JOAQUÍN PINEDO HERNÁNDEZ
Director

AMIR JOSÉ SERPA ORTEGA
Coodirector

**UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE QUÍMICA**

MONTERÍA - CÓRDOBA

2022

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co



Certificado SC 5278-1



"VIGILADA MINEDUCACIÓN"

AGROSAVIA

Corporación colombiana de investigación agropecuaria

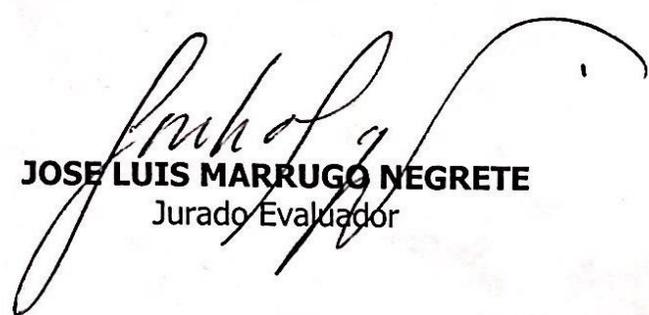
CARTA DE APROBACIÓN

De acuerdo con el orden del día, el expositor respondió algunas preguntas del público y dándose por terminada la sesión pública, los jurados evaluadores procedieron a calificar tanto el trabajo de grado como la exposición presentada.

Finalmente, al Trabajo de Grado, modalidad Investigación, titulado "**VERIFICACIÓN DE LA METODOLOGIA ANALITICA PARA LA DETERMINACION DE FÓSFORO TOTAL EN ALIMENTOS PARA ANIMALES-LABORATORIO DE AGROSAVIA C.I TURIPANA**", realizado por el estudiante del programa de Química **DANIELA ISABEL BERRIO BARRAGAN**, dirigido por el profesor JOSE JOAQUIN PINEDO HERNANDEZ y codirigida por AMIR JOSÉ SERPA ORTEGA, se le ratificó por parte de los evaluadores la calificación de Aceptada, asignándole un valor numérico de 4.3.

En constancia firman:


ROBERH DE JESUS PATERNINA URIBE
Jurado Evaluador


JOSE LUIS MARRUGO NEGRETE
Jurado Evaluador


DAIRO E. PÉREZ SOTELO
Jefe Departamento de Química

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co





"VIGILADA MINEDUCACIÓN"

DEDICATORIA

Este trabajo en primer lugar es dedicado a Dios por darme fuerza durante este grandioso proceso, por protegerme y brindarme la suficiente tranquilidad para hacer todo de manera correcta y poder lograr este título.

A mis padres Amparo Berrio, Emel Berrio y Juan Álvarez, por todo su cariño y apoyo incondicional durante todos estos años. Son el motor de mi vida y gracias a ustedes por su esfuerzo he logrado cumplir este gran sueño.

A mis hermanos y amigos por brindarme su apoyo durante mi proceso educativo.

A la Universidad de Córdoba por haberme brindado todas las oportunidades que me hicieron fortalecer mi conocimiento como profesional.

A Alejandro por todo su apoyo en este proceso, por ser mi gran compañero, por ser mi impulso y mi mejor compañero de estudio, por su cariño incondicional y todo su esfuerzo.

A mi ángel en el cielo, Mi Nasto.

Infinitas Gracias a todos

Daniela Berrio

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co





"VIGILADA MINEDUCACIÓN"

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer de manera especial a **AGROSAVIA** por la oportunidad que me brindaron de poder reforzar mi aprendizaje en la corporación. A cada una de las personas que aportaron su granito de arena en mi proceso, que me enseñaron y ayudaron mucho a ser mejor cada día para poder lograr grandes cosas en mi vida.

A mis padres, por todo su esfuerzo, apoyo y amor incondicional.

A mi director Jose Joaquín Pinedo, por aportarme su conocimiento durante esta oportunidad y ser mi gran guía.

A todos los docentes del programa de Química, por dar lo mejor de sí para formar grandes profesionales en el área, al profesor Roberth Paternina por enseñarme grandes cosas en su materia que me hicieron amar el área.

A Juan de Dios Jaraba, Ing Agrónomo por brindarme una gran oportunidad y confiar en mí.

A mi Colega y codirector Amir serpa, por todo su conocimiento durante mi proceso de práctica. Gracias por apoyarme, por brindarme su tiempo y disposición

A mi equipo de trabajo, con quienes compartí todo este tiempo y por cada granito de arena que aportaron en mi proceso, y a los Ingenieros Carlos y Diana por brindarme la oportunidad y su apoyo, a mis compañeros de red Jerson, Rafael, Sr Jeovanni, Ángel, Arturo, Angelica, Samir, Edwin Jaime. De todos me llevo grandes cosas, Gracias.

A Alejandro, por cada momento que compartió conmigo y por ser mi guía incondicional, mi apoyo y mi soporte en los días difíciles. Por lucharla conmigo hasta el final y por estar firme en toda esta oportunidad. Mi admiración para ti, colega.

A mi mejor amiga María Jose Jiménez por estar siempre para mí siendo tan incondicional, cariñosa y por no dejarme caer nunca. Gracias infinitas por todo.

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co



Certificado GP 134-1

Certificado SC 5278-1



"VIGILADA MINEDUCACIÓN"

Contenido

1. RESUMEN	11
2. INTRODUCCIÓN	12
3. MARCO TEORICO	13
3.1. Minerales	13
3.2 Fósforo (P)	14
3.2.1 Generalidades	14
3.2.2 Fósforo en la nutrición animal	14
3.3. Alteraciones en la ingesta de fósforo	16
3.4. Método de cuantificación de P	16
4. PARÁMETROS DE VERIFICACIÓN	17
4.1. Intervalo de trabajo del método	17
4.2. Linealidad (Intervalo lineal, intervalo de trabajo del método)	17
4.3. Límite de detección del método (LDM)	17
4.4 Límite de cuantificación del método (LCM)	18
4.5 Límite de detección instrumental (LDI)	18
4.6. Veracidad	19
4.7. Precisión	19
4.7.1. Repetibilidad	19
4.7.2. Precisión intermedia	19
4.8. Incertidumbre	20
5. OBJETIVOS	21
5.1. Objetivo general	21
5.2. Objetivos específicos	21
6. METODOLOGÍA	22
6.1. Muestras	22
6.2. Materiales	22
6.3. Equipos	23
6.4. Reactivos	23
6.5. Soluciones	24
6.6. Análisis de muestras	24
6.6.1. Selección de muestras	24
6.6.2. Procedimiento de análisis	25
6.6.3. Reducción a cenizas	25
6.6.4. Digestión	25
6.6.5. Preparación de estándares	26
6.6.6. Preparación de la curva de calibrado	26
6.6.7. Preparación de muestras y medición de absorbancia	26
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
7.1. Intervalo lineal del instrumento - curva de calibración	29
7.2. Intervalo de trabajo método	32
7.3. Límite de detección y cuantificación del método (LDM y LCM)	32
7.4. Límite de detección instrumental (LDI)	34
7.5. Precisión	35
7.5.1. Repetibilidad	36
7.5.2. Precisión intermedia	37
7.6. Veracidad	37
7.7. Incertidumbre del método	38
7.7.1. Fuentes de incertidumbre	38

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co





AGROSAVIA

Corporación colombiana de investigación agropecuaria

7.7.2. Cuantificación de incertidumbre	39
8. CONCLUSIONES.....	41
9. BIBLIOGRAFÍA.....	43
10. ANEXOS.....	47

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co



Certificado GP 134-1

Certificado SC 5278-1



"VIGILADA MINEDUCACIÓN"

ABREVIATURAS

C.I.: Centro de Investigación

N.T.C.: Norma Técnica colombiana

FA.O.: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

L.C.M.: Límite de Cuantificación del método

LDM: Límite de detección del método

L.D.I.: Límite de detección instrumental

P: Fósforo

B.k.: Blanco

M.R.I.: Material de referencia interno

A.O.A.C.: Asociación oficial de química analítica

C.V.: Coeficiente de variación

\bar{X} : Promedio

S: Desviación estándar

λ : Longitud de onda

F.D.: Factor de dilución

U.exp.: Incertidumbre expandida

U.c.: Incertidumbre combinada

U. e.: Incertidumbre estándar

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co





"VIGILADA MINEDUCACIÓN"

TABLAS

Tabla N° 1. Materiales de referencia	25
Tabla N° 2. Factores de dilución	¡Error! Marcador no definido.
Tabla N° 3. Plan de verificación	28
Tabla N° 4 Estándares empleados en la inspección visual	30
Tabla N° 5. Curva de calibrado seleccionado	31
Tabla N° 6. Intervalo de trabajo seleccionado	¡Error! Marcador no definido.
Tabla N° 7. LDM y LCM	32
Tabla N° 8. Estándar 0,8 mg/L P	33
Tabla N° 9. Límite de detección instrumental (LDI)	34
Tabla N° 10. Test de rechazo para muestra B22-10199	35
Tabla N° 11. Criterio de aceptación para Coeficiente de Variación A.O.A.C	36
Tabla N° 12. Repetibilidad	36
Tabla N° 13. Precisión intermedia	37
Tabla N° 14. Veracidad para cada material de referencia	37
Tabla N° 15. Resultados obtenidos para la determinación de la incertidumbre para la concentración baja (muestra B22-10199)	39
Tabla N° 16. Incertidumbre total para las muestras	40

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co





"VIGILADA MINEDUCACIÓN"

FIGURAS

Figura N° 1 Diagrama de causa y efecto (Ishiwaka)	20
Figura N° 2. Diagrama de cajas y bigotes	35
Figura N° 3. Diagrama de fuentes de incertidumbre	38
Figura N° 4. Contribución de las fuentes de incertidumbre	40

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co



Certificado GP 134-1

Certificado SC 5278-1



"VIGILADA MINEDUCACIÓN"

1. RESUMEN

El P como mineral, es un elemento esencial para transformar la proteína y la energía de los alimentos en componentes del organismo o en productos animales; por tanto, debe ser utilizado en la ingesta animal como base para el mantenimiento de las funciones orgánicas, para la formación de tejidos en los animales en crecimiento y para la producción de carne, huevos, leche, lana, entre otros.

Para conocer con precisión y exactitud el contenido de P en los alimentos destinados a la nutrición animal es necesario realizar una verificación analítica en las condiciones de cada laboratorio, que consiste en la evaluación de ciertos parámetros que aportan evidencia objetiva que cumplen con requisitos específicos. Esta técnica se encuentra normalizada por la F.A.O. Animal Production and Health 2011. Edición N°14 y fue verificada con el fin de reportar resultados confiables por el laboratorio.

Para esto, se estableció como objetivo principal de este trabajo la verificación de la metodología para la determinación de P total en la matriz de alimentos para animales bajo las condiciones del laboratorio de Química Analítica del C.I .TURIPANÁ, mediante el método colorimétrico del ácido vanadomolibdofosfórico con el fin reportar resultados confiables en la prestación del servicio.

El intervalo lineal seleccionado se encuentra entre 1 - 30 $\mu\text{g/ml}$ P, el límite de cuantificación del método (LCM) fue de 0,05 g/kg P, límite de detección del método (LDM) de 0,04 g/kg P y el límite de detección instrumental (LDI) de 0,005 g/kg P.

