



ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL CONSEJO ACADÉMICO



FORMULARIO DE PRESENTACIÓN - 2014
“PROYECTOS DE INVESTIGACION INTERNOS”. PROY. No. PII -

Área del proyecto: Tecnología Nuclear Ciencias Básicas Ciencias Aplicadas

FACULTAD: INGENIERÍA QUÍMICA Y AGROINDUSTRIA

DEPARTAMENTO: CIENCIAS NUCLEARES

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: APLICACIONES DE ACELERADORES DE PARTÍCULAS
(verificable en el saew)

1 Proyecto Interno de Investigación

Título:
Estudio del efecto del proceso de irradiación de plumas de pollo, con electrones acelerados, sobre la extracción de queratina hidrolizada.

Resumen del proyecto (máximo 200 palabras)
En el Ecuador, la industria avícola ha presentado un gran crecimiento en los últimos años. Sin embargo, esto fomenta la liberación de altos volúmenes de desechos al ambiente, principalmente plumas. Las plumas están constituidas en un 90% por queratina, por lo cual poseen un alto potencial como fuente de esta proteína. La extracción de queratina con sulfuro de sodio, a partir de plumas de pollo, es el método que mejores resultados ha generado, de acuerdo con estudios anteriores. Sin embargo, este método permite alcanzar valores hasta un 53 % de recuperación y no se asegura la inocuidad del producto. En este proyecto se pretende determinar las condiciones de extracción (temperatura y concentración de Na₂S) más adecuadas para una materia prima sin irradiación y la posterior realización de pruebas con materia prima irradiada en el acelerador de electrones a dosis entre 10 y 25 kGy, para comprobar si es posible mejorar el rendimiento del proceso de extracción. Además se llevará a cabo un análisis microbiológico del extracto con el fin de comprobar su inocuidad.

Palabras clave: Queratina, aceleradores de electrones, irradiación de plumas, extracción de proteína.

2 Datos personales y académicos del Director del Proyecto

Apellidos: Sinche Serra	Dirección particular: Estocolmo E 2-54 y Av. Amazonas	
Nombres: Marco Vinicio		
Lugar y fecha de nacimiento: Quito, 2 de junio, 1984		
Cargo actual en la EPN: Docente del Departamento de Ciencias Nucleares	Teléfono casa: 2408415 Teléfono celular: 0995778114	
Fecha nombramiento definitivo: 11 – 09 – 2014	Teléfono oficina: 2976300	
Horas de dedicación al proyecto: 100 h/semestre	Ext. EPN: 4204 Correo electrónico: marco.sinche@epn.edu.ec	
Formación de pregrado y postgrado		
Títulos	Fecha	Institución / Universidad/País
Ingeniero Agroindustrial	15 – 06 – 2009	Escuela Politécnica Nacional / Ecuador
M.Sc. en Agronomía	22 – 08 – 2013	University of Florida / Estados Unidos de América

Datos personales y académicos del Colaborar del Proyecto		
Apellidos: Castillo Domínguez	Dirección particular: Conjunto Puertas de Alcalá, calle Medardo Silva Oe 5-103 y Línea Férrea, San Juan de Cumbayá	
Nombres: Juan Patricio		
Lugar y fecha de nacimiento: Quito, 26 de enero, 1958		
Cargo actual en la EPN: Profesor a tiempo completo del Departamento de Ciencias Nucleares	Teléfono casa: 6034890 Teléfono celular: 0987002825	
Fecha nombramiento definitivo: 1985	Teléfono oficina: 2976300	
Horas de dedicación al proyecto: 70 h/semestre	Ext. EPN: 42 Correo electrónico: patricio.castillo@epn.edu.ec	
Formación de pregrado y postgrado		
Títulos	Fecha	Institución / Universidad/País
Ingeniero Químico	29 – 12 – 1983	Escuela Politécnica Nacional / Ecuador
Maestría en Química Orgánica	22 – 03 – 1999	Universidad de La Habana / Cuba
Doctor en Ciencias de Cuarto Nivel (Ph.D.)	31 – 07 – 2013	Escuela Politécnica Nacional / Ecuador

