



Universidad Tecnológica del Centro de Veracruz



Reporte Final de Estadía

Griselda Rivera Hernández

Implementación de métodos de AOAC para
Proteína y Extracto libre de Nitrogeno 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 métodos de AOAC para
proteína y extracto libre de nitrógeno en la
empresa Alimentos Tenerife**

Nombre del Asesor Industrial:

MCIQ. Nereyda Grisel Corte Cano

Nombre del Asesor Académico

MC. Ismael Alatríste Pérez

Nombre del Alumno:

Griselda Rivera Hernández

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
1. INTRODUCCIÓN.....	3
1.1 ANTECEDENTES.....	4
1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	8
1.3 OBJETIVO GENERAL Y ESPECÍFICOS.....	9
• Objetivo general.....	9
• Objetivos específicos.....	9
2. MARCO TEÓRICO.....	10
2.1 AOAC.....	10
2.2 INDUSTRIA ALCOHOLERA.....	11
2.3 ANÁLISIS BROMATOLÓGICOS.....	11
2.4 ALTEN 60.....	11
2.5 PROTEÍNAS.....	11
2.6 EXTRACTO LIBRE DE NITRÓGENO.....	12
3. METODOLOGÍA.....	13
3.1 PLANEACIÓN.....	13
3.2 EJECUCIÓN.....	13
3.3 EVALUACIÓN.....	14
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	15
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	18
6. REFERENCIAS.....	19
ANEXOS.....	21
Anexo 1.....	21
Manual de análisis bromatológicos al suplemento para ganado ALTEN 60.....	21

ÍNDICE DE TABLAS

No. de Tablas	Descripción	Página
1	Registro de control para la determinación de proteínas.	13
2	Registro del promedio y la varianza para el análisis de ANOVA de proteínas.	14
3	Registro de los resultados del análisis de ANOVA de proteínas.	14
4	Registro de los resultados de la determinación de Extracto Libre de Nitrógeno.	15

RESUMEN

En el presente trabajo se muestran los métodos de proteína y Extracto libre de nitrógeno de la AOAC para implementarlas en un suplemento alimenticio ALTEN 60 de la empresa Alimentos 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; donde 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 la determinación de proteína y extracto libre de nitrógeno, 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. Por último 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 proteína y que los resultados obtenidos de una misma muestra en una sola corrida no muestran una variabilidad significativa por lo que la implementación del método fue eficaz.

ABSTRACT

In the present work the protein and AOAC nitrogen-free extract methods are shown to be implemented in a food supplement ALTEN 60 from 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: where the available equipment was adapted in the research area of Alimentos Tenerife, a practical manual was also elaborated which describes in detail the methodologies corresponding to the determination of protein and nitrogen-free extract, also formats were proposed for the registration of the Results were obtained, then the methods for obtaining results were executed; 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 protein and that the results obtained from the same sample in a single run do not show a significant variability so the implementation of the method was effective

1. INTRODUCCIÓN

AOAC International es reconocido a nivel mundial, tercero independiente, sin fines de lucro asociación y normas voluntarias de consenso en desarrollo organización fundada en 1884. Cuando surgen necesidades analíticas dentro de una comunidad o de la industria, la AOAC International es el foro para la búsqueda de soluciones basados en la ciencia a través del desarrollo de normas microbiológicas y químicas. Normas de la AOAC se utilizan a nivel mundial para promover el comercio y facilitar la salud y la seguridad pública. (AOAC)

La empresa Alimentos Tenerife S.A. de C.V. se encuentra enfocada en cumplir con los lineamientos de calidad a través de la supervisión y verificación, la cual es la base para desarrollar productos de calidad dando como resultados confianza en el cliente nacional.

Poder garantizar la calidad en el ALTEN 60 implica el control de todo el proceso y almacenamiento del producto.

El manual de análisis bromatológicos, contiene información reunida con la finalidad de orientar y facilitar el trabajo para realizar cada determinación correspondiente al producto ALTEN 60, Así mismo que describe de manera clara y detallada cada uno de ellas, llevando registros con la finalidad de obtener resultados que inspiren confianza en el momento de ser archivados.

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 Bioenergéticos.

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. (BÁLTICO, s.f.)

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. (BÁLTICO, s.f.)

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.

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. (BÁLTICO, s.f.)

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.

¿Qué es?

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.

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. (BÁLTICO, s.f.)