La precisión, evaluada como repetibilidad y precisión intermedia presentó coeficientes de variación (CV) inferiores al 8 %, 4 % y 2 % para el rango de trabajo bajo, medio y alto respectivamente, cumpliendo con el CV máximo permitido por la AOAC.

Palabras claves: parámetros, verificación, analito, ISO, FAO, linealidad, AOAC, forrajes.

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co





"VIGILADA MINEDUCACIÓN"

2. INTRODUCCIÓN

La producción de alimentos para animales se ha convertido en una actividad intermedia entre la agroindustria y la actividad pecuaria, en donde se transforman materias primas de origen agrícola como maíz y yuca, en alimentos destinados a los animales y de esta manera producir bienes de consumo humano como carne, pollo y leche. La importancia de este sector ha sido creciente, ya que la alimentación de los animales es fundamental para obtener productos finales de mejor calidad (Legiscomex, 2017).

En Colombia, la Superintendencia de Industria y Comercio (SIC) afirma que los alimentos para animales están moviendo importantes recursos, al generar empleo y desarrollo en el sector rural; sin embargo, la deficiencia en la infraestructura del país se ha convertido en unos de los principales retos a superar por parte de la industria. En lo referente a la productividad del sector, el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), se ha encargado de controlar la elaboración, comercialización y uso de los alimentos, aditivos y sales mineralizadas, utilizados en la alimentación animal, esto con el objetivo de que los productores colombianos cuenten con comestibles de buena calidad, los cuales al ser usados correctamente prevengan problemas zoonosológicos en las especies animales y garanticen la inocuidad del producto final (Legiscomex, 2017).

En este sentido, cobran vital importancia el contenido de macrominerales en los alimentos, como por ejemplo el P, el cual se requiere en grandes cantidades en la alimentación animal, puesto que es uno de los componentes de mayor importancia en el hueso (aproximadamente el 80% del fósforo del cuerpo está presente en el esqueleto), forma parte importante de compuestos orgánicos implicados en casi todos los aspectos del metabolismo, juega un papel importante en los músculos, el metabolismo energético de los hidratos de carbono, grasas, aminoácidos, tejidos nerviosos, química normal de la sangre y desarrollo del esqueleto. (Rebollar, P. G *et al.*, 1999).

En particular, las empresas productoras y los usuarios finales que suministran el alimento a los animales, tienen la necesidad de conocer el contenido nutricional; es así que, cuantificar el contenido de P es de vital importancia y por eso se requiere emplear metodologías que

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co





permitan conocer esta información y brindar el servicio a los productores como también a empresas grandes, medianas y pequeñas de la región y el país.

Debido a lo anterior, se realizó la verificación de la metodología para la determinación del contenido de P total en alimentos para animales de acuerdo con el método normalizado reportado por la F.A.O. 2011, en las instalaciones del laboratorio de química analítica del C.I. Turipaná- AGROSAVIA, con el fin de ser ofrecido como servicio para estimar el contenido de P presente en los alimentos.

AGROSAVIA, a través del C.I. Turipaná tiene un gran compromiso con la región y busca fortalecer la conexión de los productores con el sector agropecuario, por eso es importante ofrecer metodologías analíticas normalizadas y verificadas en las condiciones del laboratorio, y para la obtención de resultados analíticos con rigor y calidad científica que serán suministrados al cliente.

3. MARCO TEORICO

3.1. Minerales

Los minerales representan del 4,3 % al 4,7% de la masa total de los animales superiores. Estos minerales se pueden encontrar como iones, en forma de sales no disociadas o en combinaciones con otros compuestos orgánicos, siendo las formas iónicas las de mayor importancia. Además, mantienen al animal en buen estado de salud. Se considera que los minerales son el tercer grupo limitante en la nutrición animal, siendo a su vez, el que tiene mayor potencial y menor costo para incrementar la producción del ganado (Salamanca, 2010).

Los minerales desempeñan funciones tan importantes como ser constituyentes de la estructura ósea y dental, de tejidos blandos y líquidos corporales. (Cseh, 2015).

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co





"VIGILADA MINEDUCACIÓN"

3.2 Fósforo (P)

3.2.1 Generalidades

El P como mineral, es un elemento esencial y necesario para transformar la proteína y la energía de los alimentos en componentes del organismo o en productos animales como leche, carne, crías, piel y lana.

El P es fundamental para la función y estructura de los tejidos; su fisiología y metabolismo están modulados e interrelacionados por otros nutrientes, por hormonas y por la vitamina D; A su vez, representan el principal componente mineral del hueso por lo cual deben estar disponibles simultáneamente y en cantidades suficientes para que la mineralización ósea sea adecuada, la carencia de uno de ellos, de ambos o de la vitamina D ocasiona complicaciones, especialmente osteopenia, raquitismo y fracturas. (Mollehuanca, 2018)

3.2.2 Fósforo en la nutrición animal

Los alimentos son considerados cualquier elemento de una dieta que aporta los nutrientes necesarios para el organismo animal para mantener sus necesidades vitales como crecimiento, mantenimiento fisiológico, reproducción y producción económica. (Ruano, 2012). Los componentes utilizados en la alimentación animal, básicamente consisten en forrajes, concentrados y subproductos.

El P participa en el 95% de las reacciones de transferencia y utilización de energía influyendo directamente sobre la ganancia de peso corporal, la cual está relacionada con el inicio de la pubertad, de esta manera, la disponibilidad de Ca, P y Mg para la pubertad es de gran importancia, ya que son requeridos en la tendencia a la estabilidad de los órganos reproductivos y el resto de los tejidos corporales (Miranda *et al.*, 2006).

Se ha identificado que en el cuerpo animal el 80% de P se encuentra en el esqueleto y el resto se distribuye en todo el cuerpo en combinación con proteínas, grasas y sales inorgánicas, también se evidencia que el P constituye el 22% de la ceniza mineral y menos del 1% del peso total del cuerpo, su papel más importante es ser un integrante fundamental de los huesos y dientes y a su vez, mejora el comportamiento de la reproducción en varias etapas del ciclo

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co





"VIGILADA MINEDUCACIÓN"

AGROSAVIA

Corporación colombiana de investigación agropecuaria

reproductivo, incrementa la fertilidad, la tasa de nacimiento y crecimiento de terneros (García *et al.*, 2004).

Dentro de las funciones generales de este mineral está la de conferir solidez y fuerza al esqueleto, activación de enzimas, secreción de numerosas hormonas y factores de liberación de hormonas, contracción y relajación muscular, en ganado es importantes para la producción de leche y también para la formación del tejido muscular (Reyes *et al.*, 2000)

Cabe destacar que en relación a las concentraciones de P que influyen en la producción de derivados lácteos, se deben tener en cuenta aspectos importantes al momento de determinar estos analitos, como las condiciones ambientales, sanitarias, tecnificación y manejo nutricional de los animales, ya que de ello depende el éxito o fracaso de una empresa lechera, como lo indica la universidad politécnica salesiana en Ecuador (Barros *et al.*, 2012).

Por otra parte, el Departamento de Salud animal de la facultad de ciencias agropecuarias de la Universidad de Caldas, realizó un estudio en la determinación de Ca, P y Mg en ganado lechero, lo cual indicó que el Ca y el Mg eran los adecuados para un correcto balance metabólico mineral para el parto, mientras que los valores de P en algunos casos presentó un aporte superior al requerido, por lo que es necesario realizar estudios posteriores para determinar la magnitud del exceso en el consumo y el efecto que tiene sobre la fertilidad del ganado lechero (Ceballos *et al.*, 2004).

En Colombia y en la mayoría de países tropicales la base de la alimentación de los Bovinos son los Pastos. Las pasturas de nuestro país se caracterizan por la gran variedad de especies y la alta variabilidad en su calidad debido a las diferentes formas de manejo, las épocas climáticas y a la diversidad de la geografía. Particularmente en Córdoba existe una gran variedad de pastos en los que se destacan los que son para pastoreo y los de corte, para los primeramente mencionados el Kikuyo, Brasilero, Braquiaria, entre otros y para los pastos de corte se encuentran Gramalante, Caña Forrajera, Gramafante, etc. En una caracterización del valor nutricional del pasto Kikuyo realizada por el Laboratorio de Nutrición Animal de la Universidad Nacional de Colombia se obtuvo un promedio de P de 0,48% (Correa *et al.*, 2008).

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co



Certificado GP 134-1

Certificado SC 5278-1



"VIGILADA MINEDUCACIÓN"

AGROSAVIA

Corporación colombiana de investigación agropecuaria

Del mismo modo, en Antioquia realizaron una extrusión húmeda del pasto Kikuyo donde se obtuvo un 0,545% de P en la muestra (Cruz *et al.*, 2020); la disponibilidad de alimentos naturales a partir de plantas con alta concentración de P para animales herbívoros en la región cordobesa es limitada, debido a que estas no aportan gran concentración de estos minerales en su alimentación, así el análisis químico de estos elementos se vuelve primordial tanto en concentrados, forrajes y asimismo subproductos, con el fin de buscar alternativas en la alimentación que proporcione mayores contenidos de este elemento o mejorar procesos productivos de alimentos en términos del contenido de P.

3.3. Alteraciones en la ingesta de fósforo

Se ha evidenciado que la ingestión insuficiente de P, se encuentra relacionado con una baja fertilidad por una aparente disfunción de los ovarios, presentándose como consecuencia la baja producción de leche por deficiencia de este elemento (Ceballos *et al.*, 2004).

Las principales causas de deficiencia mineral en el forraje son debido a bajas concentraciones de mineral en el suelo por presencia de antagonistas y ausencia de formas disponibles (Igac, 2021). Los pastos carentes de minerales proveen al animal una nutrición mineral baja. Adicionalmente, el ganado destinado a producción de leche bajo condiciones de pastoreo requiere caminar para la obtención de forraje y para el ordeño por lo que es necesaria un buen nivel de P en su estructura ósea. (Igac, 2021)

3.4. Método de cuantificación de P

Existen diversas formas de cuantificar el contenido fosforo en la matriz de alimentos, las cuales se basan en la proporcionalidad que existe entre la concentración y la señal de un instrumento de medición.

Para la determinación de contenido de P el método colorimétrico se basa en la formación de un compuesto de color amarillo debido a la unión entre el anión fosfato PO_4^{3-} y el Molibdovanadato que absorbe a una longitud de onda de 430 nm. La absorbancia del complejo a 430 nm es proporcional a la concentración del ion fosfato (ley de Beer- Lambert). (FAO 2011).

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co





"VIGILADA MINEDUCACIÓN"

4. PARÁMETROS DE VERIFICACIÓN

4.1. Intervalo de trabajo del método

El intervalo de trabajo del método, dado en el alcance del método, se relaciona con la concentración de la muestra de laboratorio. Se expresa, por ejemplo, en $\mu\text{g kg}^{-1}$ para una muestra de ensayo sólida. Está dado entre un valor mínimo que es el LCM y un valor máximo derivado de las muestras sometidas a todo el proceso analítico en los ensayos de precisión.