3	Objetivos, hipótesis y resultados esperados de esta propuesta de investigación
	<p>- Objetivos</p> <p>1. Objetivo General Estudiar el efecto del proceso de irradiación de plumas de pollo, con electrones acelerados, sobre la extracción de queratina hidrolizada.</p> <p>2. Objetivos Específicos</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Obtener una muestra representativa de plumas de pollo de una explotación avícola. 2. Definir un procedimiento de limpieza de las plumas, en función de las impurezas que contengan. 3. Definir los valores de las variables de diseño que se van a probar en los procesos de extracción de queratina e irradiación de las plumas, mediante pruebas preliminares. 4. Determinar las mejores condiciones para la extracción de queratina hidrolizada a partir de plumas no irradiadas mediante el método de sulfuro de sodio. 5. Determinar la dosis de radiación de las plumas que permita obtener el mayor rendimiento en la extracción de queratina hidrolizada, a las mejores condiciones de extracción. 6. Caracterizar física, química y microbiológicamente el extracto de queratina hidrolizada obtenido bajo las mejores condiciones determinadas experimentalmente. <p>- Hipótesis</p> <p>El rendimiento del proceso de extracción de queratina hidrolizada a partir de plumas de pollo irradiadas con electrones acelerados a una dosis adecuada es significativamente mayor que el rendimiento del mismo proceso a partir de plumas no irradiadas.</p> <p>- Resultados esperados</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Muestra representativa de plumas de pollo de una explotación avícola. 2. Procedimiento para la limpieza de las plumas de pollo. 3. Valores de las variables de diseño que se van a probar en los procesos de extracción de queratina e irradiación de las plumas.

4. Condiciones de temperatura y concentración de Na₂S durante la extracción de queratina hidrolizada mediante el método del sulfuro de sodio que permiten tener un mejor rendimiento.
5. Dosis de radiación de las plumas en el acelerador de electrones que incrementan el rendimiento del proceso de extracción.
6. Características físicas, químicas y microbiológicas del extracto de queratina obtenido bajo las mejores condiciones determinadas experimentalmente.

- **Productos esperados**

1. Proyecto de titulación presentado por un estudiante de pregrado de la FIQA.
2. Artículo científico publicado en una revista indexada.
3. Conferencia o poster presentado en un congreso nacional o internacional.

- **Potenciales Usuarios**

Empresas avícolas, municipios y gestores ambientales del país.

4 Relevancia de esta propuesta de investigación con los objetivos científicos del departamento y su Línea de Investigación

La queratina es una proteína que se presenta en forma de microfibrillas y está compuesta por aminoácidos ricos en azufre. La alfa-queratina, rica en cisteína, contiene entre un 15 y 18% de azufre, mientras que la beta-queratina, que contiene cistina, presenta entre un 2 y 4 % de azufre. El alto contenido de azufre hace que la queratina sea una de las proteínas más resistentes a la hidrólisis enzimática y a los agentes disolventes comunes (Goddard y Michaelis, 1934, p. 661).

La queratina es una proteína estructural presente en todos los vertebrados que forma parte del pelo, la piel, el cuero, la lana, las garras, las pezuñas, los cuernos, las escamas, entre otros. Constituye el 90 % del peso total de las plumas de pollo, que son uno de los desechos más voluminosos y contaminantes producidos por las empresas avícolas (Gupta, Binti, Gek y Mohd, 2012, p. 736). Para el año 2006, en el país existían 1 547 plantas avícolas, con una capacidad instalada que bordeaba los 28 millones de pollos (TLC REYCO, 2006, p. 6). Las pequeñas y medianas avícolas no han desarrollado un plan para dar valor agregado a las plumas y, por tanto, únicamente las desechan. Una avícola con producción diaria de 5 000 pollos desecha alrededor de 800 kg de plumas cada día. Este es un problema sanitario, puesto que las escombreras se llenan rápidamente con estos desechos que no se degradan rápidamente.

Una alternativa para el aprovechamiento de las plumas desechadas consiste en la extracción de queratina hidrolizada, mediante técnicas de disolución con agentes específicos o a través de degradación microbiana (De Macedo, Segura, Piñero y Coello, 2002, p. 219).