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, s.f.)

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la empresa Alimentos Tenerife S.A de C.V cuenta con un sin fin de productos procesados de buena calidad a los cuales se realizan análisis para controlar los parámetros de calidad establecidas. Por lo tanto, se detectó que dicha empresa requiere la implementación de los métodos oficiales de análisis (AOAC) para generar confianza y garantizar que el producto es de calidad para los clientes, para ello es necesario realizar un proyecto donde los métodos correspondientes a los análisis bromatológicos (Proteína y extracto libre de nitrógeno) se apliquen a “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, la finalidad este proyecto es cuantificar el porcentaje que tiene el ALTEN 60 para el consumo del animal.

1.3 OBJETIVO GENERAL Y ESPECÍFICOS

- Objetivo general
 - Implementar los métodos de la AOAC para proteína y extracto libre de nitrógeno en la empresa Alimentos Tenerife.

- Objetivos específicos
 - Establecer una metodología con procedimientos operativos estandarizados para la implementación de los métodos de la AOAC.
 - Aplicar la metodología diseñada de acuerdo a los métodos de la AOAC.
 - Determinar los métodos de proteína, extracto libre de nitrógeno en el suplemento ALTEN 60.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 AOAC

AOAC International es un reconocido a nivel mundial, tercero independiente, sin fines de lucro asociación y normas voluntarias de consenso en desarrollo organización fundada en 1884. Cuando surgen necesidades analíticas dentro de una comunidad o de la industria, la AOAC International es el foro para la búsqueda de soluciones basados en la ciencia a través del desarrollo de normas microbiológicas y químicas. 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.

- Suplementos dietéticos
- Formula infantil
- Alimentaciones
- Fertilizantes
- Suelo y el agua
- Medicamentos veterinarios
- Productos farmacéuticos

Socios de miembros extensa, base de voluntarios y de la industria de la AOAC se componen de; agencias gubernamentales, el mundo académico, organizaciones internacionales, laboratorios, organizaciones de investigación por contrato, desarrolladores de ensayo rápido, proveedores de alta tecnología; y los fabricantes de instrumentos. (INTERNATIONAL, s.f.)

La actividad principal de la AOAC es el desarrollo de estándares mundialmente aceptados. Proceso de desarrollo de las normas de la AOAC se basa en paneles de partes interesadas para desarrollar los requisitos de rendimiento basado en el método de consenso voluntario y paneles de expertos para evaluar los posibles métodos - todos basados en las necesidades específicas del método de la comunidad.

El estado de la AOAC una tercera parte independiente, amplia experiencia y liderazgo voluntario, todo ello contribuye a la credibilidad y la aceptación de las normas y métodos desarrollados a través de nuestros procesos. (INTERNATIONAL, s.f.)

2.2. INDUSTRIA ALCOHOLERA

Las industrias alcoholeras en México tienen una larga tradición histórica y han llegado a constituirse como una de las agroindustrias más importantes del país.

Uno de los principales usos industriales del azúcar es la producción de alcohol etílico, el que se obtiene a partir de la transformación de las mieles finales como materia prima. (Legislativo, 2002)

2.3. 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)

2.4. ALTEN 60

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, s.f.)

2.5. PROTEÍNAS

Las proteínas son biomoléculas de elevado peso molecular (macromoléculas) y presentan una estructura química compleja. Sin embargo, cuando se someten a hidrólisis ácida, se descomponen en una serie de compuestos orgánicos sencillos de bajo peso molecular: los α - aminoácidos. Este rasgo lo comparten las proteínas con otros tipos de macromoléculas: todas son polímeros complejos formados por la unión de unos pocos monómeros o sillares estructurales de bajo peso molecular. Existen 20 α -aminoácidos diferentes que forman parte de las proteínas (Alba., 2006)

2.6. EXTRACTO LIBRE DE NITRÓGENO

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. (pesca., s.f.)

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 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 cada método 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 obtenidos

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

Determinación de proteína

Las muestras fueron tomadas del tanque número 1 y 2 de almacenamiento de producto terminado las cuales fueron almacenadas a temperatura ambiente en un frasco cerrado e identificada como (T1) y (T2) respectivamente.

La muestra fue pesada (2g) y transferida a un matraz kjeldahl con sulfato de sodio anhidro, sulfato de cobre pentahidratado y ácido sulfúrico concentrado, dicha muestra fue digerida en un digestor Micro-kjeldahl Modelo 60300-00 de la marca LABCONCO hasta lograr un color verde claro.