4.2. Linealidad (Intervalo lineal, intervalo de trabajo del método)

El intervalo lineal es el intervalo de concentración de analito sobre el cual el método produce resultados proporcionales a la misma (IDEAM, 2006)

Con el objeto de determinar el rango lineal, se realiza un análisis de los patrones de trabajo a diferentes concentraciones y un blanco libre del valor conocido de analito, luego se realiza un gráfico de concentración vs respuesta instrumental.

4.3. Límite de detección del método (LDM)

El límite de detección del método es la menor concentración en la muestra que produce una lectura diferente a la del blanco. Para la determinación del LDM se realiza la lectura blancos de proceso, del cual se deberá tener en cuenta que hacen parte todos los reactivos del método, menos el analito de interés, su expresión matemática está dada por la siguiente expresión:

$$\text{LDM} = \bar{X} + 3S \quad (1)$$

Donde

\bar{X} : Promedio de las concentraciones del blanco

S: Desviación estándar en el análisis de las réplicas

(GA-P-113 "Validación y verificación de métodos químicos" 2019)

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co



Certificado GP 134-1

Certificado SC 5278-1



4.4 Límite de cuantificación del método (LCM)

El límite de cuantificación del método, está determinado por la concentración más baja de analito. Su cuantificación depende de los niveles aceptables de precisión como repetibilidad y veracidad, el LCM se define como 10 veces la desviación estándar de los blancos de proceso, y se determina por la siguiente expresión

$$\text{LCM} = \bar{X}_c + 10 * S$$

Donde

\bar{X} : Promedio de las concentraciones del blanco

S: Desviación estándar en el análisis de las réplicas

(GA-P-113 “Validación y verificación de métodos químicos” 2019)

4.5 Límite de detección instrumental (LDI)

El Límite de detección instrumental esta dado por la concentración mínima de una muestra analizada que, sin la presencia de la matriz de interés, un instrumento puede detectar. El LDI se ha establecido como 1,645 veces el valor de la desviación estándar del análisis del blanco (S); para esto se utilizan blancos de reactivos. Su expresión matemática está dada por la siguiente expresión

$$\text{LDI} = S * 1,645$$

Donde

S: Desviación estándar en el análisis de las réplicas

(GA-P-113 “Validación y verificación de métodos químicos” 2019)

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co



Certificado GP 134-1

Certificado SC 5278-1



4.6. Veracidad

Veracidad es considerado como el grado de concordancia entre el valor promedio obtenido en los resultados de ensayo y una referencia aceptada o valor verdadero dada por un material de referencia certificado o por ensayos interlaboratorios. Este se determina utilizando 7 réplicas de materiales de referencia en un rango de trabajo bajo, medio y alto. El criterio de aceptación en forma general está dado por valores $-2 \leq z\text{-score} \leq 2$.

$$Zscore = \frac{Valor\ exp - Valor\ real}{S}$$

4.7. Precisión

La precisión está comprendida por la repetibilidad y la precisión intermedia, a su vez puede definirse como la medida de la reproducibilidad de todas las mediciones en conjunto, observando la dispersión de los datos en torno al valor central.

4.7.1. Repetibilidad

Esta dada por el grado de repetición entre los resultados de las mediciones que se realizan de manera sucesiva durante un día, manteniendo las mismas condiciones de analista, equipo, etc. Los resultados deben expresarse en términos de promedio (\bar{X}), desviación estándar (S) y coeficiente de variación (CV).

$$\% CV = \frac{S}{\bar{X}} * 100$$

Donde

% CV: Porcentaje de coeficiente de variación

(S): Desviación estándar

(\bar{X}): Promedio

4.7.2. Precisión intermedia

Se determina por la medida realizada ya sea por diferentes analistas, equipos y durante días diferentes dentro del mismo laboratorio. Los resultados deben expresarse en términos de promedio (\bar{X}), desviación estándar (S) y coeficiente de variación (CV).

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co



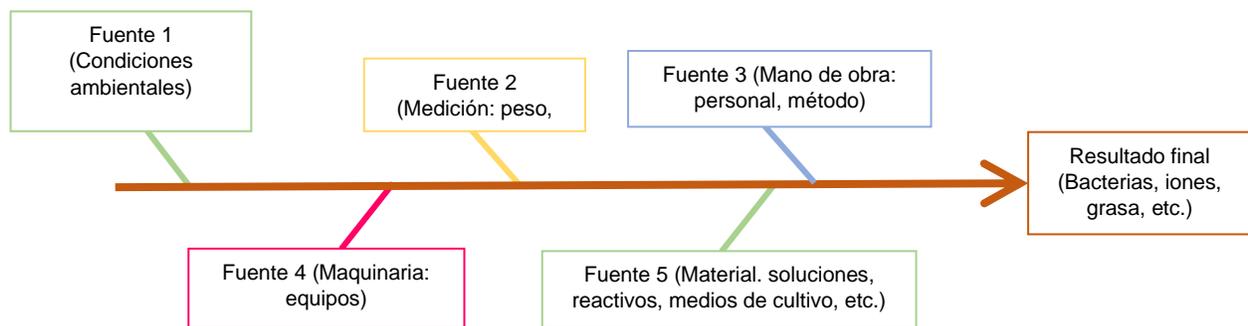
4.8. Incertidumbre

La incertidumbre en una medición es el intervalo en la escala de medición dentro del cual el valor verdadero se encuentra con una probabilidad específica, cuando se tienen en cuenta todas las fuentes de error.

La estimación de la incertidumbre de medición se obtiene mediante la combinación matemática de las incertidumbres estándar representadas como desviaciones estándar. Esta suma se realiza a partir de resultados mediante análisis estadístico y por medios distintos (incertidumbre tipo A e incertidumbre tipo B) resultantes de la evaluación estadística de series de mediciones hechas para cada componente, esto incluye componentes representados por desviaciones estándar obtenidas por suposiciones de distribuciones de probabilidad basadas en experiencias u otras informaciones como las de tipo A o B. **(GA-R-102 “Estimación de la incertidumbre”)**

La incertidumbre sobre los resultados puede surgir de muchas fuentes potenciales. Las fuentes típicas de incertidumbre de medición son: efectos del instrumento, mediciones analíticas, efectos de cálculos, estequiometría, pureza de los reactivos, condiciones de medición y efectos del operador. El diagrama de causa y efecto (Ishikawa) que se muestra en la **Figura 1** es una forma conveniente de enumerar las causas de la incertidumbre, mostrar cómo se relacionan y mostrar sus efectos. Para dar cuenta de la incertidumbre de medida que trae cada fuente, es necesario calcular los errores aleatorios y regulares, que están relacionados entre sí por el número de medidas, el equipo utilizado o el material de referencia. El objetivo es identificar y cuantificar tantas fuentes como sea posible a través de estudios de precisión y exactitud.

Figura N° 1 Diagrama de causa y efecto (Ishikawa)



Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co



"VIGILADA MINEDUCACIÓN"

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

Verificar la metodología para la determinación de P total en la matriz de alimentos para animales bajo las condiciones del laboratorio de Química Analítica del C.I. TURIPANÁ, mediante el método colorimétrico del ácido vanadomolibdofosfórico con el fin reportar resultados confiables en la prestación del servicio.

5.2. Objetivos específicos

- Estandarizar la técnica de análisis de P total en alimentos para animales (forrajes, concentrados, subproductos, materias primas) por colorimetría de acuerdo con la metodología descrita por la FAO Animal Production and Health 2011.
- Aportar evidencia objetiva de la aptitud del método para la determinación del contenido de P Total en alimentos para animales mediante la evaluación de los parámetros tales como: LD, LC, linealidad (Intervalo lineal del instrumento e intervalo de trabajo del método), precisión, veracidad e incertidumbre.

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co





"VIGILADA MINEDUCACIÓN"

6. METODOLOGÍA

6.1. Muestras

Se realizó el proceso de ingreso de las muestras, de acuerdo al procedimiento interno GA-P-16 “Manipulación de ítem de ensayo química analítica”. Para forrajes, concentrados y subproductos se almacenan a temperatura ambiente en bolsa de papel, debidamente etiquetada., Posterior al secado y molienda, se almacenan a temperatura ambiente en bolsa plástica, bolsa de papel o frasco de plástico de tapa, según disponibilidad. El tiempo de almacenamiento de contramuestra es de un año (para forrajes) y de dos meses (para concentrados, subproductos y alimentos en general) contado a partir de la fecha de ingreso a recepción.

6.2. Materiales

- ✓ Crisoles de porcelana
- ✓ Beacker (50 ml, 100 mL, 250 mL y 500 mL).
- ✓ Balones aforados (100 mL, 500 mL y 1000 mL)
- ✓ Tubos Falcon 15 mL
- ✓ Pipeta de vidrio de 10 mL
- ✓ Erlenmeyer de 50 ml para el proceso de digestión
- ✓ Micropipetas de 200 μ l, 1000 μ l y 10 mL
- ✓ Pera de succión
- ✓ Varilla de vidrio
- ✓ Pastillas de agitación
- ✓ Probeta de vidrio de 100 mL, 500 mL y 1L.
- ✓ Tubos de ensayo de 5, 15 y 25 mL
- ✓ Transfer pipetas (200) uL, (1000) uL, y (10000) uL
- ✓ Frasco lavador
- ✓ Termómetro 100°C

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co



Lavado y acondicionamiento de materiales

El material volumétrico se lavó en una solución con Extran neutro 3%, frotando con un cepillo (para eliminar los residuos remanes si los hay), se enjuagó con agua y se secó a temperatura ambiente.

Posterior al lavado, los crisoles de porcelana se colocaron en una estufa a 105°C hasta su secado y luego fueron llevados a una mufla a 600°C durante 2 horas. Se retiran y nuevamente se llevan a la estufa a 105°C.

6.3. Equipos

- ✓ Balanza analítica- 0,0001 g
- ✓ Mufla (Cap. 575 °C ± 25 °C)
- ✓ Espectrofotómetro visible Thermo Scientific™ GENESYS™ 30
- ✓ Horno de convección forzada (103 °C ± 2 °C)
- ✓ Agitador magnético.
- ✓ Cabina de extracción de gases.
- ✓ Plancha de calentamiento con agitación.
- ✓ Centrifuga para tubos falcon de 15 mL (Con capacidad para operar a 4000 rpm)

6.4. Reactivos

- ✓ Ácido clorhídrico 37 % (HCl) MERCK
- ✓ Ácido nítrico 65 % (HNO₃) MERCK
- ✓ Hidróxido de amonio (NH₄OH) SIGMA
- ✓ Heptamolibdato de amonio tetrahidratado MERCK
- ✓ Monovanadato de amonio MERCK
- ✓ Fosfato monobásico de potasio (KH₂PO₄) PANREAC
- ✓ Agua tipo I

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co



"VIGILADA MINEDUCACIÓN"

6.5. Soluciones

- ✓ Solución ácido clorhídrico 6 M
- ✓ Solución de ácido nítrico 1 M
- ✓ Solución de Heptamolibdato de amonio $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$
- ✓ Solución Monovanadato (NH_4VO_3)
- ✓ Reactivo de Molibdovanadato
- ✓ Solución estándar de fósforo (1000 $\mu\text{g P/mL}$)
- ✓ Solución estándar de fósforo (100 $\mu\text{g P/mL}$)

6.6. Análisis de muestras

6.6.1. Selección de muestras

Las muestras para los ensayos fueron seleccionadas del stock de contramuestras almacenadas en el laboratorio de Química analítica del C.I. Turipaná- AGROSAVIA y conservadas de acuerdo al procedimiento interno GA-P-16 “Manipulación de ítem de ensayo química analítica”. Para los ensayos de veracidad, se seleccionaron materiales de referencia resultantes de ensayos de aptitud.