La queratina puede ser solubilizada mediante su reacción con sulfuro de sodio, cianuro de potasio y/o ácido tioglicólico, en un medio alcalino. El efecto principal de esta reacción es la ruptura de los grupos disulfuro, que son esenciales para el mantenimiento de la estructura fibrosa de la queratina. En la queratina, los enlaces entre las cadenas peptídicas son de dos tipos: puentes disulfuro y puentes formados por la atracción electrostática entre los grupos NH₃⁺ y el grupo COO⁻ de los aminoácidos di-carboxílicos. Algunos autores creen que es necesario romper estos últimos enlaces antes de que los puentes disulfuro puedan ser reducidos (Goddard y Michaelis, 1934, p. 612).

Las sustancias obtenidas son polipéptidos solubles en ácidos o álcalis, y digeribles con pepsina y tripsina. Los puentes disulfuro pueden volver a formarse por oxidación mediante la adición de peróxido de hidrógeno, en condiciones alcalinas. Sin embargo, el patrón cristalino de la queratina no se restituye, debido a que los enlaces disulfuro no se forman de la misma manera entre las dos cadenas polipeptídicas paralelas que forman esta proteína (Goddard y Michaelis, 1934, p. 612).

Los hidrolizados de queratina pueden proveer protección y cuidado al cabello porque son capaces de penetrar la corteza de la fibra capilar y promover el recubrimiento del cabello (Vázquez et al, 2013, pp. 7-8).

	<p>En el campo de la remediación ambiental y nanotecnología, la queratina tiene aplicaciones prometedoras. Los grupos amino y carboxilo de la queratina tienen afinidad por los metales y, por tanto esta proteína es capaz de extraerlos. La queratina presenta una mayor afinidad por el cobre y el uranio (Martínez y Velasco, 2012, p. 206; García, Ramírez y Manzano, 2003, p. 200).</p> <p>Los hidrolizados de queratina también pueden ser usados como estimulantes del crecimiento de animales de granja (Mokrejs, Svoboda, Hrnčíř, Janáčková y Vásek, 2010, p. 84). Tradicionalmente, los granjeros aplicaban vapor presurizado para obtener un hidrolizado de queratina a partir de las plumas, el cual empleaban como alimento para rumiantes. Sin embargo, este proceso no permite obtener un alimento de gran calidad, puesto que la alteración de la estructura proteica con vapor no genera un producto fácilmente digerible. Además, el uso de los hidrolizados de proteína animal o las harinas han sido restringidos en la Unión Europea, debido al temor existente relacionado con el mal de las vacas locas, la propagación de pestes y el riesgo de la presencia de aflatoxina (Deocaris, De Vera, Ellana y Asaad, 2003, p. 86; Mokrejs et al., 2010, p. 266).</p> <p>La radiólisis constituye una alternativa a la hidrólisis de las proteínas con vapor. Las mayores ventajas son que permite un control de pestes, una descontaminación microbiana y una disminución del riesgo de la presencia de micotoxinas. Adicionalmente, la irradiación de plumas a una dosis de 25 kGy permite obtener un alimento más fácilmente digerible que el hidrolizado común, producido por vapor (Deocaris et al., 2003, p. 86).</p> <p>Esta investigación sería la primera en estudiar la influencia de la irradiación de las plumas en un acelerador de electrones (radiación beta) sobre el proceso de extracción de queratina. El análisis de estos resultados podría permitir la aplicación de este método en plantas de extracción de queratina a partir de plumas de pollo, que son desechos liberados diariamente en altas cantidades.</p> <p>El proyecto propuesto se relaciona con la línea de investigación del Departamento de Ciencias Nucleares: "Aplicaciones de aceleradores de partículas", dentro del área: "Tecnología Nuclear", ya que se plantea el uso de la radiación ionizante del Acelerador de Electrones como alternativa para mejorar el rendimiento de la extracción de queratina por el método del sulfuro de sodio.</p>
<p>5</p>	<p>Descripción del proyecto, metodología, cronograma de trabajo y justificación del equipo requerido</p>
	<p>- Descripción del proyecto</p> <p>El proyecto busca comprobar si la irradiación de plumas incrementa el rendimiento de la extracción de queratina hidrolizada a partir de ellas, mediante el método del sulfuro de sodio, el cual es comúnmente utilizado para este fin. En la actualidad, las plumas constituyen un producto de desecho en la mayoría de planteles avícolas, de modo que es una materia prima de bajo o ningún costo, mientras que el producto a obtenerse, la queratina hidrolizada, posee un valor agregado y varias aplicaciones industriales.</p> <p>En primer lugar, se obtendrá una muestra de plumas representativa de una explotación avícola, tal como se generan luego del faenamiento; es decir, en las mismas circunstancias en las que se receptorían en una industria productora de queratina hidrolizada. A continuación, se establecerá un procedimiento para remover todo material extraño a las plumas que pueda interferir en los procesos posteriores, como por ejemplo residuos de sangre, grasa, sangre o tierra.</p> <p>Se llevarán a cabo ensayos previos que permitan definir los valores de las variables que se van a probar en los procesos de extracción y de irradiación: concentración de sulfuro de sodio, temperatura y dosis de radiación. El objetivo es poder plantear diseños experimentales con un número adecuado de tratamientos y repeticiones.</p> <p>Posteriormente, se llevarán a cabo experimentos para definir las condiciones de operación durante la extracción de queratina hidrolizada por el método del sulfuro de sodio que generen los mayores rendimientos. Se utilizarán plumas secas y molidas, con el objetivo de facilitar la extracción.</p>

