



Universidad Tecnológica del Centro de Veracruz



Reporte Final de Estadía

Galileo Bonilla Nepomuceno

Implementación de análisis bromatológicos
(grasas totales, cenizas, humedad y fibra cruda)
en la empresa Alimentos Tenerife

**Programa Educativo de Ingeniería en Procesos
Bioalimentarios**

Proyecto de estadía realizado en:

Fabricación de Alimentos Tenerife S.A. de C.V.

Nombre del Proyecto:

**Implementación de análisis bromatológicos (grasas
totales, cenizas, humedad y fibra cruda) en la empresa
Alimentos Tenerife**

Nombre del Asesor Industrial:

MCIQ. Nereyda Grisel Corte Cano

Nombre del Asesor Académico

MC. Ismael Alatraste Pérez

Nombre del Alumno:

Galileo Bonilla Nepomuceno

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUCCIÓN	3
1.1 ANTECEDENTES	4
1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	7
1.3 OBJETIVO GENERAL Y ESPECÍFICOS	8
• Objetivo general:	8
• Objetivos específicos	8
2. MARCO TEÓRICO	9
3. METODOLOGÍA	11
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	14
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	22
6. REFERENCIAS	23
ANEXOS	25

ÍNDICE DE TABLAS

No. tabla	Descripción	Página
1	Corresponde a los resultados de la determinación de grasas totales	14
2	Muestra los resultados de la determinación de humedad	15
3	Muestra los resultados obtenidos de la determinación de fibra cruda	16
4	Muestra los resultados obtenidos de la determinación de cenizas totales	17
5	Muestra el resumen obtenido a partir del análisis ANOVA de la determinación de humedad.	18
6	Muestra los resultados obtenidos a partir del análisis ANOVA a los datos de humedad	18
7	Muestra el resumen obtenido a partir del análisis ANOVA de la determinación de grasas totales.	19
8	Muestra los resultados del análisis ANOVA de los datos obtenido de la determinación de Grasa	19
9	Muestra el resumen del análisis ANOVA de la determinación de fibra cruda	20
10	Muestra los resultados del análisis ANOVA de los datos obtenidos de la determinación de fibra cruda	20
11	Muestra el resumen del análisis ANOVA de la determinación de cenizas	21
12	Resultados obtenidos a partir del análisis ANOVA de los datos obtenidos de la determinación de cenizas	21

RESUMEN

Con el presente trabajo se implementaron los métodos de humedad, grasas totales, fibra cruda y cenizas de la AOAC para aplicarlas en el suplemento para ganado ALTEN 60 de la empresa Alimento Tenerife S.A. de C.V. Para ello se necesitaron de tres etapas principalmente, planeación: donde se realizó una recopilación bibliográfica a partir de normas y trabajos de investigación que fundamentaran sus métodos en AOAC y se planearon las requisiciones correspondientes de reactivos y materiales de cada determinación. Ejecución: en esta etapa se adaptaron los equipos disponibles en el área de investigación de Alimentos Tenerife, también se elaboró un manual práctico donde se describen detalladamente las metodologías correspondientes a las determinaciones antes mencionadas, también se propusieron formatos para el registro de los resultados obtenidos, posteriormente se procedió a la ejecución de los métodos para la obtención de resultados. Evaluación: Los resultados obtenidos fueron sometidos a un análisis ANOVA donde se comprobó la efectividad de la implementación de los métodos anteriormente mencionados, también se evaluó la influencia del tiempo de almacenamiento de la muestra con respecto a los resultados y se llegó a la conclusión de que el tiempo de almacenamiento de la muestra no influye directamente en los resultados obtenidos a partir de la determinación de grasas totales, fibra cruda y cenizas, mientras que en la determinación de humedad este factor influye en los resultados, también se concluyó que los resultados obtenidos de una misma muestra en una sola corrida no muestran una variabilidad significativa comparándolos con los límites de variación que establece cada método, por lo tanto la implementación de cada método fue eficaz. Una recomendación establecida fue que en la determinación de humedad la muestra debe ser tomada en el mismo tiempo en el que se realizará la determinación.

ABSTRACT

With the present work we tried to implement the methods of humidity, total fat, crude fiber and ash of the AOAC to apply them in the supplement for livestock ALTEN 60 of the company Alimentos Tenerife S.A. de C.V .; For this it was necessary of three stages mainly, planning: where a bibliographical collection was made from norms and research works that based their methods in AOAC and the corresponding requisitions of reagents and materials of each determination were planned; Execution: in this stage the equipment available in the research area of Alimentos Tenerife was adapted, a practical manual was also elaborated which describes in detail the methodologies corresponding to the aforementioned determinations, also proposed formats for the recording of the obtained results, The methods for obtaining results were subsequently implemented; Evaluation: The results obtained were subjected to ANOVA analysis where the effectiveness of the implementation of the above mentioned methods was verified, the influence of the storage time of the sample with respect to the results was also evaluated and it was concluded that The storage time of the sample does not directly influence the results obtained from the determination of total Fat, crude fiber and ash, whereas in the determination of humidity this factor influences the results, it was also concluded that the results obtained from The same sample in a single run did not show a significant variability comparing them with the limits of variation that establish each method, therefore the implementation of each method was effective. An established recommendation was that in the determination of moisture the sample should be taken at the same time in which the determination will be made.

1. INTRODUCCIÓN

AOAC internacional es una asociación reconocida a nivel mundial sin fines de lucro, las normas de la AOAC se utilizan a nivel mundial para promover el comercio y facilitar la salud y la seguridad pública. (AOAC internacional, s/f) Alimentos Tenerife es una empresa dedicada a la producción de etanol y a otros sub-productos como respuesta a la demanda que exige el mercado, dentro de la industria es de vital importancia la innovación y la reducción de mermas por lo que es necesario la implementación de subproductos tal como ALTEN 60, este es un suplemento para ganado y como todos los productos requiere análisis para asegurar su calidad nutritiva a los consumidores; dichos análisis deben estar fundamentados en metodologías oficiales tales como, los métodos de la AOAC y es por ello que el presente trabajo busca implementar las técnicas correspondientes a los métodos de humedad, grasa, fibra cruda y cenizas bajo los lineamientos que establece AOAC.

1.1 ANTECEDENTES

Grupo Báltico es un grupo Holding que nace del fondo de inversión con Banco Santander, y que tiene participación en el Sector Agrícola, Industrial, de transformación y comercialización de Bioenergéticas; 1970 Todo inicia con la destilación artesanal de agave 100% mexicano en las localidades de Matatlán, Oaxaca, y Tehuacán, Puebla; 2003 Instala su primera planta etanolera en la ciudad Orizaba, Veracruz capacidad instalada de 120 mil litros diarios; 2006 Se consolida una nueva planta etanolera en la localidad de Tuxtepec, Oaxaca “Compañía Energética San Juan”, la primera y la más grande planta productora de etanol en el país a base de jugo de caña de azúcar con una capacidad de producción de 250 mil litros diarios de etanol; 2008 Grupo Báltico Industrial se encuentra posicionado con presencias en los estados de Puebla, Veracruz, Oaxaca y Chiapas; 2009 Se realiza una importante inversión en la ciudad de Orizaba, Veracruz para instalar la primera planta productora de etanol base de grano de Sorgo, la cual hasta ahora la única de su tipo en México; 2011 Se desarrolla el proyecto “Parque Industrial Encrucijada”, en donde se apertura la integración a socios de negocio externos y con el objetivo de formar una central de almacenamiento y distribución con capacidad suficiente y competir en mercados alejados de las plantas industriales instaladas; 2012 Planta Industrial de Alimentos Tenerife gracias a la combinación de tecnología brasileña e hindú en sus instalaciones, se consolida como la empresa más importante del Grupo; 2013 Innovación sustentable es el slogan del Grupo Báltico en el 2013, donde ha logrado desarrollar sistemas de ahorro de energía, sistemas de recirculación de materiales, e desarrollo de tecnologías y productos que le permiten realizar un aprovechamiento sustentable de todos los recursos; 2014 Año de la consolidación de Grupo Báltico Industrial a través de la colaboración entre socios comerciales, empresas y persona. (Báltico, 2014)

ALIMENTOS TENERIFE.

Innovación sustentable es el slogan que representa Alimentos Tenerife en el año 2014, mención que busca representar la preocupación de la empresa por mantener y mejorar las condiciones operativas, ambientales y del recurso humano que a constituye.

- **MISIÓN**

Ofrecer productos de calidad aumentando el valor agregado a nuestros clientes y proveedores apoyando a nuestros empleados a formar equipos de trabajo auto dirigidos, productivos y comprometidos con el crecimiento personal y el de nuestra empresa.

- **VISIÓN 2020**

Ser una empresa internacional, líder en el mercado de transformación y comercialización de proteína concentrada, complemento alimenticio y bioenergía, reactivando la producción agrícola y empleando la tecnología de innovación en nuestros procesos.

- **POLÍTICA DE CALIDAD**

Tenemos el compromiso de satisfacer los requerimientos y expectativas de los clientes, por medio de la mejora continua de nuestros servicios, productos y procesos, fomentando el desarrollo de los colaboradores mediante los principios de Respeto, Innovación y Lealtad.