- ✓ B22-10199 **Forraje seco**
- ✓ B22-10189 **Concentrado**
- ✓ B22-10231 **Concentrado**
- ✓ B22-10212 **Subproducto**
- ✓ Tricalfos **Materia prima**

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co



Certificado GP 134-1

Certificado SC 5278-1



"VIGILADA MINEDUCACIÓN"

La tabla N°1 muestra los diferentes materiales de referencia obtenidos por ensayos interlaboratorios, utilizados para el desarrollo del proceso de verificación de P

Tabla N° 1. Materiales de referencia

MUESTRA	VALOR (g/kg)	MATRIZ
M20-2001	6,270 ± 0,52	Subproducto
M20-2003	57,418 ± 8,12	Materia prima
M20-2006	1,266 ± 0,21	Forraje seco

6.6.2. Procedimiento de análisis

Se llevó a cabo de acuerdo al método normalizado reportado por la FAO. 2011 animal Production and Health Manual No. 14. Rome.

6.6.3. Reducción a cenizas

Se pesó 1 g de muestra y se llevó a calcinación en una mufla a $550\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 25^{\circ}\text{C}$ durante 2 h., luego se sacó la muestra y se dejó en un desecador por 30 min hasta temperatura ambiente.

6.6.4. Digestión

La muestra calcinada se transfirió a un Erlenmeyer y se le adicionaron 10 mL de HCL 6M con agitación constante hasta humedecer completamente la muestra; posteriormente, se sometió a calentamiento en plancha a $250\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 20 minutos. Pasado el tiempo se retiró el Erlenmeyer de la plancha de calentamiento y se dejó en reposo a temperatura ambiente, se transfirió el contenido del Erlenmeyer a un balón aforado de 50 mL y se llevó a aforo con agua Tipo I.

Con el fin de clarificar la muestra digestada, se transfirió un volumen de 15 mL a un tubo falcón de igual capacidad y se centrifugó por 5 minutos a 2500 r.p.m.

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co



6.6.5. Preparación de estándares

A partir del estándar de fósforo de 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ se preparó un patrón de 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ utilizado para realizar las diluciones necesarias para obtener los estándares de las siguientes concentraciones 0.5, 1, 1.5, 2.5, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 y 90 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de P.

6.6.6. Preparación de la curva de calibrado

Se prepararon estándares en el intervalo de concentración de 0 a 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ P, posterior se realizó la adición de agua tipo 1 y reactivo colorimétrico (Molibdovanadato) para el análisis. El reactivo colorimétrico se preparó al mezclar 200 mL de la solución de Heptamolibdato de amonio, 200 mL de la solución de Monovanadato y 135 mL de ácido nítrico en un balón 1 L y se aforó con agua TIPO I.

Luego se tomaron volúmenes apropiados de estándar y agua, de acuerdo a la concentración deseada y se añadió 1000 μL del reactivo colorimétrico, se dejó reaccionar por 10 minutos hasta el desarrollo del color y posteriormente las muestras fueron leídas en el espectrofotómetro visible Thermo Scientific™ GENESYS™ 30 a una longitud de onda de 430 nm antes de 45 minutos. (Ver anexo A)

6.5.7. Preparación de muestras y medición de absorbancia

Se tomó una alícuota de la muestra centrifugada y teniendo en cuenta el porcentaje de P, se realizó una dilución de acuerdo a la siguiente tabla.

% P	μL Muestra (A)	μL Agua destilada (B)	Alícuota de A+B	μL Agua destilada	μL Molibdovanadato	FD
Bk.	500	500	---	---	1000	10
≤ 10	400	600	---	---	1000	5
10 a 30	500	7000	1000	0	1000	30
30 a 60	500	7000	500	500	1000	60
60 a 150	500	7000	200	800	1000	150

Tabla N° 2. Factores de dilución

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co



Posterior a esto, se dejó en reposo la curva de calibración y las muestras protegidas de la luz por 10 min. Se realizó la medición dentro de los 45 minutos posteriores a la adición de la solución colorimétrica a una longitud de onda de 430 nm.

6.7. Cálculos

La expresión acorde para calcular la cantidad de P en las muestras es la siguiente:

$$P = \frac{\left(\text{Lectura Muestra a 430 nm en } \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} * \text{FD} - \text{Lectura Bk a 430 m en } \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} * \text{FD} \right) (0,050 \text{ L})}{W}$$
$$\% P = \frac{P}{10}$$

Donde:

- P es el contenido de fósforo en g/kg de muestra.
- Lectura a 430 nm en $\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$ es la concentración interpolada de la curva de calibración.
- FD es el factor de dilución de la muestra y del blanco proceso.
- 0,050 L es el volumen de aforo para la muestra
- W es el peso de la muestra en g
- % P es el contenido de fósforo en unidades de porcentaje
- 10 es el factor resultante de convertir g/kg de muestra a % de muestra

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co



Certificado SC 5278-1



Tabla N° 3. Plan de verificación

PARÁMETRO		FÓSFORO EN ALIMENTOS PARA ANIMALES	
		METODOLOGÍA	CÁLCULO
LINEALIDAD E INTERVALO DE TRABAJO		Se preparo y analizó 10 concentraciones más el blanco. Se grafican los resultados, verificación en forma visual y con test de linealidad. El intervalo de trabajo se determinó teniendo en cuenta las curvas de calibrado, observando el intervalo con mayor linealidad.	<ul style="list-style-type: none"> Se preparó dos curvas. Promediar los resultados para cada nivel, graficar una curva promedio y calcular: <ul style="list-style-type: none"> ➤ Coeficiente de regresión (≥ 0.995) ➤ Valores residuales (diferencia entre el valor verdadero de y y el valor predicho por la línea recta, para cada valor de x).
LDI y LDM		Se preparó y leyó 7 blancos de reactivo para LDI y la lectura de 7 blancos de proceso para LDM, luego se determinó la desviación estándar de la señal (respuesta) y promedio (\bar{X}) para ambas determinaciones.	$LDI = S * 1.645$ $LDM = \bar{X}_{\text{Concentración de blanco}} + 3S$
LCM		Se tomo como LCM el primer punto de la curva. Se calculará desviación estándar (S) y promedio (\bar{X})	$LCM = \bar{X}_c + 10 * S$
	VERACIDAD	Material de referencia Se preparó y leyó 7 réplicas de material de referencia para cada matriz.	$Zscore = \frac{Valor\ exp - Valor\ real}{S}$
PRECISIÓN	REPETIBILIDAD	Se realizó con un analista durante un día, 10 repeticiones para cada rango de trabajo.	Se calculó promedio (\bar{X}), desviación estándar (S) y coeficiente de variación (CV).



	PRECISIÓN INTERMEDIA	Entre días: se realizó las mismas mediciones de repetibilidad durante 3 días. Entre analistas: se realizó los mismos ensayos de repetibilidad con 1 analista diferente durante 1 día.	Se calculó promedio (\bar{X}), desviación estándar (S) y coeficiente de variación (CV).
INCERTIDUMBRE		Se estableció las fuentes de incertidumbre durante todo el proceso. Para esto se tuvo en cuenta el diagrama de causas – efectos o de Ishikawa. Luego de identificar cada fuente se procedió a hallar la incertidumbre estándar, combinada y expandida.	

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de los ensayos realizados durante la verificación del método se presentan en los anexos. A continuación, se indica la determinación de linealidad (intervalo lineal del instrumento e intervalo de trabajo del método), límite de detección y cuantificación, precisión (repetibilidad, precisión intermedia), veracidad e incertidumbre.

7.1. Intervalo lineal del instrumento - curva de calibración.

En la **Tabla N°4** se evaluaron las concentraciones mínimas y máximas recomendadas en la metodología normalizada de la FAO. 2011 para establecer el intervalo lineal. Inicialmente se realizó una inspección visual con valores inferiores y superiores al intervalo sugerido para el análisis de P.

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co



Tabla N°4 Estándares empleados en la inspección visual

Concentraciones $\mu\text{g/mL P}$	A
1	0,037
1,5	0,060
2,5	0,106
5	0,207
10	0,420
20	0,831
30	1,237
40	1,645
50	2,046
60	2,346
70	2,540
80	2,649
90	2,709

En la **Figura N°2** se pudo visualizar que a partir de la concentración de 60 $\mu\text{g P/mL}$ se presenta una disminución en la pendiente de la curva, por lo que es necesario tomar el rango desde 1 hasta 60 $\mu\text{g P/mL}$ para observar si en los puntos inferiores se presenta linealidad.

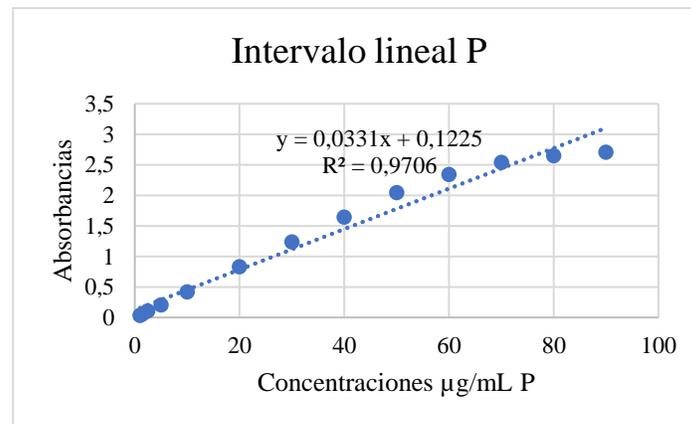


Figura N°2. Determinación del intervalo lineal

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co

En la **Figura N°3** se observó que el coeficiente de correlación (R^2) es aceptado, pero se aprecia una disminución de la pendiente en el punto de 60 $\mu\text{g P/mL}$.

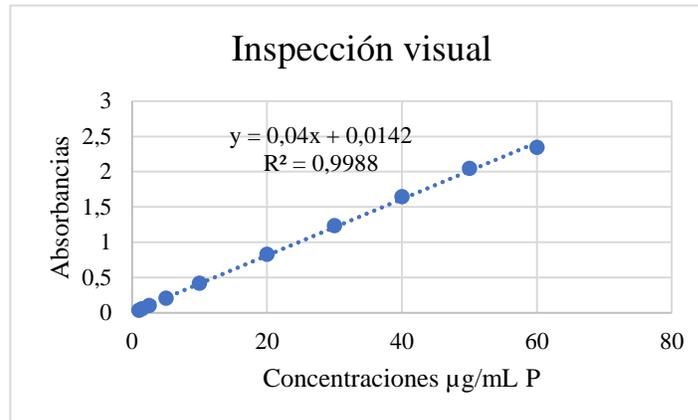


Figura N°3. Ampliación del intervalo lineal

Se establece como intervalo de trabajo del instrumento el comprendido entre 1 – 30 $\mu\text{g P/mL}$ (**Tabla N°5**) donde se pudo apreciar una buena respuesta lineal de acuerdo a la **Figura N°4**.