Luego, se procederá a identificar la dosis de radiación que incrementa, en mayor proporción, el rendimiento de queratina hidrolizada, bajo las condiciones de operación seleccionadas en el paso previo. Este proceso se llevará a cabo en el acelerador de electrones del Departamento de Ciencias Nucleares.

Por último, se caracterizará física, química y microbiológicamente el producto obtenido, con el fin de estimar los beneficios del proceso de irradiación y determinar los usos industriales que podría tener la queratina hidrolizada.

- Metodología y diseño de la investigación

En primer lugar, se realizará un muestreo para obtener una muestra representativa de las plumas generadas por la actividad de un plantel avícola ubicada en el norte de Quito. Se considerarán el número de galpones, la cantidad de pollos, las edades y razas que se manejen en dicho lugar, de modo que se tomen submuestras aleatorias de cada grupo, para luego combinarlas y formar una muestra compuesta.

Para establecer el proceso de remoción de los contaminantes presentes, se compararán un lavado con agua caliente y jabón y un proceso combinado de inmersión en éter etílico y lavado con agua y jabón. Si se encuentra que no existe una diferencia considerable entre los dos tratamientos, se elegirá el primero, puesto que representaría una disminución del costo del proceso y reduciría el grado de contaminación del efluente liberado (Gupta et al., 2012, p. 734). Los criterios de remoción a evaluar serán la presencia visual de sangre, grasa y malos olores (Salazar, 2013, p. 41).

A continuación, se secarán las plumas a 50° C durante 48 h y después se reducirá el tamaño de las mismas en un molino de cuchillas (Salazar, 2013, pp. 42-43).

La disolución de las plumas se llevará a cabo mediante el método del sulfuro de sodio que, de acuerdo con Gupta et al., es el que ha presentado mejores resultados. Se realizarán pruebas preliminares para determinar el volumen de sulfuro de sodio a usar para disolver 5 g de plumas. Luego, mediante un diseño factorial se determinarán las mejores condiciones de concentración y temperatura para la extracción. Los rangos de trabajo corresponderán a concentraciones entre 0,25 y 0,70 M de la solución de sulfuro de sodio y temperaturas entre 18 y 30° C (Gupta et al., 2012, p. 736).

Cuando se hayan definido las mejores condiciones de extracción, se procederá a evaluar el efecto de la radiación sobre el rendimiento de queratina hidrolizada, mediante un diseño completamente al azar. Las dosis de radiación a emplear estarán en el rango entre 10 y 25 kGy (Deocaris et al., 2003, p. 86). Complementariamente, se realizará un análisis FTIR o EPR, según la disponibilidad de los equipos, para estudiar las modificaciones estructurales producidas sobre las plumas (Gupta et al., 2012, p. 734; Strzelczak, Sterniczuk, Sadlo, Kowalska y Michalik, 2013, p. 509).

Una vez disueltas las plumas, se realizará una filtración al vacío y se añadirán 2,5 mL de una solución de H₂O₂. Este proceso de oxidación durará 50 min y se llevará a cabo a temperatura ambiente. El pH se reducirá hasta 4,8 con una solución al 20 % v/v de H₂SO₄, se decantará y se filtrará con el objetivo de separar los sólidos precipitados. Luego, se neutralizará el filtrado con una solución 2,5 M de NaOH. Se decantará y se filtrará nuevamente el producto obtenido (Salazar, 2013, p. 42, 43).