- **OBJETIVOS**

- Fomentar el desarrollo Agropecuario.
- Desarrollo de nuestros Colaboradores
- Compromiso responsable con nuestro Entorno.
- Certidumbre a nuestros Accionistas e Inversionistas.

ALTEN 60.

ALTEN 60 por su alto contenido de minerales favorece a los procesos de digestibilidad de los nutrientes y disminuye las secreciones de metano en las excretas, aportando así a disminuir la mancha del carbono del corral de engorda; ALTEN 60 es un suplemento nutritivo de consumo animal, derivado de la desacarificación de mieles de caña de azúcar a partir de un proceso biológico por la acción de las levaduras que aportan nutrientes tales como: Proteínas, vitaminas, minerales y aminoácidos. (Báltico, 2014)

USOS DE ALTEN 60

Aglutinante natural a 60 grados Brix para dietas secas; se aplica en todas las especies; Se recomienda para la preparación de silos de maíz o sorgo; se puede aplicar al agua de bebida para cerdos y aves en caso de stress.

Beneficios.

Es un producto de bajo costo y de fácil disponibilidad; por sus características organolépticas (olor, sabor) estimula el consumo del alimento; funciona para problemas reproductivos; ALTEN 60 presenta un importante contenido de fosforo, haciendo así optimo el desarrollo celular, manteniendo la presión osmótica y el equilibrio del ácido básico; Ayuda en la formación de fosfolípidos para la formación de proteínas y vitaminas e interviene en el transporte de ácidos grasos; ALTEN 60 aporta un alto nivel de carbohidratos y aminoácidos como metionina, cisteína, cistina, lisina, esenciales para la transformación de proteína; Para las concentraciones de lisina que aporta el ALTEN 60 a la ración, se requiere un menor contenido de proteína cruda, dando como resultados, un mejor costo en la producción. (Báltico, 2014)

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Normas de la AOAC se utilizan a nivel mundial para promover el comercio y facilitar la salud y la seguridad pública. AOAC desarrolla métodos analíticos para un amplio espectro de intereses de seguridad, incluyendo alimentos y bebidas. (AOAC, s/f)

Alimentos Tenerife es una empresa dedicada a la producción de etanol y a otros subproductos como respuesta a la demanda que exige el mercado, dentro de la industria es de vital importancia la innovación y la reducción de mermas por lo que es necesario la implementación de subproductos tal como ALTEN 60, que es un suplemento nutritivo de consumo animal derivado de la desacarificación de mieles de caña de azúcar a partir de un proceso biológico por acción de levaduras, las cuales dan un importante aporte nutritivo como proteínas, vitaminas minerales y aminoácidos. (Grupo Báltico, 2014)

Estos subproductos tienen que ser regulados de acuerdo a las normas aplicables para asegurar su calidad nutritiva, dichas normas son disposiciones generales de tipo técnicas que son expedidas por dependencias federales con el objetivo de establecer reglas, especificaciones, directrices y características aplicables a un producto, proceso o servicio. Estas normas son cambiantes, esto dependerá de la región a donde se desee comercializar el producto, en el extranjero algunas normas tienen especificaciones y técnicas de análisis más rigurosas por lo que es necesario adaptarse a sus procedimientos.

Es por ello que Alimentos Tenerife a través del presente trabajo busca implementar normas que corresponden a determinaciones bromatológicas de grasas, cenizas, humedad y fibra cruda en el laboratorio del área de investigación de acuerdo a los lineamientos establecidos por la AOAC.

1.3 OBJETIVO GENERAL Y ESPECÍFICOS

- Objetivo general:
 - Implementar análisis bromatológicos de humedad, cenizas, grasas totales y fibra cruda de acuerdo a los métodos de AOAC en la empresa Alimentos Tenerife.
- Objetivos específicos
 - Aplicar las metodologías de la AOAC humedad, cenizas, grasas totales y fibra cruda.
 - Evaluar los resultados obtenidos mediante un análisis de datos para la realización de mejoras en los métodos aplicados.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 ANÁLISIS BROMATOLÓGICOS.

Los análisis químicos de los alimentos comprenden métodos de análisis básicos que permiten identificar la cantidad de nutrientes que compone un alimento, como son humedad, cenizas, grasa, proteína, fibra cruda. La práctica de estos métodos varía según el alimento a analizar. (Alba, 2006)

2.2. HUMEDAD

Existe varios métodos para determinar el contenido d humedad en alimentos, sin embargo, la mayoría de los métodos por secado dan resultados óptimos si se sigue con cuidado la metodología. Estos métodos incluyen la determinación de la pérdida de peso debido a la evaporización de agua en el punto de ebullición o temperaturas cercanas a él. El método se basa en una determinación gravimétrica en la que se determina la diferencia de pesos obtenidos en una muestra antes y después de secarlas a una temperatura constante. (Alba, 2006)

2.3. GRASAS

Los lípidos son grupos de compuestos constituidos por carbono, hidrógeno y oxígeno que integran cadenas hidrocarbonadas alifáticas o aromáticas, aunque también contienen fósforo y nitrógeno. Desempeñan muchas funciones en los tejidos, además de que son la fuente energética más importante, ya que cada gramo genera 9 kcal (38.2 kJ) porque en su estructura contienen más átomos de carbono que las proteínas y los hidratos de carbono que producen 4 kcal/g (17 kJ/g) cada uno. (Badui, 2006)

2.4. FIBRA

La fibra está constituida por los componentes estructurales de las paredes celulares de los vegetales, entre los que destacan la celulosa, la hemicelulosa y las pectinas; también se incluye entre estos compuestos la lignina que, aun cuando no es un hidrato de carbono, sino más bien una cadena de compuestos fenólicos como la vanillina, el aldehído siríngico y los alcoholes coniferílico, sinapílico y cumarílico.

Celulosa: Es el polisacárido estructural de todo el reino vegetal; a diferencia de los animales monogástricos como el hombre, los herbívoros son los únicos capaces de aprovechar la celulosa en su metabolismo, pues cuentan con las correspondientes enzimas celulosas en el tracto gastrointestinal; por otra parte, la celulosa puede ser hidrolizada a residuos de D-glucosa por la acción de ácidos como el sulfúrico y el clorhídrico a una temperatura de más de 125°C; **Hemilcelulosa:** es un grupo muy extenso de polisacáridos con diversos tipos de monómeros (heteropolisacáridos) que se localizan principalmente en la pared celular, y que son muy distintos a la celulosa o al almidón. Generalmente son solubles en soluciones alcalinas concentradas (18 a 24% de los hidróxidos de sodio o de potasio). **Pectinas:** Las sustancias pécticas comprenden un extenso grupo de heteropolisacáridos vegetales cuya estructura básica está integrada por moléculas de ácido D-galacturónico, unidas por enlaces glucosídicos α -D-(1,4), en la cual algunos de los carboxilos pueden estar esterificados con metilos o en forma de sal.³⁷ Las pectinas se encuentran asociadas con otros hidratos de carbono, principalmente con hemicelulosas, en las paredes celulares de los vegetales, y son responsables de la firmeza de algunos productos (Badui, 2006).

2.5. CENIZAS

La ceniza de un alimento es el residuo inorgánico que queda después de quemar la materia orgánica. El valor de cenizas se puede considerar como un criterio útil para la identificación de la autenticidad de un alimento ya que se puede detectar la presencia de adulterantes. Su determinación consiste en llevar la muestra a una carbonización para después realizar la incineración en la mufla. El total de cenizas se obtiene por diferencia de peso. (Alba, 2006)

3. METODOLOGÍA

3.1. PLANEACIÓN

Se realizó una recopilación bibliográfica de cada método a partir de normas y trabajos de investigación basados en los métodos AOAC; estos métodos fueron analizados e interpretados para realizar las requisiciones de reactivos y materiales correspondientes a cada determinación.

Se realizó un plan de actividades de acuerdo al tiempo estimado en el que los reactivos y materiales estarían disponibles para la ejecución de cada método.

3.2. EJECUCIÓN

Se realizó un manual donde se describen las metodologías correspondientes a los métodos de grasa, fibra cruda, humedad y cenizas para su aplicación al suplemento para ganado ALTEN 60 el cual se encuentra detallado en el **anexo 1** también se propusieron formatos de registros para registrar los resultados y parámetros requeridos en cada determinación y se encuentran detallados en el mismo anexo.

Los equipos se instalaron de acuerdo a los manuales del fabricante y se hicieron adaptaciones para su correcto uso.

Determinación de humedad.

El método AOAC se basa en la determinación gravimétrica de pérdida de masa de la muestra hasta que alcanza una masa constante en la estufa de aire.

Se pesaron 3 gramos de muestra la cual fue secada en una estufa de aire caliente, durante tres horas a 105 °C, posteriormente se enfrió en un desecador para poder pesarla y registrar el resultado.

Determinación de grasa

El método (920.29) AOAC se basa en la extracción del extracto etéreo o grasa bruta de una muestra seca para evitar la coextracción de componentes solubles en agua en la muestra.