Concentraciones $\mu\text{g/mL P}$	A
1	0,037
5	0,207
10	0,420
20	0,831
30	1,237

Tabla N°5. Intervalo lineal seleccionado

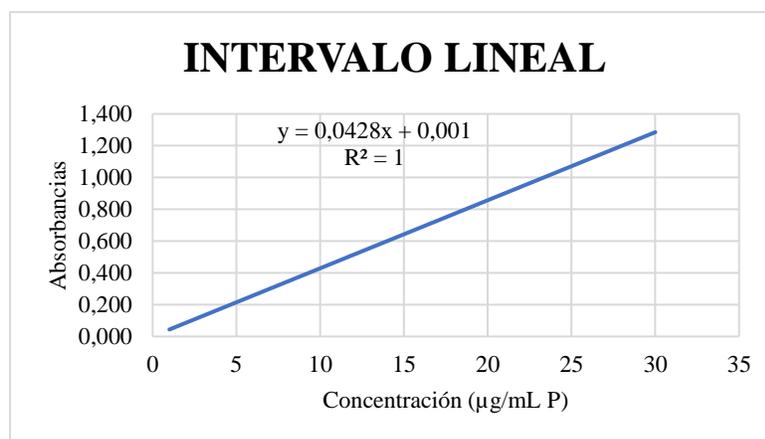


Figura N°4. Curva de calibración

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co



7.2. Intervalo de trabajo método

Se estableció el intervalo de trabajo del método teniendo como extremo inferior el límite de cuantificación y como valor máximo el encontrado en la muestra de mayor concentración utilizada en el ensayo de precisión (0,05g P/kg – 164,75 g P/kg)

7.3. Límite de detección y cuantificación del método (LDM y LCM)

El límite de detección del método (LDM) fue de 0,02 g P/kg, correspondiente a la concentración del analito que produce una señal con alta probabilidad de ser diferente del blanco y para el límite de cuantificación del método (LCM) se obtuvo un resultado de 0,04 g P/kg, indicando que es la concentración mínima cuantificable que se puede determinar como se muestra en la **Tabla N°7**.

	Blancos Proceso	
	Bk (µg/mL)	Bk (g/kg)
BK1	0,28	0,014
BK2	0,35	0,017
BK3	0,19	0,010
BK4	0,28	0,014
BK5	0,19	0,010
BK6	0,28	0,014
BK7	0,19	0,010
X	0,253	0,01
S	0,06	0,003
CV	24,54	24,54
LDM	0,44	0,02
LCM	0,87	0,04

Tabla N° 6. LDM y LCM

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920
www.unicordoba.edu.co





"VIGILADA MINEDUCACIÓN"

AGROSAVIA

Corporación colombiana de investigación agropecuaria

Con el fin de corroborar de forma experimental el LCM asociado a los blancos proceso, se realizó una corrida para el estándar de 0,8 $\mu\text{g P/mL}$ (**Tabla N°8**) ubicado por debajo del primer punto de la curva para evidenciar la relación de la masa en el proceso, el cual mostro mayor relación y eficiencia con el primer punto de la curva de calibrado.

Estándar 0,8		
	$\mu\text{g P/mL}$	g/kg
	0,84	0,042
	0,81	0,041
	0,84	0,042
	0,81	0,041
	0,84	0,042
	0,81	0,041
	0,84	0,042
X	0,83	0,04
S	0,01	0,001
CV	1,56	1,56
LDM	0,86	0,04
LCM	0,95	0,05

Tabla N°7. Estándar 0,8 $\mu\text{g P/mL}$

Teniendo en cuenta lo anterior, se decidió tomar como límite de cuantificación del método el primer punto de la curva de calibración.

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co



Certificado GP 134-1

Certificado SC 5278-1



"VIGILADA MINEDUCACIÓN"

7.4. Límite de detección instrumental (LDI)

Se obtuvo una buena respuesta instrumental, mostrada en la **Tabla N°9** obteniendo como resultado un LDI con contenido de 0,005 g/kg siendo el nivel más bajo de concentración en que el analito puede ser detectado por el instrumento.

BLANCOS REACTIVOS		
	Bk (µg/mL)	Bk (g/kg)
BK1	0,222	0,011
BK2	0,199	0,010
BK3	0,264	0,013
BK4	0,169	0,008
BK5	0,204	0,010
BK6	0,246	0,012
BK7	0,352	0,018
X	0,237	0,01
S	0,06	0,003
LDI	0,098	0,005

\bar{X} =Promedio, S= Desviación estándar, CV= Coeficiente de variación

Tabla N°8. Límite de detección instrumental (LDI)

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co



Certificado GP 134-1

Certificado SC 5278-1

7.5. Precisión

Se evaluó la precisión del método como repetibilidad y precisión intermedia expresada como coeficiente de variación (% CV). Se aplicó test de Grubbs **Tabla N°10** y diagrama de cajas y bigotes (**Figura N°5**) para identificar datos atípicos en cada uno de los parámetros evaluados de acuerdo con el protocolo interno GA-P-113 “Validación y verificación de métodos químicos” El test se realizó para cada muestra analizada. **Ver anexo B.**

Se acepta la H_0 = No hay datos atípicos en la muestra ya que T calculados < T tablas

B22-10199			
	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3
	g/Kg		
\bar{X}	0,88	0,94	0,91
S	0,07	0,02	0,01
CV	7,86	1,81	1,22
Max	0,94	0,97	0,92
Min	0,78	0,92	0,90
T Max	0,94	1,76	1,20
T Min	1,35	1,03	1,16
T Crítico	2,57	2,57	2,57

Tabla N° 9. Test de rechazo para muestra B22-10199

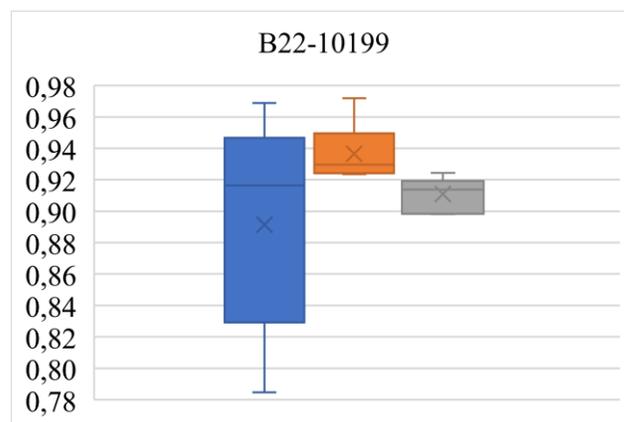


Figura N° 2. Diagrama de cajas y bigotes



7.5.1. Repetibilidad

Se obtuvieron coeficientes de variación aceptables (**Tabla N°12**), teniéndose como criterio de aceptación para ensayos de repetibilidad los valores reportados por la AOAC de acuerdo al nivel de concentración expresada en porcentaje de analito. **Tabla N°11**.

Criterio de aceptación CV (AOAC)	<1%	1-10%	>10%
CV Máximo permitido	8%	4%	2%

Tabla N° 10. Criterio de aceptación para Coeficiente de Variación A.O.A.C Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements. (2016)

	g P/kg muestra				
	B22-10199	B22-10189	B22-10231	B22-10212	TRICALFOS
X	0,89	9,09	11,29	66,66	162,9
S	0,07	0,45	0,39	2,58	3,2
CV	7,73	4,96	3,48	3,86	1,97
%P	0,089	0,909	1,129	6,666	16,29
Criterio de aceptación CV (AOAC)	≤ 8%	≤ 8%	≤ 4%	≤ 4%	≤ 2%

Tabla N° 11. Repetibilidad

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co



7.5.2. Precisión intermedia

La **Tabla N°13** presenta los resultados obtenidos bajo la condición de que el %CV sea menor al criterio de aceptación reportado por la AOAC para ensayos de repetibilidad, obteniendo resultados aceptables para todos los ensayos. *Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements. (2016)*

Código de la muestra	g P /kg muestra				
	B22-10199	B22-10189	B22-10231	B22-10212	TRICALFOS
X	0,91	9,11	11,21	65,84	164,75
S	0,04	0,36	0,26	2,24	2,73
CV	4,83	3,93	2,3	3,4	1,66
%P	0,091	0,911	1,121	6,584	16,47
Criterio de aceptación CV (AOAC)	≤ 8%	≤ 8%	≤ 4%	≤ 4%	≤ 2%

Tabla N°12. Precisión intermedia

7.6. Veracidad

La veracidad fue evaluada teniendo en cuenta tres materiales de referencia (MR) resultantes de ensayos de aptitud registrados en la **Tabla N°14** tomándose como criterio de aceptación el $-2 \leq z\text{-score} \leq 2$ encontrándose cada muestra en el rango de aceptación para el método (Ver Anexo C).

	M20-2006	M20-2001	M20-2003
VALOR ASIGNADO (g/kg)	1,266	6,270	57,418
VALOR EXPERIMENTAL \bar{X}	1,22	6,10	56,47
S	0,06	0,03	2,30
CV	4,63	0,41	4,07
SESGO	-0,05	-0,17	-0,95
SDPA	0,21	0,52	8,12
Z-SCORE PROMEDIO	-0,23	-0,32	-0,12
Z -SCORE MAX	$-2 \leq z\text{-score} \leq 2$		

Tabla N°13. Veracidad para cada material de referencia

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co

7.7. Incertidumbre del método

Se estimó identificando el mensurando, las principales fuentes que generan aporte, el valor de cada fuente, la incertidumbre combinada y la incertidumbre expandida por un factor de cobertura $k=2$. Se realizaron los cálculos de la incertidumbre para el método de fósforo total para el rango de muestras utilizadas en el ensayo de precisión teniendo en cuenta a nivel general aportes como:

- Peso de las muestras.
- Calcinación y digestión de las muestras.
- Toma de volúmenes
- Aforo de muestras
- Aportes por ensayos de precisión
- Lectura de las muestras

7.7.1. Fuentes de incertidumbre

Se identificaron las principales fuentes relacionadas en el diagrama de causa – efecto (**Figura N°3**)