La caracterización del extracto de queratina incluirá la evaluación del color, olor, composición y contenido microbiano. La evaluación requerirá del uso de técnicas espectrofotométricas (Sánchez, 1998, p. 29); el olor será estimado mediante un análisis sensorial. La cuantificación de la proteína en el extracto obtenido se llevará a cabo por el método de Biuret (Gupta, et al., 2012, p. 736). Además, será necesario detectar la presencia de sales de sodio, principalmente sulfato de sodio, puesto que el método propuesto usa ácido sulfúrico y sosa caustica para regular el pH. Se realizará un análisis FTIR para conocer los componentes del extracto (Skoog, Holler, Nieman, p. 227), y se realizará un análisis de AA para cuantificar el sodio presente en el extracto y expresarlo como sus sales (Skoog, Holler, Nieman, 2001, p. 427). Los ensayos microbianos a realizar corresponden a la determinación de salmonella (De Macedo, Segura, Piñero y Coello, 2002, p. 216).

Referencias bibliográficas:

1. De Macedo M., Segura R., Piñero J. y Coello, N. (2002), Obtención de un hidrolizado proteico por fermentación sumergida de plumas utilizando *Bacillus spp.* FCV-Luz, 12(3), 214-220. Recuperado de <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/27623/2/articulo10.pdf> (Mayo, 2014)
2. Deocarís C., De Vera A., Ellana M. y Asaad C. (2003). In vitro gas production tests on irradiated-chicken feathers to estimate its nutritive value as feed for ruminants. *Philippine Journal of Science*, 132(2). 83-87. Recuperado de: <http://philjournalsci.dost.gov.ph/vol132no2/pdf/in%20vitro%20gas%20productin%20tests%20on%20irradiated%20chicken%20feathers.pdf> (Mayo, 2014)
3. Goddard D. y Michaelis E. (1934), A study of keratin, *Journal of Biological Chemistry*, 106(1) Recuperado de: <http://www.jbc.org/by> (Mayo, 2014)
4. García M., Ramírez F. y Manzano T. (2003). Bioadsorción de metales pesados de aguas ácidas de minas (y II) Sobre residuos con queratina (Pelos de cerdo, pluma de ave) y quitina (caparazones de crustáceos). Recuperado de: <http://www.inese.es/html/files/pdf/amb/iq/402/12ARTICULOMAY.pdf> (Mayo, 2014)
5. Gupta A., Binti N., Gek, C. y Mohd, R. (2012). Extraction of Keratin protein from chicken Feather, *Chem. Eng.*, 6(1). 732-737.
6. Mokrejs, P., Svoboda, P., Hrnčirik, J., Janacova, D. y Vasek, V. (2011). Processing poultry feathers into keratin hydrolysate through alkaline-enzymatic hydrolysis. *Waste Management & Research*, 29(3), 260-269. doi: 10.1177/0734242X10370378
7. Martínez, A. y Velasco C. (2012). Keratin fibers from chicken feathers: Structure and Advances in polymer composites. Recuperado de: https://www.novapublishers.com/catalog/product_info.php?products_id=32840&osCsid=0cb997369f0ca701f925dc2d1421b6f7 (Mayo, 2014)
8. Salazar, M. (2013), Determinación del método para la obtención de queratina cosmética a partir de plumas gallináceas. (Trabajo de investigación para optar por el grado de Química-Farmacéutica). Recuperado del repositorio digital de la UCE. (T-UCE-0008-10.pdf)
9. Sánchez, J., (1999). La espectrofotometría UV-VIS aplicada al estudio del color y estabilidad en morteros coloreados. *Materiales de construcción*, 49(254). 17-29.
10. Skoog, D., Holler, J. y Nieman, T. (2001). Principios de Análisis Instrumental, (5ta. Ed.). Madrid, España: McGraw Hill/Interamericana de España.
11. Strzelczak G., Sterniczuk M., Sadlo J., Kowalska M. y Michalik J. (2013). EPR study of γ -irradiated feather keratin and human fingernails concerning retrospective-dose assessment. *Nukleonika* 58(4). 505-509. Recuperado de: http://www.nukleonika.pl/www/back/full/vol58_2013/v58n4p505f.pdf (Mayo, 2014)
12. TLC-REYCO. (2006). Censo Avícola Ecuatoriano Geo-referenciado. Resultados e Informe Final. Recuperado de: http://geoportal.magap.gob.ec/geonetwork/srv/eng/resources.get?id=7&fname=censo_avicola.pdf&access=private (Mayo, 2014)
13. Vázquez A., Senra M., Pereira E., Mazotto A., Zingali R., Paraguai E. y Vermelho A. (2013). Feather Keratin hydrolysates obtained from microbial Keratinases: effect on hair fiber. Recuperado de: <http://www.biomedcentral.com/1472-650/13/15> (Mayo, 2014)