Las muestras fueron obtenidas a partir del residuo de la determinación de humedad, fueron molidas y pesadas hasta aproximadamente obtener 2 gramos de muestra, la extracción se realizó en un aparato de extracción GOLDFICH modelo 35000100 de la marca LABCONCO, donde la muestra fue colocada en un dedal sujeto a un portadedal de vidrio; en el vaso de extracción fue previamente secado hasta peso constante y pesado, posteriormente se agregaron 35 ml de hexano para mantener un reflujo rápido durante cuatro horas, las muestras fueron retiradas del aparato y secadas durante media hora para la su posterior pesado.

Determinación de fibra cruda

El método 962.09 AOAC se basa en la pérdida por calcinación del residuo seco de la muestra digerida con ácido sulfúrico al 1.25% y posteriormente con hidróxido de sodio a la misma concentración.

A las muestras para esta determinación no fue necesario algún pretratamiento como lo sugiere el método debido a que los resultados obtenidos de la determinación de grasa indicaron que su contenido de grasa es inferior al 1%; las muestra fueron pesadas en los vasos de extracción hasta aproximadamente 2 gramos a las cuales se agregaron 200ml de ácido sulfúrico al 0.128 M para digerirlas por treinta minutos en un aparato de extracción de fibra modelo 3000100 de la marca LABCONCO, las muestras digeridas fueron filtradas en un embudo Buechner con ayuda de papel filtro WHATMAN No. 40 previamente pesado, el residuo de la filtración fue regresado al vaso de extracción y se adicionaron 200 ml de hidróxido de sodio para digerirlas por treinta minutos más y filtradas de nuevo, los residuos se secaron y calcinaron para determinar el contenido de fibra cruda de manera gravimétrica.

Determinación De Cenizas

El método AOAC se basa en la destrucción de materia orgánica de la muestra por calcinación y se determina gravimétricamente.

Se tomaron tres gramos de muestra en una cápsula de porcelana a peso constante, las muestras fueron pre-calcinadas sobre una parrilla calefactora hasta que las muestras dejaron de desprender humos; posteriormente fueron calcinada en una mufla FURNACE MODELO 48000 a 550 °C por seis horas se dejaron enfriar y se pesaron para la obtención de resultados.

3.3. EVALUACIÓN

Los resultados que se obtuvieron de una misma muestra en cada determinación fueron divididos en tres corridas, y se sometieron a un análisis de datos.

Para la evaluación de datos se utilizó un análisis ANOVA a los resultados obtenidos en cada determinación con un grado de confianza del 0.05 donde se plantearon las siguientes hipótesis para cada banco de datos:

Hipótesis nula: “Los resultados de una misma muestra en diferentes corridas son iguales”

Hipótesis alternativa: “Los resultados de una misma muestra en diferentes corridas son significativamente diferentes”

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 1 Resultados de la determinación de grasas totales.

		Determinación de Grasa total							
CÓDIGO: LAB01		NÚMERO DE REVISIÓN: 00			ÚLTIMA REVISIÓN: 00		PÁGINA 1 DE 1		
# de Muestra	Fecha	Código del vaso	Peso del vaso a peso constante (P1)	Peso de la muestra (P)	Peso del vaso con grasa (P2)	Hora inicial	Hora final	% de Grasa	Realizó
1	15/03/2017	5	59.8040	2.0020	59.8172	10:35	14:35	0.6593	G.B.N.
2	15/03/2017	2	60.7129	2.0012	60.7236	10:35	14:35	0.5346	G.B.N.
3	15/03/2017	3	60.9147	2.0012	60.93.34	10:35	14:35	0.9344	G.B.N.
4	15/03/2017	4	60.5413	2.0037	60.5777	10:35	14:35	0.3194	G.B.N.
5	15/03/2017	7	60.2545	2.0000	60.2638	10:35	14:35	0.465	G.B.N.
6	15/03/2017	6	61.4215	1.5163	61.4243	10:35	14:35	0.1846	G.B.N.
7	15/03/2017	8	60.1889	1.5582	60.1925	10:35	14:35	0.2310	G.B.N.
8	16/03/2017	8	60.1582	2.0020	60.1666	09:27	13:27	0.4195	G.B.N.
9	16/03/2017	5	59.8135	2.0018	59.8106	09:27	13:27	0.3546	G.B.N.
10	16/03/2017	4	60.5413	2.0032	60.5505	09:27	13:27	0.4592	G.B.N.
11	16/03/2017	1	60.1866	2.0007	60.1926	9:27	13:27	0.2998	G.B.N.
12	17/03/2017	6	61.4207	2.0018	61.4412	10:13	14:13	1.02	G.B.N.
13	17/03/2017	1	60.1887	2.0012	60.2005	10:13	14:13	0.589	G.B.N.
14	17/03/2017	4	60.5436	2.0017	60.5473	10:13	14:13	0.18	G.B.N.
15	17/03/2017	7	60.2543	2.0023	60.2594	10:13	14:13	0.25	G.B.N.

Galileo Bonilla
Nepomuceno

Realizó

MCIQ, Grisel Corte Cano

Supervisó

Observaciones:

Tabla 2 Resultados de la determinación de humedad

 Alimentos Tenerife		Determinación de Humedad							
CÓDIGO: LAB03		NÚMERO DE REVISIÓN: 00			ÚLTIMA REVISIÓN: 00		PÁGINA 1 DE 1		
# de Muestra	Fecha	Código de la capsula	Masa de la muestra (P2)	Masa de la capsula a peso cte. (P1)	Hora de la entrada de la muestra	Hora de salida	Masa de la capsula con muestra seca (P)	% de Humedad	Realizó
1	14/03/2017	II	2.9998	51.8558	9:47	12:47	53.4629	53.57	G.B.N.
2	14/03/2017	I	3.0000	53.0272	9:47	12:47	54.6980	55.69	G.B.N.
3	14/03/2017	III	3.0013	52.0697	9:47	12:47	53.7452	55.82	G.B.N.
4	29/03/2017	IV	3.0004	51.8125	10:32	13:32	53.5838	59.03	G.B.N.
5	29/03/2017	V	3.0007	52.0276	10:32	13:32	53.8091	59.36	G.B.N.
6	29/03/2017	III	3.0010	52.0675	10:32	13:32	53.8463	59.27	G.B.N.
7	30/03/2017	II	3.0030	51.8559	10:32	13:32	53.5801	57.41	G.B.N.
8	30/03/2017	VI	3.0025	51.4570	10:32	13:32	53.1874	57.63	G.B.N.
9	30/03/2017	I	3.0048	53.0266	10:32	13:32	54.7690	57.56	G.B.N.

Galileo Bonilla
Nepomuceno

Realizó

MCIQ. Grisel Corte
Cano

Supervisó

Observaciones:

Tabla 3 Resultados obtenidos de la determinación de fibra cruda.

		Determinación de Fibra Cruda							
CÓDIGO: LAB02		NÚMERO DE REVISIÓN: 00			ÚLTIMA REVISIÓN: 00		PÁGINA 1 DE 1		
# de Muestra	Fecha	Masa de la muestra (M)	No. de cápsula	Peso de capsula	Peso de la muestra digerida y seca	Peso del residuo de la calcinación	Peso del blanco	% de fibra	Realizó
1	24/03/2017	2.0011	III	52.0636	52.3538	52.0672	0.0016	0.09	G.B.N.
2	24/03/2017	2.0010	II	51.8526	52.1413	51.8556	0.0016	0.06	G.B.N.
3	24/03/2017	2.0036	VI	51.4550	51.7459	51.4566	0.0016	0	G.B.N.
4	24/03/2017	2.0037	V	52.0257	52.3180	52.0273	0.0016	0	G.B.N.
5	27/03/2017	2.0015	IV	51.8106	52.1022	51.8122	0.0016	0	G.B.N.
6	27/03/2017	2.0002	VI	51.4545	51.7572	51.4568	0.0016	0.03	G.B.N.
7	27/03/2017	2.0037	II	51.8534	52.1569	51.8560	0.0016	0.04	G.B.N.
8	27/03/2017	2.0023	III	52.0679	52.3697	52.0695	0.0016	0	G.B.N.
9	28/03/2017	2.0000	V	52.0260	52.3318	52.0278	0.0016	0.01	G.B.N.
10	28/03/2017	2.0019	IV	51.8105	52.1158	51.8127	0.0016	0.02	G.B.N.
11	28/03/2017	2.0026	I	53.0246	53.3163	53.0265	0.0016	0.01	G.B.N.

Galileo Bonilla Nepomuceno
Realizó

MCIQ. Grisel Corte Cano
Supervisó

Observaciones:

Tabla 4 Resultados obtenidos de la determinación de cenizas totales.

		Determinación de cenizas							
CÓDIGO: LAB04		NÚMERO DE REVISIÓN: 00			ÚLTIMA REVISIÓN: 00		PÁGINA 1 DE 1		
# de Muestra	Fecha	No. de cápsula	Peso de cápsula	Peso de la muestra	Hora inicial	Hora final	Peso de cápsula con cenizas	% de cenizas	Realizó
1	09/03/2017	V	52.0270	2.0025	9:25	15:25	52.3155	14.4	G.B.N.
2	09/03/2017	VI	51.4566	2.0012	9:25	15:25	51.7470	14.51	G.B.N.
3	09/03/2017	III	52.0662	2.0005	9:25	15:25	52.3555	14.46	G.B.N.
4	10/03/2017	I	53.0243	2.0392	10:02	16:02	53.3185	14.42	G.B.N.
5	10/03/2017	II	51.8536	2.0180	10:02	16:02	52.1462	14.49	G.B.N.
6	10/03/2017	VI	51.4566	2.0013	10:02	16:02	51.7474	14.53	G.B.N.
7	13/03/2017	III	51.4536	2.0005	9:43	15:43	51.7422	14.42	G.B.N.
8	13/03/2017	V	52.0278	2.0012	9:43	15:43	52.3159	14.39	G.B.N.
9	13/03/2017	VI	51.4568	2.0016	9:43	15:43	51.7462	14.45	G.B.N.