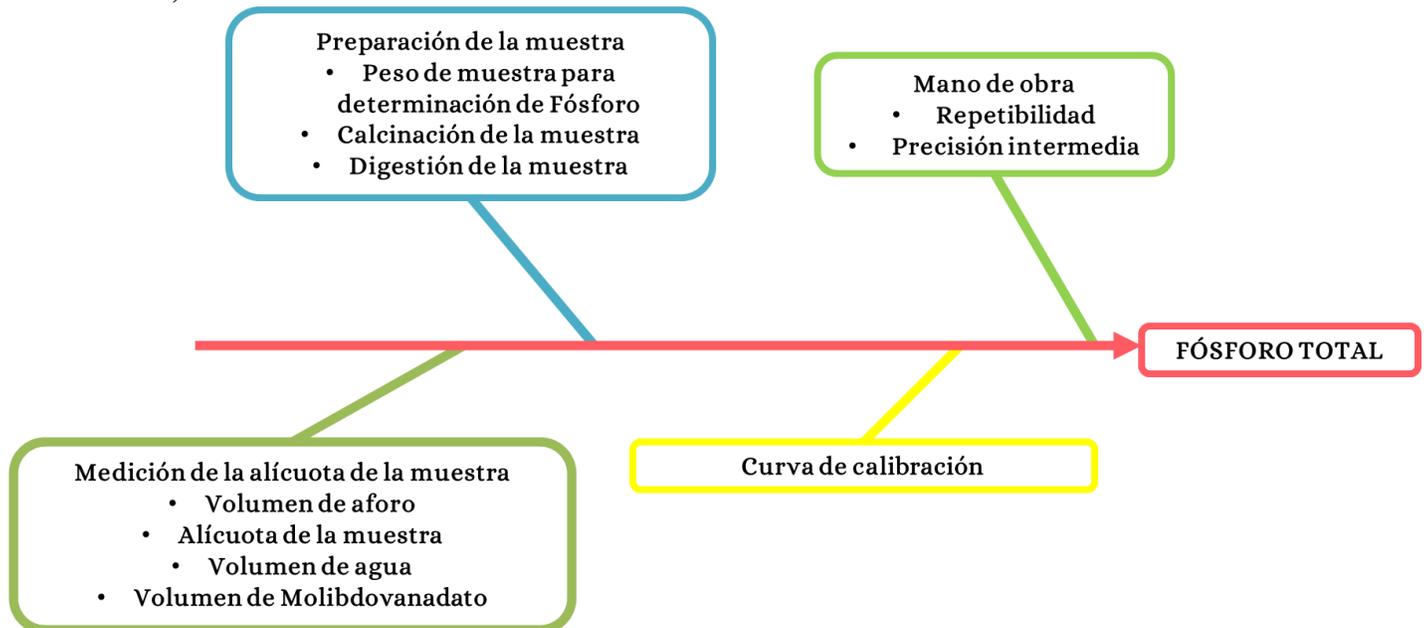


Figura N°3. Diagrama de fuentes de incertidumbre

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co

7.7.2. Cuantificación de incertidumbre

Con el objetivo de establecer las contribuciones a la incertidumbre del método de análisis de P por espectrofotometría de Uv-vis, esta se calculó a niveles de concentración según el tipo de muestra utilizadas dentro del laboratorio (**anexo D**). En la **Tabla N°14** se muestra que el factor aportante del mayor grado de incertidumbre a los resultados es la repetibilidad y la precisión intermedia para la muestra de código B22-10199.

Fuentes	Inc. estándar relativa UR	Incertidumbre estándar relativa al cuadrado (UR) ²
Incertidumbre asociada a la preparación de la muestra	4,01E-05	1,61E-09
Incertidumbre asociada a la medición de la alícuota de la muestra	9,09E-05	8,26E-09
Curva de calibrado	2,00E-04	4,00E-08
Repetibilidad	4,90E-04	2,40E-07
Precisión intermedia	7,22E-07	5,21E-13
Sumatoria	4,81E-07	2,31E-13
Raíz	2,89E-07	8,33E-14
Valor muestra		0,91
Incertidumbre final expandida		0,05
El valor es reportado como	0,91 ± 0,05	g/kg

Tabla N° 14. Resultados obtenidos para la determinación de la incertidumbre para la concentración baja (muestra B22-10199)

Con respecto a la contribución de las fuentes de incertidumbre estimadas de la muestra B22-10199, en la Figura N°4 se puede apreciar que la mayor contribución corresponde al aporte de la repetibilidad, precisión intermedia y curva de calibrado. Los aportes asociados a la preparación de la muestra y toma de alícuotas contribuyen, pero de manera menos significativa con la incertidumbre.

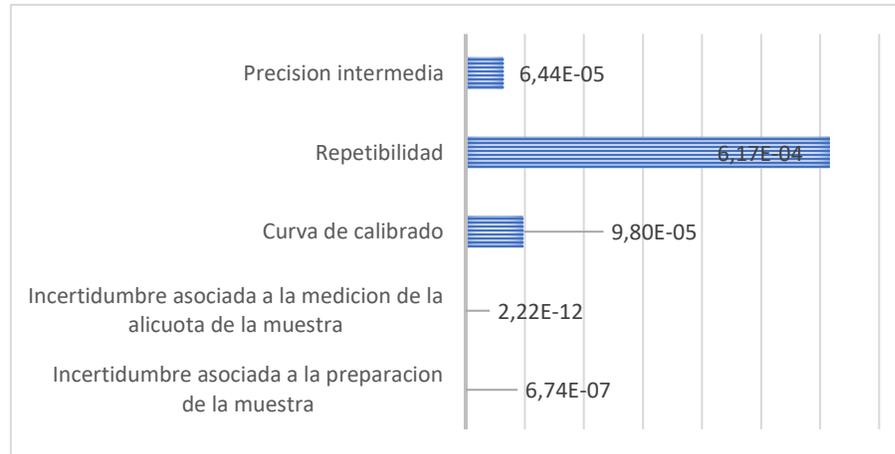


Figura N°4. Contribución de las fuentes de incertidumbre

En la **Tabla N°15** se muestra el resumen de los resultados de la estimación realizada para cada muestra.

Incertidumbre P (g/kg)	(P) Fósforo Total				
	B22-10199	B22-10189	B22-10231	B22-10212	TRICALFOS
	0,91 g/kg ± 0,05 g/kg	9,11 g/kg ± 0,4 g/kg	11,21 g/kg ± 0,3 g/kg	65,84 g/kg ± 2,2 g/kg	164,75 g/kg ± 4 g/kg

Tabla N°15. Incertidumbre para las muestras empleadas en la verificación.

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920
www.unicordoba.edu.co

8. CONCLUSIONES

- ✓ Se verificó la metodología analítica para la determinación de P en alimentos para animales mediante la técnica colorimétrica del ácido vanadomolibdofosfórico en el laboratorio de química analítica del CI TURIPANA – AGROSAVIA, se estableció el intervalo lineal del instrumento entre 1 $\mu\text{g/mL}$ a 30 $\mu\text{g/mL}$ y el intervalo de trabajo del método con valores desde 0,05 g P/kg hasta 164,5 g P/kg.
- ✓ Para el Límite de detección y cuantificación del método, se observó que el método detecta concentraciones a partir de 0,02 g P/kg y para el límite de cuantificación se estableció desde el primer punto de la curva de calibración el cual corresponde a 0,05 g P/kg.
- ✓ Para el límite de detección instrumental se obtuvo que el equipo detecta concentraciones desde 0,04 g P/kg.
- ✓ La precisión evaluada como repetibilidad y precisión intermedia del método presenta coeficientes de variación dentro de los límites permitidos por la AOAC para el factor de coeficiente de variación en función del porcentaje de P, los cuales establece que para porcentajes <1%, el CV aceptado debe ser < 8%; entre 1% -10% el CV debe ser < 4% y para muestras con valores >10% el CV debe ser < 2%.
- ✓ La veracidad se comprobó utilizando tres materiales de referencia resultantes de ensayos de aptitud en un rango bajo, medio y alto, obteniendo resultados dentro del criterio de aceptación z-score ($-2 \leq \text{z-score} \leq 2$).

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co



AGROSAVIA

Corporación colombiana de investigación agropecuaria

- ✓ Se evaluaron las contribuciones de las diferentes fuentes de incertidumbre y se tuvo como mayor aporte el asociado a las muestras a los ensayos de repetibilidad y precisión intermedia. Para la muestra de rango bajo (B22-10199) la incertidumbre calculada fue $\pm 0,05$ g/kg, para rango medio (B22-10212) se obtuvo una incertidumbre $\pm 1,98$ g/kg y para el rango alto (TRICALFOS) una incertidumbre de $\pm 3,05$ g/kg.
- ✓ De acuerdo a los resultados obtenidos el método de determinación de P Total en la matriz alimentos para animales es apto para ser aplicado en el laboratorio de química analítica de CI. Turipaná - AGROSAVIA ya que se confirmó mediante el aporte de evidencia objetiva que se cumplen los parámetros de verificación evaluados.

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co



Certificado GP 134-1

Certificado SC 5278-1



"VIGILADA MINEDUCACIÓN"

9. BIBLIOGRAFÍA

- Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements. (2016). Retrieved 7 Junio 2022, Disponible en: https://www.aoac.org/wp-content/uploads/2019/08/app_f.pdf
- Barros Gómez, G. y Sinchi Pillco, M., 2012. Determinación de las concentraciones de calcio, fosforo, magnesio, proteínas totales, urea y glucosa en suero sanguíneo de vacas lecheras Holstein mestizas en producción cuenca. [en línea] Dspace.ups.edu.ec. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/2785/1/UPS-CT002458.pdf> (Consultado el 4 de enero de 2022).
- Ceballos, A., Villa, N., A, Betancourth, Tania E, Roncancio, Diana V, Determinación de la concentración de calcio, fósforo y magnesio en el periparto de vacas lecheras en Manizales, Colombia. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias [Internet]. 2004;17(2):125-133. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=295026087002>
- Correa, C., Pabon, R. and Carulla, F., 2008. Nutritional value of kikuyu grass (*Pennisetum clandestinum* Hoechst Ex Chiov.) for milk production in Colombia: A review. I. Chemical composition, ruminal and posruminal digestibility. [online] Lrrd.org. Available at: <http://www.lrrd.org/lrrd20/4/corra20059.htm> (Consultado el 8 de enero de 2022)
- Cruz, J., Mendoza, L., Menjivar, E., Montoya, C., Giraldo, E., Ángel, & Correa-Cardona, H. (2020). Extrusión húmeda del pasto Kikuyo (*Cenchrus clandestinus* (Hochst ex Chiov)). Revista MVZ Córdoba, 26(1), e1964. <https://doi.org/10.21897/rmvz.1964>
- Cseh, S., 2015. Deficiencias minerales en bovinos para carne. Diagnóstico, caracterización y control. Disponible en:

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co





http://dspace.ucevca.edu.ec/bitstream/123456789/23795/1/Actas_Producci%C3%B3n%20Animal_11.pdf (Consultado el 17 de enero de 2022)

- Díaz, 2018 [en línea]. Manejo del calcio, el fósforo y otras estrategias para lograr aves viables, longevas y productivas en ciclos productivos largos. Disponible en: <https://www.conave.org/wp-content/uploads/2018/11/Guillermo-Diaz-Manejo-del-calcio-el-fosforo-y-otras-estrategias-para-lograr-aves.pdf> (Consultado el 17 de enero de 2022)
- Dután Chimbo, B., 2019. Determinación de la calidad de Pasto Rye Grass y su relación a las categorías animales en la Hacienda Alelí del Cantón Pillaro. [online] Repositorio.utc.edu.ec. Available at: <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/5899> (Consultado el 4 de enero de 2022)
- García, F. y Picone, L., 2004. El fósforo en la nutrición animal. [en línea] Ipni.net. Disponible en: [http://www.ipni.net/publication/ia-lahp.nsf/0/CEC4BFDD2064C828852579A30074A96C/\\$FILE/Inf-Agro.55.pdf](http://www.ipni.net/publication/ia-lahp.nsf/0/CEC4BFDD2064C828852579A30074A96C/$FILE/Inf-Agro.55.pdf) (Consultado el 4 de enero de 2022)
- García, Valencia F., Román Morales, M. y Cardona Sánchez, D., 2011. El calcio en el desarrollo de alimentos funcionales. [en línea] Scielo.org.co. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-44492011000100012 (Consultado el 4 de enero de 2022).
- Igac.gov.co. 2021. Validación - verificación de los métodos analíticos en el laboratorio nacional de suelos-Ins . [en línea] Disponible en: [http://igacnet2.igac.gov.co/intranet/UserFiles/File/DOCUMENTOS%20SGI%202021/GAG/IN-GAG-PC03-33%20Verificacion%20de%20metodos%20analiticos\(1\).pdf](http://igacnet2.igac.gov.co/intranet/UserFiles/File/DOCUMENTOS%20SGI%202021/GAG/IN-GAG-PC03-33%20Verificacion%20de%20metodos%20analiticos(1).pdf) (Consultado el 5 de enero de 2022)
- Ideam.gov.co. (2006). ESTANDARIZACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS [en línea] Disponible en: (Consultado el 6 de junio de 2022) http://www.ideam.gov.co/documents/14691/38152/Estandarizacion_metodos_analaticos.pdf/934bd941-dd47-4501-8507-d2721ef4f316.