La muestra digerida fue transferida a un matraz volumétrico de 250 ml y aforada hasta la marca, se tomó una alícuota de 15 ml la cual fue destilada en un aparato de destilación rápida modelo 65000 de la marca LABCONCO; la muestra destilada fue

recibida en un matraz receptor con 15 ml de ácido bórico al 4% y tres gotas de indicador mixto para su posterior titulación con ácido clorhídrico al 0.01N.

Cálculo de extracto libre de nitrógeno.

El extracto libre de nitrógeno fue calculado a partir de los resultados obtenidos de los análisis bromatológicos correspondientes a proteína, grasa, fibra cruda, cenizas y humedad. Donde al cien por ciento del alimento se restaron los resultados de dichas determinaciones.

3.3. EVALUACIÓN



Se utilizó un ANOVA para análisis de datos en donde se obtuvieron de una sola muestra, pero en diferentes corridas.

Así mismo para saber el tiempo de almacenamiento de la muestra y la varianza de cada corrida fueran significativa.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se muestra que en las siguientes tablas se llevó un control en donde se registró los datos necesarios para poder determinar el porcentaje de proteína obtenida en cada corrida.

Tabla 1 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 (g)	Vol. de la muestra digerida (mL)	Vol. de la muestra destilada (mL)	Vol. de la muestra titulada (mL)	% de Nitrógeno	% de Proteína	Realizó
1	28/02/17	2.0203	22	29	16.2	1.0878	6.7937	GRH
2	28/02/17	5.0227	17	29	23	1.015	6.3486	GRH
3	28/02/17	1.0047	10	28	10.2	0.86	5.3816	GRH
4	28/02/17	1.0027	10	28	9.6	0.73	4.5628	GRH
5	28/02/17	1.0010	22	29	6.3	1.3961	8.7256	GRH
6	08/03/17	2.0241	21.5	32	8.2	0.8986	5.6165	GRH
7	08/03/17	2.0997	21	31	9.2	0.7105	4.4409	GRH
8	08/03/17	2.0128	22	31	8.9	0.9808	6.1302	GRH
10	29/03/17	2.0392	33	32	10	1.0878	6.7987	GRH
11	29/03/17	2.0180	34	32	10	1.0992	6.8701	GRH
12	29/03/17	2.0013	33	32	8.8	0.9753	6.0962	GRH
13	29/03/17	2.0229	33	32	9.1	0.9978	6.2367	GRH

Griselda Rivera Hernández

Realizó

MCIQ. Grisel corte cano

Supervisó

Observaciones:

En la tabla 1 se observa que los resultados que varía debido que se fue modificando la metodología por la naturaleza del alimento, también otras de las condiciones que se

cambiaron fue de la temperatura ya que el alimento produce espuma se fue ajustando poco a poco la temperatura hasta eliminarla, por tanto, el tiempo de digestión también cambió.

En las siguientes tablas que se muestran a continuación los resultados obtenidos en un análisis de ANOVA.

Tabla 2 Registro del promedio y la varianza para el análisis de ANOVA de proteínas

RESUMEN				
<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Corrida 1	5	31,79	6,358	2,48882
Corrida 2	3	16,18	5,39333333	0,74923333
Corrida 3	4	25,98	6,495	0,15396667

Tabla 3 Registro de los resultados del análisis de ANOVA de proteínas.

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>
<i>Entre grupos</i>	2,408178 33	2	1,2040891 7	0,9094598 7	0,436781008	4,2564947 3
<i>Dentro de los grupos</i>	11,91564 67	9	1,3239607 4			
<i>Total</i>	14,32382 5	11				

En la tabla que se muestra los resultados obtenidos en la determinación de extracto libre de nitrógeno en el cual se suma todas las determinaciones y se le resta un cien por ciento.