Galileo Bonilla
Nepomuceno

Realizó

MCIQ. Grisel Corte
Cano

Supervisó

Observaciones:

Análisis de datos (ANOVA) aplicados a los resultados de los análisis bromatológicos de Humedad, Grasa, Fibra Cruda y cenizas.

Tabla 5 Muestra el resumen obtenido a partir del análisis ANOVA de la determinación de humedad.

Resumen				
<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
corrida 1	3	165.08	55.026666	1.5956333
corrida 2	3	177.66	59.22	0.0291
corrida 3	3	172.6	57.533333	0.0126333

Tabla 6 Resultados obtenidos a partir del análisis ANOVA a los datos de humedad.

ANÁLISIS DE VARIANZA						
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	26.7122666	2	13.3561	24.471	0.00130	5.1432
Dentro de los grupos	3.27473333	6	0.54578			
Total	29.987	8				

Tabla 7 Muestra el resumen obtenido a partir del análisis ANOVA de la determinación de grasas totales.

Resumen				
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
corrida 1	7	3.3283	0.47547143	0.0694575
corrida 2	4	1.5331	0.383275	0.00495573
corrida 3	4	2.039	0.50975	0.14761358

Tabla 8 Resultados del análisis ANOVA de los datos obtenido de la determinación de Grasas totales.

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.0351227	2	0.01756135	0.240	0.78956	3.8852938
Dentro de los grupos	0.8744529	12	0.07287108			
Total	0.9095756	14				

Tabla 9 Muestra el resumen del análisis ANOVA de la determinación de fibra cruda.

Resumen				
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Corrida 1	4	0.15	0.0375	0.002025
Corrida 2	4	0.07	0.0175	0.000425
Corrida 3	3	0.04	0.01333333	3.3333E-05

Tabla 10 Resultados del análisis ANOVA de los datos obtenidos de la determinación de fibra cruda.

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.0012378	2	0.00061894	0.66762	0.5393	4.4589701
Dentro de los grupos	0.0074166	8	0.00092708			
Total	0.0086545	10				

Tabla 11 Muestra el resumen del análisis ANOVA de la determinación de cenizas.

Resumen				
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Corrida 1	3	43.37	14.4566667	0.00303333
Corrida 2	3	43.44	14.48	0.0031
Corrida 3	3	43.26	14.42	0.0009

Tabla 12 Resultados obtenidos a partir del análisis ANOVA de los datos obtenidos de la determinación de cenizas.

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.0054888	2	0.00274444	1.170616	0.3721	5.1432528
Dentro de los grupos	0.0140666	6	0.00234444			
Total	0.0195555	8				

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los resultados obtenidos a partir del análisis ANOVA, en los datos obtenidos a partir de la determinación de humedad en el suplemento para ganado ALTEN 60 muestran que la diferencia entre las medias de las corridas es diferente por lo que se concluye que los valores de humedad, obtenidos de una misma muestra en almacenamiento se verán afectados directamente.

Los resultados de las probabilidades son menores a el grado de confianza manejado en el ANOVA (0.05) obtenidos de las determinaciones de Fibra cruda, Grasa y Cenizas totales, y sugieren que el almacenamiento de la muestra no afecta significativamente en los resultados obtenidos en cada una de las determinaciones anteriormente mencionadas, al mismo tiempo se concluye que los resultados obtenidos entre muestras de una misma corrida no tienen una variación significativa y se encuentran dentro del límites de variación establecidos por los métodos AOAC.

RECOMENDACIONES

Para la determinación de humedad en el suplemento para ganado ALTEN 60 se recomienda ejecutarla en el mismo día de la toma de muestra; para las determinaciones en general es necesario actualizar el manual conforme a las publicaciones actualizadas de la AOAC.

También se recomienda utilizar muestras patrón con diferente concentraciones sin que el analista las conozca por ello es necesario que el jefe del laboratorio del área de investigación de Alimentos Tenerife organice esta actividad para validar los métodos implementados, también se recomienda participar en pruebas interlaboratorio para asegurar que los resultados de cada método son confiables y encontrar áreas de mejora.

6. REFERENCIAS

1. AOAC. (1984). *Official Methods for Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 14th edition*. Obtenido de <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB489S/AB489S06.htm>
2. AOAC. (1990). *Fat (Crude) or Ether Extract in Animal Feed. (920.29) Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. 15th Edition*. Obtenido de http://www.foragetesting.org/lab_procedure/sectionC/part8.0.htm
3. Badui, S. D. (2006). *Química de los alimentos*. México: Cámara Nacional de la Industria Editorial Mexicana.
4. BALTICO, G. (s.f.). Obtenido de <http://www.grupobaltico.com/>
5. FAO. (s.f.). *Manual de técnicas para laboratorio de nutrición de peces y crustáceos...* Obtenido de <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB489S/AB489S03.htm>
6. FAO. (s.f.). *Manual de técnicas para laboratorio de nutrición de peces y crustáceos...* Obtenido de <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB489S/AB489S03.htm>
7. guadalajara, u. d. (24 de abril de 2015). *método de kjeldahl*. Obtenido de http://www.academia.edu/14655213/Pr%C3%A1ctica_4_-_Prote%C3%ADnas_M%C3%A9todo_de_Kjeldhal
8. *Instituto Nacional de Normalización, NCh 1245*. (s.f.).
9. LABCONCO. (s.f.). instruction manual. methods, a. (2000). *determination of moisture content (AOAC)*. Obtenido de http://kb.psu.ac.th/psukb/bitstream/2553/1564/2/279542_app.pdf
10. NMX-Y-094-SCFI-2012. (2012). *SECRETARÍA DE ECONOMÍA NORMA MEXICANA NMX-Y-094-SCFI-2012 ALIMENTOS PARA ANIMALES – DETERMINACIÓN DE FIBRA CRUDA EN ALIMENTOS BALANCEADOS E INGREDIENTES MAYORES*.
11. *Official Methods of Analysis AOAC 15 th Edition*. (1990).
12. Technology, I. J. (8 de octubre de 2011). *Influence of natural additives on groundnut oil yield and cake quality*. Obtenido de [http://www.ijst.com/admin/download/\[11-01-07-006\].pdf](http://www.ijst.com/admin/download/[11-01-07-006].pdf)

13. Technology, I. J. (08 de octubre de 2011). *Influence of natural additives on groundnut oil yield and cake quality* . Obtenido de <http://www.ijst.com/admin/download/11-01-07-006.pdf>

ANEXOS.

Anexo 1. Manual para la realización de los análisis bromatológicos en el laboratorio del área de investigación de Alimentos Tenerife al suplemento para ganado ALATEN 60.



Manual de análisis bromatológicos a ALTEN

60:

Grasa Total

Fibra Cruda

Humedad

Cenizas

Proteína

Extracto Libre de Nitrógeno



ELABORÓ: Griselda Rivera Hernández Galileo Bonilla Nepomuceno Residentes	REVISÓ: MCIQ. Nereyda Grisel Corte Cano Jefa de Laboratorio de Investigación	AUTORIZÓ: MII. Susana Itzel Pérez Rodríguez Coordinadora General.
---	---	---

Índice

Introducción.....	31
Objetivo.....	31
Alcance.....	31
Responsabilidades.....	31
1. DETERMINACIÓN DE GRASA.....	32
1.1 Principio básico	32
1.2 Equipo e instrumentos	32
1.3 Reactivos y materiales	32
1.4 Precauciones de seguridad	32
1.5 Procedimiento	33
1.5.1 Secado de la muestra	33
1.5.2 Extracción	33
1.5.3 Destilación de hexano	34
1.6 Cálculos	35
1.7 Registro de control	36
1.8 Referencias.....	37
2. DETERMINACIÓN DE FIBRA CRUDA.....	38
2.1. Principio básico	38
2.2. Equipos e instrumentos.....	38
2.3. Reactivos y materiales	38
2.3.1. Preparación de los reactivos.....	39
2.4. Procedimiento	39
2.4.1. Digestión ácida	39
2.4.2. Digestión alcalina.....	40
2.4.3. Secado	40
2.4.4. Calcinación.....	40
2.4.5. Blanco	40
2.5. Cálculos	40
2.7 Registro de control	42
3. DETERMINACIÓN DE CONTENIDO DE HUMEDAD	44
3.1. Principio básico	44