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co





- Legiscomex, 2017 [en línea]. Alimentos para animales en Colombia. Disponible en: **¡Error! Referencia de hipervínculo no válida.** (Consultado el 7 de enero de 2022)
- Miranda L, Silvio, González, Decio, Rojas, Nidia, & Villalobos, Gloria. (2006). Concentraciones Sanguíneas de Calcio, Fósforo y Magnesio en Mautas Mestizas (Taurus-Indicus) Suplementadas Estratégicamente durante el periodo Peripuberal. Revista Científica, 16(3), 264-272. de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-22592006000300008&lng=es&tlng=es. (Consultado el 13 de enero de 2022)
- Mollehuanca Paredes J. Niveles séricos de calcio, fósforo y magnesio en alpacas huacaya púberes y adultas post-parto en cuatro centros de producción del Perú [Internet]. Repositorio.unap.edu.pe. 2018. Disponible en: http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/9807/Mollehuanca_Paredes_John_Mao.pdf?sequence=1&isAllowed=y (Consultado el 16 de enero de 2022)
- Rasul S, Kajal AM, Khan A. Quantifying Uncertainty in Analytical Measurements. J Bangladesh Acad Sci [Internet]. 2018 Jan. 29 [cited 2022 Jun. 22];41(2):145-63. Available from: <https://www.banglajol.info/index.php/JBAS/article/view/35494>
- Reyes N. Los minerales en la alimentación animal [Internet]. Repositorio.una.edu.ni. 2000. Disponible en: <https://repositorio.una.edu.ni/id/eprint/3123> (Consultado el 16 de enero de 2022)
- Rebollar, P. G., & Mateos, G. G. (1999). El fósforo en nutrición animal. Necesidades, valoración de materias primas y mejora de la disponibilidad. XV Curso de Especialización. Avances en nutrición y alimentación animal. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal FEDNA. Madrid, 31. Disponible en http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_agronomia/F%C3%B3sforo_en_Alimentaci%C3%B3n_Animal.pdf (Consultado 31 de mayo 2022)

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co





"VIGILADA MINEDUCACIÓN"

AGROSAVIA

Corporación colombiana de investigación agropecuaria

- Ruano., 2012. Degradacion "in vitro" ajustada a diferentes tasas de flujo ruminal de cuatro nuevos productos alimenticios elaborados a base de subproductos de cerveceria (masilla y levadura). [online] Repositorio.uaaan.mx. Available at: <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/4854/T19570%20RUANO%20MORALES%2C%20MARTIN%20%20TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (Consultado el 13 de enero de 2022)
- Salamanca, Arcesio, Suplementacion de minerales en la produccion bovina. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria [Internet]. 2010;11(9):1-10. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63615732008> (Consultado el 16 de enero de 2022)
- Yanapa Sanga, A., 2019. [en linea] Repositorio.unap.edu.pe. Disponible en: http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/12710/Yanapa_Sanga_Alfredo.pdf?sequence=1&isAllowed=y (Consultado el 4 de enero 2022).

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co



Certificado GP 134-1

Certificado SC 5278-1

10. ANEXOS

Anexo A

❖ Preparación de estándares

Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	$\mu\text{L P}$ (100 $\mu\text{g/mL}$)	μL agua TIPO I	μL Molibdovanadato	μL finales muestra
0	0	1000	1000	2000
1	20	980	1000	
5	100	900	1000	
10	200	800	1000	
20	400	600	1000	
30	600	400	1000	

Anexo B.

❖ Evaluación de Repetibilidad

	g/kg				
	B22-10199	B22-10189	B22-10231	B22-10212	TRICALFOS
DIA 1	0,97	8,65	11,51	67,01	163,39
	0,84	9,27	11,11	67,78	167,51
	0,96	8,77	10,66	62,46	160,74
	0,94	9,6	11,91	67,21	164,18
	0,94	9,39	11,32	65,27	159,48
	0,94	9,2	11,25	67,32	168,35
	0,89	9,06	11,47	65,41	163,98
	0,78	9,53	11,32	67,94	158,98
	0,85	9,31	11,69	72,03	160,5
	0,8	8,14	10,71	64,22	161,93
X	0,89	9,09	11,29	66,66	162,9
S	0,07	0,45	0,39	2,58	3,2
CV	7,73	4,96	3,48	3,86	1,97
%P	0,09	0,91	1,13	6,67	16,29
Criterio de aceptación CV (AOAC)	$\leq 8\%$	$\leq 8\%$	$\leq 4\%$	$\leq 4\%$	$\leq 2\%$

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co



"VIGILADA MINEDUCACIÓN"

AGROSAVIA

Corporación colombiana de investigación agropecuaria

❖ Evaluación de la precisión intermedia.

	g/kg				
	B22-10199	B22-10189	B22-10231	B22-10212	TRICALFOS
DIA 1	0,97	8,65	11,51	67,01	163,39
	0,84	9,27	11,11	67,78	167,51
	0,96	8,77	10,66	62,46	160,74
	0,94	9,60	11,91	67,21	164,18
	0,94	9,39	11,32	65,27	159,48
	0,94	9,20	11,25	67,32	168,35
	0,89	9,06	11,47	65,41	163,98
	0,78	9,53	11,32	67,94	158,98
	0,85	9,31	11,69	72,03	160,50
	0,80	8,14	10,71	64,22	161,93
DIA 2	0,92	9,14	11,10	66,35	165,11
	0,92	9,00	11,33	65,86	164,20
	0,92	8,99	11,00	65,31	164,43
	0,92	8,71	11,15	66,40	164,70
	0,94	8,89	11,07	66,68	164,86
	0,97	9,21	11,00	66,27	165,16
	0,93	9,11	11,11	67,04	165,42
	0,93	8,70	10,89	65,18	164,50
	0,95	8,81	11,15	67,89	164,80
	0,95	8,67	11,00	67,52	165,28
DIA 3	0,92	9,60	11,48	61,55	166,51
	0,92	9,13	11,33	64,36	164,41
	0,90	9,60	11,14	65,61	168,99
	0,92	9,19	11,29	65,66	168,82
	0,91	9,10	11,29	60,04	168,91
	0,92	9,41	11,22	63,52	166,78
	0,90	9,82	11,25	66,93	166,56
	0,92	8,95	11,14	63,34	166,56
	0,90	9,10	11,31	66,57	166,72
	0,90	9,40	11,03	66,42	166,78
X	0,91	9,11	11,21	65,84	164,75
S	0,04	0,36	0,26	2,24	2,73
CV	4,83	3,93	2,30	3,40	1,66
%P	0,09	0,91	1,12	6,58	16,48
Criterio de aceptación CV (AOAC)	≤ 8%	≤ 8%	≤ 4%	≤ 4%	≤ 2%

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co





"VIGILADA MINEDUCACIÓN"

AGROSAVIA

Corporación colombiana de investigación agropecuaria

Anexo C

❖ Veracidad evaluada con materiales de referencias obtenidos de ensayos de aptitud

M20-2006			M20-2001			M20-2003		
VALOR ASIGNADO: 1,266 g/kg			VALOR ASIGNADO: 6,270 g/kg			VALOR ASIGNADO: 57,418 g/kg		
RÉPLICAS	DATOS	Z-SCORE	RÉPLICAS	DATOS	Z-SCORE	RÉPLICAS	DATOS	Z-SCORE
R1	1,25	-0,08	R1	6,06	-0,40	R1	53,46	-0,49
R2	1,18	-0,40	R2	6,08	-0,36	R2	53,82	-0,44
R3	1,12	-0,70	R3	6,13	-0,27	R3	54,95	-0,30
R4	1,28	0,07	R4	6,11	-0,31	R4	58,13	0,09
R5	1,19	-0,34	R5	6,13	-0,28	R5	58,10	0,08
R6	1,24	-0,14	R6	6,13	-0,28	R6	58,86	0,18
R7	1,26	-0,02	R7	6,10	-0,32	R7	57,95	0,07
\bar{X} Obtenido	1,22	---	\bar{X} Obtenido	6,10	---	\bar{X} Obtenido	56,47	---
S	0,06	---	S	0,03	---	S	2,30	---
CV	4,63	---	CV	0,41	---	CV	4,07	---
SESGO	-0,05	---	SESGO	-0,17	---	SESGO	-0,95	---
SDPA	0,21	---	SDPA	0,52	---	SDPA	8,12	---
Z-SCORE PROMEDIO	-0,23	---	Z-SCORE PROMEDIO	-0,32	---	Z-SCORE PROMEDIO	-0,12	---
Z -SCORE MAX	≤ 2	---	Z -SCORE MAX	≤ 2	---	Z -SCORE MAX	≤ 2	---

❖ Materiales de referencia interlaboratorios obtenidos de ensayos de aptitud

M20-2001

	Ca g/kg	P g/kg
PROM	3,523	6,270
DESV	0,54	0,52
CV	15,3	8,3
N	36	38

M20-2003

	Ca g/kg	P g/kg
PROM	119,352	57,418
DESV	21,87	8,12
CV	18,3	14,1
N	36	35

M20-2006

	Ca g/kg	P g/kg
PROM	6,147	1,266
DESV	0,72	0,21
CV	11,7	17,0
N	21	21

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co



Certificado GP 134-1

Certificado SC 5278-1

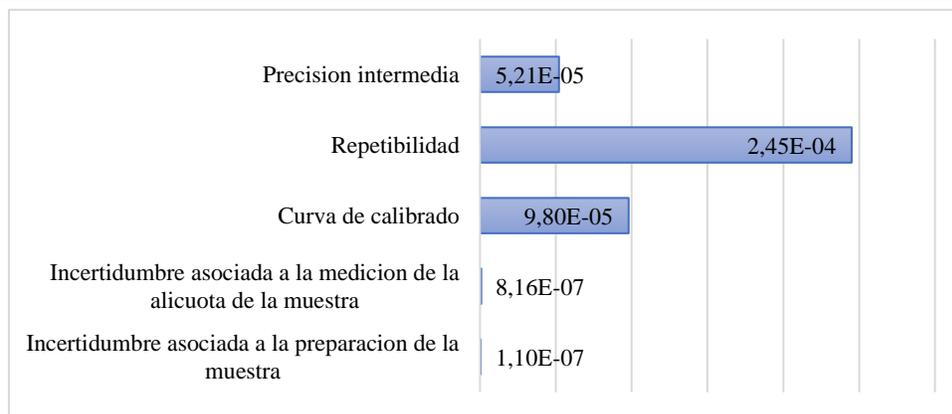


"VIGILADA MINEDUCACIÓN"