Tabla 4 Registro de los resultados de la determinación de Extracto Libre de Nitrógeno

corridas Determinaciones	Proteínas	Cenizas	Grasas	Fibra cruda	Humedad	% de Extracto Libre de Nitrógeno
1	6.358	14.4566667	0.47547143	0.05	55.0266667	23.6331952
2	5.393333333	14.48	0.383275	0.01	59.22	20.5133917
3	6.495	14.42	0.50975	0.01666667	57.53333333	21.02525
Promedio de ELN						34.8281631

En la tabla 4 se observa los resultados obtenidos de grasas, cenizas, fibra cruda y humedad los cuales fueron analizados por Galileo Bonilla, así como también los resultados obtenidos de la determinación de proteína para poder calcular el extracto libre de nitrógeno, en el cual se resta el 100% la suma obtenidos en dichas determinaciones y se calcula todos los nutrientes no evaluados en cada determinación.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Se implementaron los análisis correspondientes a las determinaciones de proteínas y extracto libre de nitrógeno, que de acuerdo con el análisis de datos los resultados no tienen una diferencia significativa, aunque en la primera corrida de acuerdo a la varianza muestra que es mayor, que las corridas dos y tres, diciendo así que los resultados fueron mejorando dependiendo de la repetibilidad que realizaba el analista.

Recomendaciones.

Se recomienda que al realizar la determinación de proteínas antes de la digestión se le debe agregar de 1 a 2 gotas de antiespumante y tenerlo en temperatura baja, ya que el producto ALTEN 60 cuenta con un porcentaje elevado de proteínas lo que provoca la formación de espuma, ya una vez eliminando la espuma se puede seguir la determinación a una temperatura más elevada.

También se recomienda utilizar muestras patrón con diferentes 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.

6. REFERENCIAS

- Alba. (2006). *Determinación de la composición química aproximada y fibra dietaria de 43 variedades criollas de maíz de 7 municipios del suroeste del estado de Hidalgo*. Obtenido de <http://repository.uaeh.edu.mx/bitstream/bitstream/handle/123456789/1>
- 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>
- 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
- Badui, S. D. (2006). *Química de los alimentos*. México: Cámara Nacional de la Industria Editorial Mexicana.
- BÁLTICO, G. (s.f.). Recuperado el 20 de MARZO de 2017, de <http://www.grupobaltico.com/>
- 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>
- 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>
- 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
- Instituto Nacional de Normalización, NCh 1245*. (s.f.).
- INTERNATIONAL, A. (s.f.). Recuperado el 20 de MARZO de 2017, de https://www.aoac.org/AOAC_Prod_Imis/AOAC_Member/Default.aspx?WebsiteKey=2e25ab5a-1f6d-4d78-a498-19b9763d11b4&hkey=8fc2171a-6051-4e64-a928-5c47dfa25797
- 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

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.*

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

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)

Anexo 1
**Manual de análisis bromatológicos al
suplemento para ganado ALTEN 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	27
Objetivo	27
Alcance	27
Responsabilidades	27
1. DETERMINACIÓN DE GRASA	29
1.1 Principio básico	29
1.2 Equipo e instrumentos	29
1.3 Reactivos y materiales	29
1.4 Precauciones de seguridad	29
1.5 Procedimiento	30
1.5.1 Secado de la muestra	30
1.5.2 Extracción	30
1.5.3 Destilación de hexano	31
1.6 Cálculos	31
1.7 Registro de control	33
1.8 Referencias	34
2. DETERMINACIÓN DE FIBRA CRUDA	35
2.1. Principio básico	35
2.2. Equipos e instrumentos	35
2.3. Reactivos y materiales	35
2.3.1. Preparación de los reactivos	36
2.4. Procedimiento	36
2.4.1. Digestión ácida	36
2.4.2. Digestión alcalina	37
2.4.3. Secado	37
2.4.4. Calcinación	37
2.4.5. Blanco	37
2.5. Cálculos	37
2.7 Registro de control	39
3. DETERMINACIÓN DE CONTENIDO DE HUMEDAD	41

3.1.	Principio básico	41
3.2.	Equipos e instrumentos	41
3.3.	Reactivos y materiales	41
3.4.	Procedimientos	41
3.5.	Cálculos	41
3.6.	Registro de control	42
3.7.	Referencias	43
4.	DETERMINACIÓN DE CENIZAS	44
4.1.	Principio básico	44
4.2.	Equipo e instrumentos	44
4.3.	Reactivos y materiales	44
4.4.	Procedimiento	44
4.5.	Cálculos	44
4.6.	Registro de control	45
4.7.	Referencias	46
5.1.	Principio básico	47
5.2.	Equipos e Instrumentos	47
5.3.1.	Preparación de reactivos	47
5.4.	Procedimiento	48
5.4.1.	Realizar un blanco	48
5.4.2.	Digestión	48
5.4.3.	Destilación	48
5.5.	cálculos:	50
5.6.	Registro de control	52
5.7.	Referencias	53
6.	DETERMINACIÓN DE EXTRACTO LIBRE DE NITRÓGENO	54
6.1.	Principio básico	54
6.2.	Procedimiento	54
6.3.	Cálculo	54
6.4.	Referencias	55