3.2.	Equipos e instrumentos.....	44
3.3.	Reactivos y materiales	44
3.4.	Procedimientos	44
3.5.	Cálculos	44
3.6.	Registro de control	45
3.7.	Referencias	46
4.	DETERMINACIÓN DE CENIZAS.....	47
4.1.	Principio básico.....	47
4.2.	Equipo e instrumentos	47
4.3.	Reactivos y materiales	47
4.4.	Procedimiento	47
4.5.	Cálculos	47
4.6.	Registro de control	48
4.7.	Referencias	49
5.1.	Principio básico	50
5.2.	Equipos e Instrumentos.....	50
5.3.1.	Preparación de reactivos	50
5.4.	Procedimiento	51
5.4.1.	Realizar un blanco	51
5.4.2.	Digestión.....	51
5.4.3.	Destilación	51
5.5.	cálculos:.....	53
5.6.	Registro de control	55
5.7.	Referencias	56
7.	DETERMINACIÓN DE EXTRACTO LIBRE DE NITRÓGENO	57
7.1.	Principio básico	57
7.2.	Procedimiento.....	57
7.3.	Cálculo.....	57
7.4.	Registro de control	58
7.5.	Referencias	59

Índice de tablas

Tabla 1 Registro de control para la determinación de grasa.	36
Tabla 2 Registro de control para la determinación de fibra cruda.	42
Tabla 3 Registro de control para la determinación de humedad.	45
Tabla 4 Registro de control para la determinación de cenizas.	48
Tabla 5 Factor de conversión para obtener la tasa de proteína cruda a partir del nitrógeno total...54	
Tabla 6 Registro de control para la determinación de proteínas.	55
Tabla 7 Registro de control para la determinación de extracto libre de nitrógeno.	58

Introducción

Este manual describe las metodologías de los análisis bromatológicos al suplemento para ganado ALTEN 60, cada una de ellas con base en Official Methods of Analysis of AOAC International o en normas que se basan en los mismos principios, así como las responsabilidades correspondientes a cada actividad.

Objetivo

Describir las metodologías correspondientes a las determinaciones de cenizas, humedad, grasa total fibra cruda y proteína, de manera detallada y organizada para su aplicación en el suplemento para ganado ALTEN 60.

Alcance

El alcance del presente manual abarca las determinaciones de grasa total, fibra cruda, humedad, cenizas, proteína y extracto libre de nitrógeno del producto terminado Alten 60.

Responsabilidades

Es responsabilidad del coordinador general de la planta, supervisar las gestiones de los materiales y reactivos utilizados en las determinaciones descritas.

Es responsabilidad del jefe de laboratorio de investigación gestionar los materiales y reactivos utilizados en las determinaciones descritas.

Es responsabilidad del jefe del laboratorio de investigación supervisar las actividades descritas en el presente.

Es responsabilidad del analista cumplir con las buenas prácticas de laboratorio, así como seguir las especificaciones descritas en este manual de manera limpia y ordenada.

Es responsabilidad del analista utilizar adecuadamente cada uno de los formatos aplicables a cada determinación.

Es responsabilidad del analista mantener informado al jefe de laboratorio de investigación los resultados obtenidos en cada determinación.

1. DETERMINACIÓN DE GRASA

Principio básico

Se extrae una muestra seca molida con Hexano que disuelve grasas, aceites, pigmentos y otras sustancias liposolubles. Después, el éter se evapora de la solución de grasa. El residuo resultante se pesa y se denomina extracto etéreo o grasa bruta. Tanto el éter como las muestras deben estar libres de humedad para evitar la coextracción de componentes solubles en agua en la muestra tales como hidratos de carbono, urea, ácido láctico, glicerol, etc. Si los componentes solubles en agua están presentes en grandes cantidades en la muestra, se lavan de la muestra antes del secado. Se utilizan temperaturas bajas para evaporar el éter y eliminar la humedad residual para evitar la oxidación de la grasa. El éter de petróleo no disuelve todo el material lipídico de la muestra, y por lo tanto no puede ser sustituido por éter di-etílico.

Equipo e instrumentos

Aparato de extracción de grasa Goldfish, unidad de 6 matraces, equipada con soportes de dedal de vidrio y tubos de recuperación de éter.

Cuadros de extracción, 22 x 80 mm, Alundum (arcilla porosa), grueso Grasa beakers, pyrex, con labio esmerilado, grabado con un número, 50 x 85 mm

Horno de secado, 102 °C por convección.

Balanza analítica, sensible a 0,1 mg

Desecador

Reactivos y materiales

Hexano

Pinzas

Papel de filtro, Whatman # 1, 11 cm, o equivalente

Guantes, nylon blanco, sin pelusa

Precauciones de seguridad

El hexano tiene un punto de inflamación extremadamente bajo. No tengas llamas abiertas cerca. Evitar la inhalación de vapores de hexano. Almacene el hexano en envases metálicos.

Maneje los recipientes abiertos (latas de reactivo y vasos de precipitados de grasa) en una capucha. Realizar las extracciones en un área bien ventilada.

Los peróxidos pueden acumularse en recipientes abiertos de hexano. Estos son explosivos y sensibles a los golpes. Compruebe cada recipiente abierto durante más de 30 días para los peróxidos. Los peróxidos que contienen hexano deben eliminarse con técnicas especiales.

El equipo eléctrico debe estar conectado a tierra. Los extractores deben ser a prueba de chispas.

Asegúrese de que todo el éter se evapore de los vasos antes de colocarlos en el horno para evitar un incendio o una explosión.

Procedimiento

Secado de la muestra

Pesar de 1,5 a 2 g de muestra molida en un dedal registrando el peso a 0,1 mg de exactitud (W1).

Condicionamiento de la muestra

Pesar una segunda sub-muestra para determinar la materia seca; o, si la muestra contiene grandes cantidades de carbohidratos, urea, glicerol, ácido láctico o componentes solubles en agua, pesar 2 g de muestra a 0,1 mg de exactitud (W1) más cercano en un pequeño cono de filtro. Extraer con cinco porciones de 20 ml de agua des-ionizada permitiendo que cada porción se drene, luego inserte el papel y la muestra en dedal.

Secar durante 5 horas a 100 °C.

Los vasos de precipitados secos se utilizarán para la determinación de la grasa durante al menos 1 hora a 100 °C. Enfriar el número apropiado de vasos de precipitados en un desecador. Pesar y registrar el peso más cercano a 0,1 mg (W2).

Cuando termine el período de secado, retire las muestras del horno a un desecador. (Este es un punto de parada conveniente, las muestras deben almacenarse en un desecador si no se extraen inmediatamente).

Extracción

Alinea los vasos de precipitados de grasa en frente del extractor y coincidir los dedales con sus vasos de precipitados correspondientes.

Deslice el dedal en un soporte de dedal y sujete el soporte en su posición sobre el extractor.

Añadir aproximadamente 40 ml de hexano (un tubo de recuperación de vidrio lleno) a cada vaso de precipitados para grasa.

Usando guantes de látex, deslice el vaso en la abrazadera del anillo y apriete firmemente el vaso de precipitados sobre el extractor. Si la abrazadera está demasiado suelta, inserte otra junta dentro del anillo.

Levante los calentadores en su posición. Deje un hueco alrededor de 1/4 de pulgada entre el vaso y el elemento calefactor.

Encienda el interruptor del calentador, el interruptor de alimentación principal y el agua del condensador.

Después de que el hexano comience a hervir, compruebe si hay fugas de hexano. Esto se puede detectar revisando alrededor de la abrazadera del anillo. Si hay fugas, compruebe la permeabilidad de la abrazadera y, si es necesario, reemplace la (s) junta (s).

Extraer durante un mínimo de 4 horas en un ajuste Hi (tasa de condensación de 5 a 6 gotas por segundo), o durante 16 horas en un ajuste bajo (tasa de condensación de 2 a 3 gotas por segundo).

Después de la extracción, baje los calentadores, cierre la energía y el agua, y permita que el hexano drene hacia fuera de los dedales (cerca de 30 minutos). Este es un buen punto de parada.

Destilación de hexano

Retire el dedal del soporte, y enjuague el soporte con una pequeña porción de hexano de la botella. Ajuste un tubo de recuperación de hexano en su lugar y volver a conectar el vaso de precipitados de grasa.

Reposicione los calentadores y encienda la electricidad y el agua. Proceder a destilar el hexano utilizando un ajuste Hi. Observe atentamente.

Destilar hasta que una fina capa de hexano permanezca en el fondo del vaso de precipitados, y luego baje el calentador. No permita que los vasos se calienten en seco. El sobrecalentamiento oxidará la grasa. Cuando el último vaso haya terminado, apague la corriente y el agua.

Limpie el exterior del vaso de precipitados con una toalla de papel mientras se retira del extractor.

Vaciar los tubos de recuperación en el recipiente de hexano "USADO".

Coloque la bandeja de vasos en una campana de extracción para terminar de evaporar el hexano. Si no hay prisa, el aire que se mueve a través de la campana será suficiente sin calor. Se puede utilizar un baño de vapor para acelerar la evaporación. Los vasos deben permanecer en la campana o baño de vapor hasta que desaparezcan todos los restos de hexano. Cuidadosamente olfatear cada vaso de precipitados para determinar si permanece algún hexano.

Coloque los vasos en un horno de convección de gravedad a 102 °C.

Advertencia: Si se coloca un vaso que contiene hexano en el horno, puede producirse una explosión.

Secar durante 1/2 hora, no más. El secado excesivo puede oxidar la grasa y dar resultados altos en el contenido de grasa.