Anexo D

❖ **Tabla 1D. Evaluación de la incertidumbre B22-10189**

Fuentes		Inc. relativa UR	Incertidumbre estándar relativa al cuadrado (UR) ²
Incertidumbre asociada a la muestra	Peso de muestra para determinación de Fósforo	4,01E-05	1,61E-09
	Calcinación de la muestra	9,09E-05	8,26E-09
	Digestión de la muestra	2,00E-04	4,00E-08
Incertidumbre asociada a la medición de la alícuota de la muestra	Volumen de aforo	4,90E-04	2,40E-07
	Volumen de muestra para dilución	5,77E-07	3,33E-13
	Volumen de agua para dilución	4,12E-04	1,70E-07
	Alícuota de la muestra	2,88675E-07	8,33E-14
	Volumen de Molibdo vanadato	2,88675E-07	8,33E-14
Curva de calibrado		9,90E-03	9,80E-05
Repetibilidad		1,57E-02	2,45E-04
Precisión intermedia		7,21E-03	5,21E-05
Sumatoria			3,95E-04
Raíz			1,99E-02
Valor muestra			9,11
Incertidumbre final expandida			0,4
El valor es reportado como		9,11 ± 0,4	g/kg



❖ **Gráfico 1D. Contribuciones asociadas a la incertidumbre.**

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co



Certificado GP 134-1

Certificado SC 5278-1



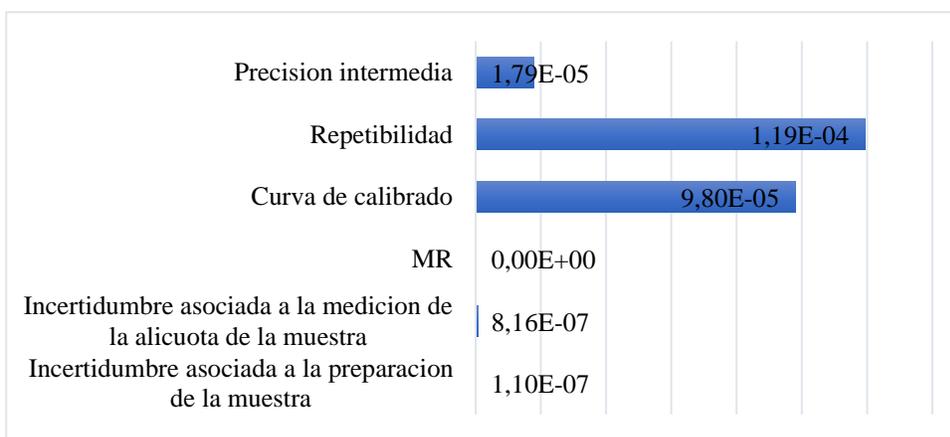
"VIGILADA MINEDUCACIÓN"

AGROSAVIA

Corporación colombiana de investigación agropecuaria

❖ **Tabla 2D. Evaluación de la incertidumbre B22-10231**

	Fuentes	Inc. relativa UR	Incertidumbre estándar relativa al cuadrado (UR) ²
Incertidumbre asociada a la preparación de la muestra	Peso de muestra para determinación de Fósforo	4,01E-05	1,61E-09
	Calcinación de la muestra	9,09E-05	8,26E-09
	Digestión de la muestra	2,00E-04	4,00E-08
Incertidumbre asociada a la medición de la alícuota de la muestra	Volumen de aforo	4,90E-04	2,40E-07
	Volumen de muestra para dilución	5,7735E-07	3,33E-13
	Volumen de agua para dilución	0,000412393	1,70E-07
	Alícuota de la muestra	2,88675E-07	8,33E-14
	Volumen de Molibdovanadato	2,88675E-07	8,33E-14
	Curva de calibrado	9,90E-03	9,80E-05
	Repetibilidad	1,09E-02	1,19E-04
	Precisión intermedia	4,23E-03	1,79E-05
	Sumatoria		2,35E-04
	Raíz		1,53E-02
Valor muestra		11,21	
Incertidumbre final expandida		0,3	
El valor es reportado como	11,21 ± 0,3	g/kg	



❖ **Gráfico 2D. Contribuciones asociadas a la incertidumbre.**

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co



Certificado GP 134-1

Certificado SC 5278-1



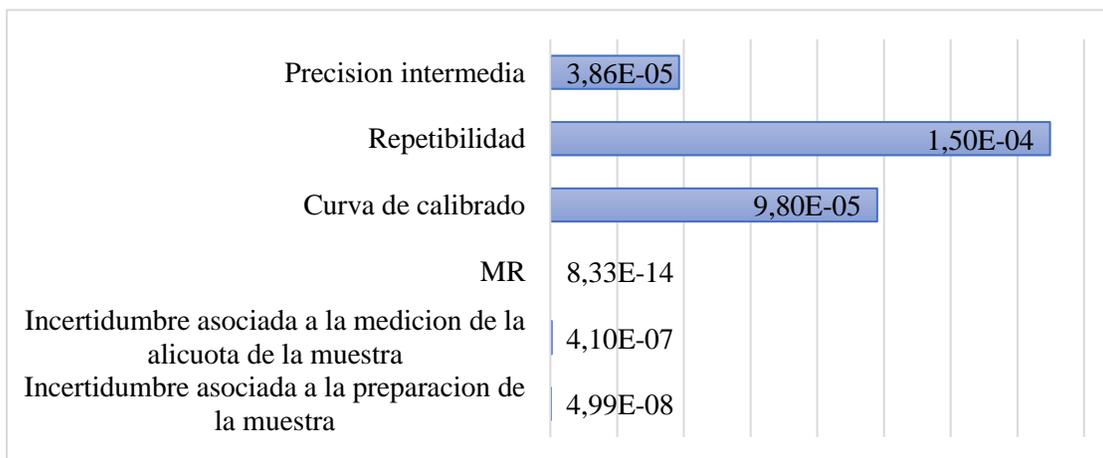
"VIGILADA MINEDUCACIÓN"

AGROSAVIA

Corporación colombiana de investigación agropecuaria

❖ **Tabla 3D. Contribuciones a la incertidumbre B22-10212**

	Fuentes	Inc. relativa UR	Incertidumbre estándar relativa al cuadrado (UR)²
Incertidumbre asociada a la preparación de la muestra	Peso de muestra para determinación de Fósforo	4,01E-05	1,61E-09
	Calcinación de la muestra	9,09E-05	8,26E-09
	Digestión de la muestra	0,0002	4,00E-08
Incertidumbre asociada a la medición de la alícuota de la muestra	Volumen de aforo	0,000489898	2,40E-07
	Volumen de muestra para dilución	5,7735E-07	3,33E-13
	Volumen de agua	0,000412393	1,70E-07
	Alícuota de la muestra	5,7735E-07	3,33E-13
	Volumen de agua	5,7735E-07	3,33E-13
	Volumen de Molibdovanadato	2,88675E-07	8,33E-14
	Curva de calibrado	9,90E-03	9,80E-05
	Repetibilidad	1,22E-02	1,50E-04
	Precisión intermedia	6,21E-03	3,86E-05
	Sumatoria		0,00029
Raíz		0,01694	
Valor muestra		65,84	
Incertidumbre final expandida		2,2	
El valor es reportado como	65,84 ± 2,2	g/kg	



❖ **Gráfico 3D. Contribuciones asociadas a la incertidumbre.**

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co





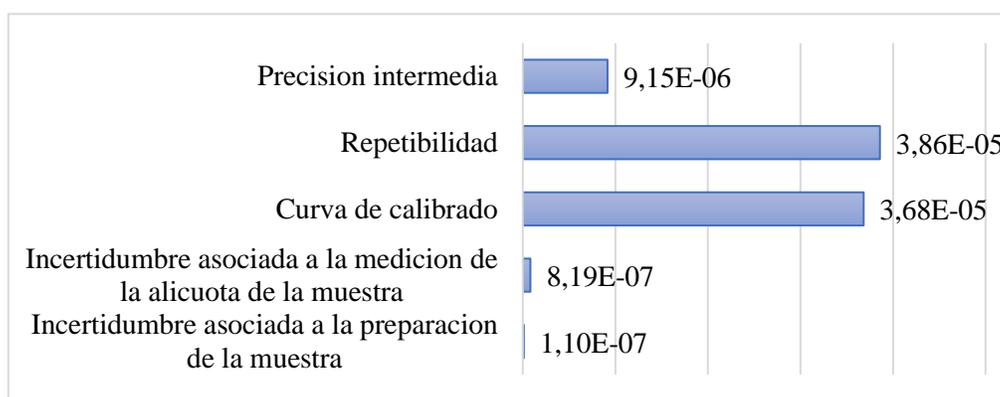
"VIGILADA MINEDUCACIÓN"

AGROSAVIA

Corporación colombiana de investigación agropecuaria

❖ **Tabla 4D. Contribuciones a la incertidumbre TRICALFOS**

Fuentes		Inc. relativa UR	Incertidumbre estándar relativa al cuadrado (UR) ²
Incertidumbre asociada a la preparación de la muestra	Peso de muestra para determinación de Fósforo	4,01E-05	1,61E-09
	Calcinación de la muestra	9,09091E-05	8,26E-09
	Digestión de la muestra	0,0002	4,00E-08
Incertidumbre asociada a la medición de la alícuota de la muestra	Volumen de aforo	0,000489898	2,40E-07
	Volumen de muestra para dilución	5,7735E-07	3,33E-13
	Volumen de agua	0,000412393	1,70E-07
	Alícuota de la muestra	1,44338E-06	2,08E-12
	Volumen de agua	3,60844E-07	1,30E-13
	Volumen de Molibdovanadato	2,88675E-07	8,33E-14
Curva de calibrado		9,90E-03	9,80E-05
Repetibilidad		6,21E-03	3,86E-05
Precisión intermedia		3,03E-03	9,15E-06
Sumatoria			0,00015
Raíz			0,01209
Valor muestra			164,75
Incertidumbre final expandida			4,0
El valor es reportado como		164,75 ± 4	g/kg



❖ **Gráfico 4D. Contribuciones asociadas a la incertidumbre.**

Por una universidad con calidad, moderna e incluyente

Carrera 6ª. No. 77-305 Montería NIT. 891080031-3 - Teléfono: 7860300 - 7860920

www.unicordoba.edu.co