Cronograma de trabajo anual

No.	Actividad	Meses									
		1-2	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12				
1	Adquisición de materiales y equipos	■	■								
2	Obtención de una muestra de plumas representativa de una explotación avícola		■								
3	Definición del procedimiento de limpieza de las plumas			■							
4	Realización de ensayos preliminares para definir los valores de las variables de diseño.				■						
5	Determinación de las mejores condiciones de extracción de queratina hidrolizada mediante el método del sulfuro de sodio.					■	■				
6	Determinación de la influencia de la irradiación de las plumas sobre el rendimiento en la extracción de queratina hidrolizada.						■	■			
7	Caracterización física, química y microbiológica del extracto de queratina hidrolizada obtenido.								■	■	
8	Redacción de informes finales.									■	■

- Justificación de los equipos requeridos

Es indispensable un pHmetro portátil para la regulación de pH durante el proceso de extracción de queratina. Además se requiere de agitadores magnéticos con plancha de calentamiento para el proceso de extracción de la queratina.

6 Fecha de inicio

15 de Enero de 2015

7 Tiempo de dedicación docentes, infraestructura, equipamientos y fondos adicionales

- Tiempos de dedicación semestral del director del proyecto, de los docentes participantes y otros colaboradores.
Director: 100 h por semestre
Colaborador: 50 h por semestre
- Infraestructura y equipos disponibles para la ejecución del proyecto
Acelerador lineal de electrones (DCN-EPN)
Espectrofotómetro Hitachi 1900 (DCN-EPN)
Balanza analítica Denver (DCN-EPN)
Espectrofotómetro infrarrojo de transformada de Fourier (CIAP-EPN)
Espectroscopio de absorción atómica (DEMEX-EPN)
Laboratorio de análisis microbiológico (DECAB-EPN)
Molino de cuchillas (DIQ-EPN)

8	Presupuesto estimado para la ejecución del presente proyecto	
	Lista de ítems (por favor especifique)	Cantidad solicitada (US \$)
	1. Equipos:	
	pHmetro portátil Accumet	1 176,00
	Agitador magnético con plancha de calentamiento de 17x17 cm (2)	1 187,20
	Subtotal	2 363,20
	2. Reactivos y materiales de laboratorio:	
	Sulfuro de sodio (2 kg)	500,00
	Celda de cuarzo de 4 mL (2)	448,00
	Pipeta automática de 100 µL	271,04
Pipeta automática de 1000 µL	271,04	
Puntas desechables para pipeta de 1-100 µL (1000)	60,48	
Puntas desechables para pipeta de 101-1000 µL (1000)	60,48	
Barra agitadora magnética de 5cm de largo (5)	33,6	
Subtotal	1 644,64	
TOTAL (hasta US\$ 5 000,00)	4 007,84	
9	Firma del aplicante	Lugar y Fecha
	 Nombre: Ing. Marco Vinicio Sinche Serra, M.Sc. CC: 171956782-6	Quito, 13 de enero de 2015
DECLARACION DEL JEFE DE DEPARTAMENTO		
Esta propuesta ha sido aprobada por el Consejo del Departamento de Ciencias Nucleares, en sesión ordinaria del 13 de enero de 2015 mediante Resolución No. 03-15 y las instalaciones, incluyendo personal, edificios, equipo y recursos financieros están a disposición del aplicante de acuerdo con las especificaciones que se encuentran en esta aplicación.		
 JEFE DEL DEPARTAMENTO Nombre: Dra. Florinella Muñoz B. CC: 170458202-0		Quito, 13 de enero de 2015