Enfriar en un desecador y pesar y registrar el peso a 0,1 mg (P3).

Nota: Los vasos de precipitados de grasa se limpian mejor calentando en un baño de vapor o en una placa caliente en un ajuste bajo. Añadir un poco de hexano utilizado para disolver la grasa. El uso de una goma es útil. Después de empapar los vasos en detergente, lávelos con agua caliente y cepillado vigoroso. Los dedales se limpian mejor soplando con aire.

Comentarios

Si se hace un análisis próximo, el residuo que queda en el dedal se puede usar para determinar la fibra bruta.

Cálculos

Porcentaje de grasa cruda (extracto con hexano), base muestra seca.

$$\% \text{ grasa cruda (muestra seca)} = (P3 - P2) \times 100 / P1$$

Donde:

P1= peso inicial de la muestra en gramos

P2= peso tarado del vaso en gramos

P3= peso del vaso y el residuo de grasa en gramos

Referencia

AOAC. (1990). *Fat (Crude) or Ether Extract in Animal Feed. (920.29) Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. 15th Edition.* Obtenido de http://www.foragetesting.org/lab_procedure/sectionC/part8.0.htm

2. DETERMINACIÓN DE FIBRA CRUDA

2.1. Principio básico

2.2. Equipos e instrumentos

- Molino, capaz de moler la muestra de modo que este pase por completo a través de una malla con aberturas de 1 mm.
- Balanza analítica, exactitud 0.0001 g.
- Estufa de secado
- Desecador, con sílica gel azul como desecante.
- Mufla.
- Sistema de vacío, con matraz kitasato
- Sistema de calentamiento, con sistema de enfriamiento capaz de mantener constante el volumen durante la digestión o Equipo para digestión, por ejemplo Labconco. En ambos sistemas ajustar la temperatura para que en cada unidad de calentamiento 200 ml de agua a 25 °C alcancen la ebullición en 15 min \pm 2 min.

2.3. Reactivos y materiales

- Solución de ácido sulfúrico 0.128 \pm 0.003 M:
 - Solución de hidróxido de sodio o hidróxido de potasio
 - Solución de ácido clorhídrico
 - Éter de petróleo
 - Alcohol etílico o acetona
 - Antiespumante
 - Ayuda para filtración
 - Crisoles para filtración, de cuarzo, porcelana, o vidrio resistente, con base filtrante adosada de una porosidad de 40 μ m a 100 μ m. Antes de usarse por primera vez, calentar cuidadosa y gradualmente un nuevo crisol para filtración a una temperatura que no exceda 525 °C y mantener por 30 minutos a 500 °C. Como una alternativa pueden usarse crisoles de acero inoxidable con malla del mismo material y con aberturas de 90 μ m, o Embudos para filtración, tipo Oklahoma o tipo California, con malla de acero inoxidable Tyler No. 200
 - Matraz Kitasato
 - Mallas de porcelana (si se usan crisoles para filtración).
 - Cápsulas para calcinación, 50 ml, de porcelana, sílica o vitreosil.
 - Perlas de ebullición
- Vasos de precipitados (Berzelius), 600 ml, sin vertedero, o Matraces Erlenmeyer de 500 ml.

2.3.1. Preparación de los reactivos

- 2.3.1.1. Solución de ácido sulfúrico 0.128 ± 0.003 M: Disolver 1.25 g (0.67 ml) de ácido sulfúrico en agua destilada dentro de un matraz volumétrico de 100 ml, agitar, aforar al volumen y mezclar. Verificar la concentración por titulación con carbonato de sodio.
- 2.3.1.2. Solución de hidróxido de sodio 0.313 ± 0.005 M o hidróxido de potasio 0.23 ± 0.005 M: Disolver 1.25 g de hidróxido de sodio (o hidróxido de potasio) en 100 ml de agua libre de carbonatos. Verificar la concentración por titulación con biftalato de potasio.
- 2.3.1.3. Alcohol etílico o acetona
- 2.3.1.4. Antiespumante, por ejemplo, n-octanol.
- 2.3.1.5. Ayuda para filtración: puede ser arena de mar (tratada con ácido clorhídrico 4 M, lavada con agua y calentada a 500 °C por 4 horas), Celite® 545 o fibra cerámica (colocar 60 g de fibra cerámica en una licuadora, añadir 800 ml de agua y mezclar 1 min a baja velocidad).
- 2.3.1.6. Solución de ácido clorhídrico 0.5 M: Adicionar 43 ml de ácido clorhídrico concentrado a 500 ml de agua destilada dentro de un matraz volumétrico de 1 litro, agitar, aforar al volumen y mezclar.

2.4. Procedimiento

- Pesar $2.0 \text{ g} \pm 0.1 \text{ mg}$ de muestra molida (p1).
- Si el contenido de grasa de la muestra es superior al 1.0 %, desengrasar con hexano.
- Si el contenido de carbonatos (como carbonato de calcio) en la muestra es superior al 1.0 %, tratarla con 100 ml de solución de ácido clorhídrico 0.5 M frío (< 15 °C) para evitar la neutralización parcial del ácido sulfúrico durante la digestión con éste, agitando continuamente; después de 5 minutos, filtrar y lavar dos veces el residuo con 100 ml de agua fría.
- Colocar la muestra directa o acondicionada con cualquiera de los procesos anteriores en un vaso de precipitados de 600 ml, evitando que se contamine con las fibras del papel o del cepillo utilizado para pesar y transferir la muestra.

2.4.1. Digestión ácida

- 2.4.1.1. Añadir entre 1.5 y 2.0 g de fibra cerámica preparada (si se va a filtrar con embudo Oklahoma o California), 200 ml de ácido sulfúrico 0.128 M caliente y una gota de antiespumante, como n-octanol. También se pueden añadir perlas de ebullición.
- 2.4.1.2. Colocar el vaso en el sistema de calentamiento con las parrillas pre calentadas para alcanzar la ebullición en el menor tiempo posible y hervir durante 30 ± 1 min (el tiempo se empieza a contar al inicio de la ebullición franca), manteniendo un

volumen constante con la ayuda de un aditamento de refrigeración; rotar el vaso periódicamente si se adhieren sólidos a las paredes.

- 2.4.1.3. Retirar el vaso del digestor. Transferir con cuidado la mezcla hacia el embudo o crisol de filtración, con la ayuda de una varilla de vidrio y vacío suave, si se utiliza un crisol, éste debe tener una cama de ayuda de filtrado con un espesor aproximado de la quinta parte de la altura del crisol (se puede cubrir con una malla de porcelana para prevenir salpicaduras).
 - 2.4.1.4. Enjuagar el vaso con cinco porciones de aproximadamente 10 ml de agua caliente. Ayudarse con succión. Cuidar que la placa del material de filtración del crisol o embudo, permanezca totalmente cubierta por la cama de ayuda de filtrado para evitar que la fibra cruda traspase hasta la placa.
 - 2.4.1.5. Eliminar el vacío y añadir un volumen suficiente de acetona o alcohol etílico para apenas cubrir el residuo. Esperar unos minutos y con la ayuda de un poco de succión, eliminar la acetona o alcohol.
- 2.4.2. Digestión alcalina
- 2.4.2.1. Transferir el residuo al mismo vaso de digestión, añadir 200 ml de hidróxido de sodio 0.313 M (o hidróxido de potasio 0.23 M) hirviendo, calentar a ebullición durante 30 ± 1 min (el tiempo se empieza a contar al inicio de la ebullición franca).
 - 2.4.2.2. Retirar el vaso del digestor y filtrar, lavar con 25 ml de ácido sulfúrico 0.128 M hirviendo, enjuagar con agua caliente hasta que el filtrado sea neutro. Con la ayuda de vacío, lavar el residuo tres veces con porciones de 30 ml de acetona o alcohol etílico. Secar el residuo por succión después de cada lavado.
- 2.4.3. Secado
- 2.4.3.1. Transferir el residuo a una cápsula o crisol para calcinación (si se usó un crisol para filtrar, colocar el crisol dentro de la cápsula para calcinación).
 - 2.4.3.2. Secar 2 horas a 130 °C. Dejar enfriar en el desecador y pesar (p2).
- 2.4.4. Calcinación
- 2.4.4.1. Calcinar en la mufla durante 30 min a 600 °C.
 - 2.4.4.2. Dejar enfriar en el desecador y volver a pesar (p3)
 - 2.4.4.3. La diferencia entre dos pesadas consecutivas no debe ser mayor a 2 mg. Entre cada pesada dejar enfriar el crisol un poco y, aún caliente, colocarlo dentro del desecador.
- 2.4.5. Blanco
- 2.5. Correr un blanco pesando 2 g (base seca) de fibra cerámica u otra ayuda de filtración, y siguiendo el mismo procedimiento para la muestra.