Índice de tablas

Tabla 1 Registro de control para la determinación de grasa.	33
Tabla 2 Registro de control para la determinación de fibra cruda.	39
Tabla 3 Registro de control para la determinación de humedad.	42
Tabla 4 Registro de control para la determinación de cenizas.	45
Tabla 5 Factor de conversión para obtener la tasa de proteína cruda a partir del nitrógeno total.	51
Tabla 6 Registro de control para la determinación de proteínas.	52

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.

NOMENCLATURA

NaOH Hidróxido de sodio

Mg miligramos

g gramos

ml mililitros

(NH₄)₂SO₄ Sulfato de amonio

Cu₂SO₄ Sulfato cúprico

H₂SO₄ Ácido sulfúrico

h hora

min minutos

HCl Ácido clorhídrico

N normalidad

mm miligramos

cm centímetros

°C centígrados

M molaridad

μm micrómetro

1. DETERMINACIÓN DE GRASA

1.1. 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.

1.2. 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

1.3. 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.

1.4. Procedimiento

1.4.1. Secado de la muestra

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

1.4.1.2. Condicionamiento de la muestra

1.4.1.2.1. 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.

1.4.2. Secar durante 5 horas a 100 °C.

1.4.2.1. 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).

1.4.2.2. 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).

1.4.3. Extracción

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

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

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

1.4.3.4. 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.

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

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

1.4.3.7. 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).

1.4.3.8. 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).

1.4.3.9. 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.

1.4.4. Destilación de hexano

- 1.4.4.1. 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.
- 1.4.4.2. Reposicione los calentadores y encienda la electricidad y el agua. Proceder a destilar el hexano utilizando un ajuste Hi. Observe atentamente.
- 1.4.4.3. 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.
- 1.4.4.4. Limpie el exterior del vaso de precipitados con una toalla de papel mientras se retira del extractor.
- 1.4.4.5. Vaciar los tubos de recuperación en el recipiente de hexano "USADO".
- 1.4.4.6. 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.
- 1.4.4.7. 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.

- 1.4.4.8. Secar durante 1/2 hora, no más. El secado excesivo puede oxidar la grasa y dar resultados altos en el contenido de grasa.
- 1.4.4.9. 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.

1.5. 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

1.6. Registro de control

Tabla 1 Registro de control para la determinación de grasa.

		Determinación de Grasa							
CÓDIGO: LAB01		NÚMERO DE REVISIÓN: 00				ÚLTIMA REVISIÓN: 00		PÁGINA 1 DE 1	
# Muestra	de 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	% Grasa = (P2-P1/P)× 100	Realizó

Realizó

Supervisó

Observaciones: _____

1.7. Referencia

AOAC. (1990). *Fat (Crude) or Ether Extract in Animal Feed. (920.29) Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. 15th Edition.* Retrieved from 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

2.7 Registro de control

Tabla 2 Registro de control para la determinación de fibra cruda.

		Determinación de Fibra Cruda								
# 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	

_____ Realizó

_____ Supervisó

Observaciones: _____

2.8. Referencia.

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.*

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.

3.6. Registro de control

Tabla 3 Registro de control para 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 ((P-P1)/P2) *100	Realizó

Realizó

Supervisó

Observaciones: _____

3.7. Referencia

methods, a. (2000). *determination of moisture content (AOAC)*. Retrieved from 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.

4.6. Registro de control

Tabla 4 Registro de control para la determinación de cenizas.

 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: _____

4.7. Referencias

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

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 de 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, Influence of natural additives on groundnut oil yield and cake quality, 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:

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

Donde

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

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

V_b = 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 5 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 6 Registro de control para la determinación de proteínas.

		Determinación de Proteínas					ALTEN 60	
# 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. (08 de octubre de 2011). *Influence of natural additives on groundnut oil yield and cake quality* . Obtenido de <http://www.ijst.com/admin/download/%5B11-01-07-006%5D.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. Referencias

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>