2.6. Cálculos

$$\% \text{ De fibra cruda} = \frac{(p2 - p3) - p4}{p1} \times 100$$

Donde:

p1 es el peso de la muestra

p2 es el peso de la muestra digerida y seca

p3 es el peso del residuo de la calcinación

p4 es el peso del blanco

 Alimentos Tenerife		Determinación de Fibra Cruda							
CÓDIGO: LAB02		NÚMERO DE REVISIÓN: 00			ÚLTIMA REVISIÓN: 00		PÁGINA 1 DE 1		
# de Muestra	Fecha	Masa de la muestra (M)	No. de cápsula	Peso de cápsula	Peso de la muestra digerida y seca	Peso del residuo de la calcinación	Peso del blanco	% de fibra	Realizó

_____ Realizó

_____ Supervisó

Observaciones: _____

2.7 Registro de control

Tabla 14 Registro de control para la determinación de fibra cruda.

2.8. Referencia

AOAC. (1990). *Fat (Crude) or Ether Extract in Animal Feed. (920.29) Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. 15th Edition.* Obtenido de http://www.foragetesting.org/lab_procedure/sectionC/part8.0.htm

3. DETERMINACIÓN DE CONTENIDO DE HUMEDAD

3.1. Principio básico

3.2. Equipos e instrumentos

- Estufa
- Balanza analítica
- Desecador

3.3. Reactivos y materiales

- Pinzas
- capsulas

3.4. Procedimientos

3.4.1. Secar la cápsula vacía y la tapa hasta peso constante, secar en el horno a 105 ° C durante 2 h y transferir al desecador para que se enfríe.

3.4.2. Pesar la cápsula vacía y la tapa.

3.4.3. Pesar aproximadamente 3 g de muestra en la cápsula. Distribuya la muestra con uniformidad.

3.4.4. Colocar la cápsula con la muestra en el horno, secar durante 3 h a 105 ° C.

3.4.5. Después de secar, transfiera la cápsula con la tapa parcialmente cubierta al desecador para que se enfríe.

3.4.6. Volver a pesar la cápsula y su muestra seca.

3.5. Cálculos

$$\% \text{ De humedad} = (P1 - P2 / PM) \times 100$$

Donde:

P1= peso de la cápsula con muestra seca

P2= Peso de la cápsula a peso cte.

Pm= peso de la muestra.

 Alimentos Tenerife							Determinación de Humedad				
CÓDIGO: LAB03		NÚMERO DE REVISIÓN: 00			ÚLTIMA REVISIÓN: 00		PÁGINA 1 DE 1				
# de Muestra	Fecha	Código de la capsula	Masa de la muestra (P2)	Masa de la capsula a peso cte. (P1)	Hora de la entrada de la muestra	Hora de salida	Masa de la capsula con muestra seca (P)	% de Humedad ((P-P1)/P2) *100	Realizó		

Realizó

Supervisó

Observaciones: _____

3.6. Registro de control

Tabla 15 Registro de control para la determinación de humedad.

3.7. Referencia

methods, a. (2000). *determination of moisture content (AOAC)*. Obtenido de http://kb.psu.ac.th/psukb/bitstream/2553/1564/2/279542_app.pdf

4. DETERMINACIÓN DE CENIZAS

4.1. Principio básico.

El método se basa en la destrucción de la materia orgánica presente en la muestra por

Calcinación y determinación gravimétrica del residuo.

4.2. Equipo e instrumentos

- Balanza analítica, sensibilidad 0.1 mg
- Mufla regulada a 550 ± 25 °C.
- Desecador con deshidratante adecuado (sílica gel con indicador, óxido de calcio u otro)

4.3. Reactivos y materiales

- Crisoles o cápsulas de porcelana, sílice o platino

4.4. Procedimiento

4.6.1 Efectuar el análisis en duplicado

4.6.2 Pesar al 0.1 mg exactitud en una cápsula previamente calcinada y tarada (m_0) 2 gramos de muestra homogeneizada (m_1).

4.6.3 Pre calcinar previamente la muestra en placa calefactora, evitando que se inflame, luego colocar en la mufla e incinerar a 550 °C por 8 horas, hasta cenizas blancas grisáceas. Pre enfriar en la mufla apagada y si no se logran cenizas blancas o grisáceas, humedecerlas con agua destilada, secar en el baño de agua y someter nuevamente a incineración.

4.6.4 Dejar enfriar en desecador y pesar (m_2).

4.5. Cálculos

$$\% \text{ Cenizas totales} = \frac{(m_2 - m_0) \times 100}{(m_2 - m_0)}$$

Donde:

m_2 : masa en gramos de la cápsula con las cenizas

m_1 : masa en gramos de la cápsula con la muestra

m_0 : masa en gramos de la cápsula vacía

Promediar los valores obtenidos y expresar el resultado con 2 decimales.

Respetabilidad: La diferencia de los resultados no debe ser superior al 2 % del promedio.

 Alimentos Tenerife		Determinación de cenizas					ALTEN₆₀		
CÓDIGO: LAB04		NÚMERO DE REVISIÓN: 00			ÚLTIMA REVISIÓN: 00		PÁGINA 1 DE 1		
# de Muestra	Fecha	No. de cápsula	Peso de cápsula	Peso de la muestra	Hora inicial	Hora final	Peso de cenizas	% de cenizas	Realizó

_____ _____
Realizó Supervisó

Observaciones: _____

4.6. Registro de control

Tabla 16 Registro de control para la determinación de cenizas.

4.7. Referencias

Instituto Nacional de Normalización, NCh 1245. (s.f.).

Official Methods of Analysis AOAC 15 th Edition. (1990).

5. DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA

5.1. Principio básico

ALTEN 60 se somete a un tratamiento oxidativo con ácido sulfúrico concentrado en presencia de una mezcla catalizadora (las sales/óxidos metálicos sirven para el transporte de oxígeno con formación intermedia de oxígeno nascente; el sulfato potásico sirve para elevar el punto de ebullición, alcanzándose temperaturas de 300-400°C durante la digestión). Del sulfato amónico formado se libera el amoníaco por tratamiento alcalino y éste se transporta con ayuda de una destilación en corriente de vapor a un recipiente con ácido bórico y se realiza una titulación con una solución valorada de ácido Clorhídrico. El contenido en proteína de la muestra se calcula teniendo en cuenta el contenido medio en nitrógeno de la proteína en cuestión.

5.2. Equipos e Instrumentos

- Aparato destilador rápido labconco. (Modelo 65000).
- Micro – kjeldahl digestor (modelo No. 60300-00-60300-01).

5.3. Reactivos y materiales.

- Sulfato de sodio anhidro
- Sulfato de cobre
- Ácido clorhídrico 0.01N
- Sulfato de potasio
- Rojo de metilo
- Verde bromocresol
- Ácido bórico 4%
- Hidróxido de sodio
- Ácido sulfúrico concentrado.
- Sulfato de amonio.
- Sacarosa
- Matraz Erlenmeyer de 125 ml.
- Pipetas volumétricas 20 ml.
- Buretas de 15 ml.
- Matraz kjeldahl cónico de 100 ml

5.3.1. Preparación de reactivos

5.3.1.1. Indicador mixto:

5.3.1.1.1. Rojo de metilo al 0.1%:

Pesar 100 mg de rojo de metilo, transferir a un matraz volumétrico de 100 ml y aforar con metanol de pureza al 95%.

5.3.1.1.2. Verde de Bromocresol 0.2%:

Pesar 400 mg de verde de bromocresol, transferir a un matraz volumétrico de 200 ml y aforar con metanol de pureza al 95 %.

Mezcla 100 ml de rojo de metilo al 0.1% con 200 ml de verde bromocresol al 0.2%.

5.3.1.1.3. Hidróxido de sodio al 60%:

Pesar 60 g de NaOH, transferir a un matraz volumétrico de 100 ml y aforar con agua destilada.

5.3.1.1.4. Ácido bórico 4%:

Pesar 40 g de ácido bórico, transferir a un matraz volumétrico de 1000 ml y aforar con agua destilada.

5.4. Procedimiento

5.4.1. Realizar un blanco

5.4.1.1. Añadir al matraz kjeldahl 0.12g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ y 0.67 g de sacarosa añadir los reactivos como se describe en los siguientes pasos, la recuperación debe ser $\geq 99\%$.

5.4.2. Digestión

5.4.2.1. El aparato digestor se enchufa a la alimentación eléctrica.

5.4.2.2. Añadir al matraz kjeldahl 2 g de muestra, 5 g de sulfato de sodio anhidro, 1 g de Cu_2SO_4 , 25 ml H_2SO_4 concentrado y perlas de ebullición.

5.4.2.3. colocar el matraz kjeldahl de 100 mL sobre el calentador y ajustar la boquilla del mismo en el colector de vidrio, de modo que media pulgada del cuello del matraz se encuentre dentro del él.

5.4.2.4. encender cada calentador individual ajustar a baja temperatura (Low), cuidar la producción de espuma de la muestra y calentar gradualmente hasta que la producción de espuma se desaparezca, una vez eliminando la espuma ajustar a temperatura alta (HI) y esperar entre 3 a 4 h hasta que obtenga con color verde claro.

5.4.2.5. Para eliminar las partículas negras que permanezcan en el cuello del matraz se debe enfriar y enjuagarlas, posteriormente se debe recalentar hasta que estas desaparezcan.

5.4.2.6. Apagar los calentadores y dejar enfriar la muestra digerida.

5.4.2.7. Transferir la digestión con varios lavados a un matraz aforado de 250 mL y aforar con agua destilada hasta la marca.

5.4.3. Destilación

5.4.3.1. Encienda el agua de enfriamiento y ajustar a velocidad normal.

5.4.3.2. Encienda el calentador - compruebe el nivel del depósito y ajuste a 2/3 de su capacidad si es necesario. Ajuste el control de calor en "9". Permita que el agua del depósito de vapor llegue a "ebullición" y baje el control de calor a un ajuste apropiado. Ajuste la válvula de control de flujo para reemplazar el agua perdida durante la destilación.

5.4.3.3. Permita que se alcance el equilibrio térmico compruebe que la tasa de destilación sea de 4 - 5 mL / min, con un vaso graduado.

5.4.3.4. Abrir la llave de paso del aspirador que une la cámara y el aspirador de agua para aspirar la cámara interna - cerrar la llave de paso.

- 5.4.3.5. Colocar un vaso de precipitado de 50 ml con 3 a 4 gotas del indicador mixto y 15 mL de ácido bórico al 4% y colocarlo bajo el condensador de tal manera que la punta del condensador esté por debajo del líquido.
- 5.4.3.6. Compruebe que la llave de paso del embudo de adición de muestra digerida está cerrada, coloque toda la muestra de digestión diluida en el embudo de adición.
- 5.4.3.7. Abra la llave de paso del embudo de "adición" para transferir 15 ml de la muestra digerida a la cámara de mezcla. Cerrar la llave de paso.
- 5.4.3.8. Enjuague el matraz de digestión con pequeñas cantidades de agua destilada sin amoníaco (volumen total de enjuagues no superior a 8 - 10 mL). Agregar cada enjuague pequeño a la cámara interna a través del embudo de adición por separado y cerrar la llave de paso después de cada adición.
- 5.4.3.9. Enjuague el embudo de adición con 3 a 4 mL de agua destilada libre de amoníaco, dejando un poco de agua como un sello líquido.
- 5.4.3.10. Coloque el vaso de precipitado de forma que la salida del condensado esté ligeramente por debajo del nivel de la superficie del líquido receptor.
- 5.4.3.11. Añadir 15 ml de solución de NaOH al 60 % (para producir el exceso de base en la cámara de mezcla cuando se agrega completamente) al embudo de adición. Abrir lentamente el embudo y dejar que la solución de NaOH al 60 % fluya lentamente hacia la cámara de mezcla. Detener el flujo si la "acción neutralizante" se vuelve demasiado vigorosa o sifón con la solución receptora. Continuar la alimentación intermitente de NaOH al 60 % a la cámara de mezcla hasta que se agregue toda la solución. Dejar un poco de cáustico en el vástago del embudo para actuar como un sello líquido.

Nota: Si la reacción es incontrolable, REDUCIR todos los futuros volúmenes de muestra de digestión de ácido y volver a calcular las concentraciones de NaOH al 60 % frecuente de manera que el contenido de la cámara interior tenga una normalidad de 4 a 8. Se debe dejar una pequeña cantidad de cáustico en el embudo de adición para actuar Como un sellado líquido durante cada destilación. Si la formación de espuma es un problema durante la destilación, añadir 1 o 2 gotas de antiespumante.

- 5.4.3.12. Permitir que la destilación se desarrolle lo suficiente para completar la recuperación cuantitativa de amoníaco libre de la muestra. El tiempo promedio de destilación es de 3 a 5 minutos.
- 5.4.3.13. Baje la rejilla del recipiente receptor y deje que la destilación continúe aproximadamente un minuto.
- 5.4.3.14. Coloque el frasco del receptor a un lado.
- 5.4.3.15. Titular la muestra destilada con HCl 0.01 N.
- 5.4.3.16. Coloque un vaso de precipitado extra en el estante del receptor, abra la llave del tubo del aspirador, para "drenar" la cámara de mezcla. Abra la llave de paso de la muestra dejando pasar el sello de líquido a la cámara de mezcla. Cierre la llave de paso de adición. Escurrir por medio de la acción de aspiración. Siga con varios lavados de agua destilada sin amoníaco, agregando cada lavado a través del embudo de

adición, cerrando la llave de paso de adición y aspirando la solución de lavado al drenaje.

Nota: Cerrar la llave de paso del aspirador antes de la adición de cada lavado.

5.4.3.17. La unidad esta lista para manejar la siguiente muestra.

Nota: Si se encuentran largos retrasos entre dos carreras, aspirar la cámara de mezcla justo antes de la introducción de la muestra. (Technology, 2011).

5.4.3.18. Apague el calentador con el interruptor principal.

5.4.3.19. Extraiga el vaso de receptor.

5.4.3.20. Lave bien la cámara de mezclado, dejándola a su alrededor 1/2 llena (10-12 mL - consulte el paso 15 de puesta en marcha y funcionamiento.

5.4.3.21. Apague la fuente de agua de refrigeración del condensador y la válvula de control de flujo. (LABCONCO)

5.5. cálculos:

$$\% \text{ de nitrógeno} = \frac{(Va - Vb) \times N_{\text{ácido}} \times 0.01401 \times 100(X)}{WY}$$
$$\text{Proteína cruda} = \% \text{Nitrógeno} \times F$$

Donde

X = volumen total de la muestra digerida (mL);

Va = volumen de ácido requerido para titular la muestra (mL);

Vb = volumen de ácido requerido para titular el blanco (mL);

N_{ácido} = normalidad del ácido clorhídrico 0.01N;

W = peso de la muestra (g);

Y = volumen transferido en la pipeta durante la destilación (mL);

F = factor de conversión para obtener la tasa de fibra a partir del nitrógeno total.

5.5.1.1. 0.01401= equivalente volumétrico del nitrógeno

Tabla 17 Factor de conversión para obtener la tasa de proteína cruda a partir del nitrógeno total.

Alimentos.	Factor
Harina de trigo.	5.70
Trigo, centeno, cebada.	5.83
Arroz.	5.95
Cacahuates.	5.46
Almendras.	5.18
Soja.	5.71
Semillas oleaginosas.	5.30
Leche y derivados.	6.38
Carnes y derivados.	6.25
Clara de huevo.	6.70
Yema de huevo.	6.62
Huevo entero.	6.68
Gelatina	5.55
Vegetales y otros alimentos	6.25

5.6. Registro de control

Tabla 18 Registro de control para la determinación de proteínas.

		Determinación de Proteínas						
CÓDIGO: LAB05		NÚMERO DE REVISIÓN: 00			ÚLTIMA REVISIÓN: 00		PÁGINA 1 DE 1	
# de Muestra	Fecha	Peso de la muestra	Vol. de la muestra digerida (mL)	Vol. de la muestra destilada (mL)	Vol. de la muestra titulada (mL)	% de Nitrógeno	% de Proteína	Realizó

Realizó

Supervisó

Observaciones: _____

5.7. Referencias

guadalajara, u. d. (24 de abril de 2015). *método de kjeldahl*. Obtenido de http://www.academia.edu/14655213/Pr%C3%A1ctica_4_-_Prote%C3%ADnas_M%C3%A9todo_de_Kjeldhal

LABCONCO. (s.f.). instruction manual.

Technology, I. J. (8 de octubre de 2011). *Influence of natural additives on groundnut oil yield and cake quality*. Obtenido de [http://www.ijst.com/admin/download/\[11-01-07-006\].pdf](http://www.ijst.com/admin/download/[11-01-07-006].pdf)

6. DETERMINACIÓN DE EXTRACTO LIBRE DE NITRÓGENO

6.1. Principio básico

El extracto libre de nitrógeno (ELN) mide el contenido de carbohidratos no estructurales presente en el contenido celular, estos son monosacáridos, disacáridos, trisacáridos y almidones.

El extracto libre de nitrógeno (ELN) se mide a través de un cálculo matemático.

6.2. Procedimiento.

- 6.2.1. Dentro de este concepto se agrupan todos los nutrientes no evaluados con los métodos señalados anteriormente dentro del análisis proximal, constituido principalmente por carbohidratos digeribles, así como también vitaminas y demás compuestos orgánicos solubles no nitrogenados; debido a que se obtiene como la resultante de restar a 100 los porcentajes calculados para cada nutriente, los errores cometidos en su respectiva evaluación repercutirán en el cómputo final.

6.3. Cálculo

$$\% \text{ Extracto Libre de Nitrógeno} = 100 - (A + B + C + D + E)$$

Donde:

A: contenido de humedad (%)

B: Contenido de proteína cruda (%)

C: Contenido de lípidos crudos (%)

D = Contenido de fibra cruda (%)

E = Contenido de ceniza (%)

6.4. Registro de control

Tabla 19 Registro de control para la determinación de extracto libre de nitrógeno.

		Extracto libre de nitrógeno			
CÓDIGO: LAB06		NÚMERO DE REVISIÓN: 00		ÚLTIMA REVISIÓN: 00	
PÁGINA 1 DE 1					
ALTEN 60			100% -		
Humedad					
Proteína Cruda					
Lípidos Crudos					
Fibra Cruda					
Cenizas					
% total de Extracto libre de nitrógeno					

Realizó

Supervisó

Observaciones

:

6.5. Referencias

FAO. (s.f.). *Manual de tecnicas para laboratorio de nutricion de peces y crustaceos...* Obtenido de <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB489S/AB489S03.htm>