



Universidad Del Sureste

Licenciatura en Medicina Veterinaria y
Zootecnia

3^{er} Cuatrimestre

M.V.Z. Gilberto Erwin Hernández Pérez
Bromatología Animal I

Carlos Ernesto Beltrán López

M.V.Z.

Contenido

Sistema Proximal de Análisis.....	3
Humedad.....	3
Proteína cruda.....	4
Lípidos crudos.....	7
Fibra cruda	8
Ceniza	10
Extracto Libre de Nitrógeno (ELN)	10
Correcciones	11
Determinación del Contenido Celular	12
Bibliografía.....	13

Sistema Proximal de Análisis

El sistema proximal para el análisis ordinario de los piensos se diseñó a mediados del siglo XIX en la estación experimental de Weende, en Alemania (Henneberg y Stohmann, 1860, 1864). Se creó para obtener una clasificación muy amplia y con un nivel máximo de los componentes de alimentos. El sistema consiste en la determinación analítica del agua (humedad), las cenizas, las grasas brutas (extracción con éter), las proteínas brutas y la fibra bruta. El extracto libre de nitrógeno (ELN), que representa más o menos los azúcares y almidones, se calcula por la diferencia en lugar de medirlo mediante análisis. Aunque algunos de los métodos utilizados tradicionalmente en el sistema proximal de análisis no se recomiendan para la preparación de bases de datos de composición de alimentos (por ejemplo, la fibra bruta), es conveniente examinar los conceptos aplicados, puesto que son los que han predominado en las opiniones sobre la composición de alimentos y su análisis. Este sistema se creó en un momento en el que sólo se conocía en parte la química de la mayoría de los componentes de los alimentos. El desarrollo de las ciencias de la nutrición ha demostrado que para los estudios nutricionales se necesita un enfoque más detallado y con una orientación más bioquímica con respecto al análisis de los alimentos. No obstante, el análisis proximal, incluidos los métodos originales, sigue constituyendo la base del análisis de los piensos y de los alimentos con fines legislativos en muchos países. Muchas personas consideran que el término «proximal» y el concepto al que denomina son útiles para representar los componentes principales que forman los alimentos; los métodos analíticos reales se independizan posteriormente. Otros opinan que la definición de «proximal» se basa en los métodos originales prescritos por Henneberg y Stohmann y que la sustitución de dichos métodos, por ejemplo, la fibra dietética en lugar de la fibra bruta, invalida la utilización del término.

Humedad.

Durante el balanceo de la ración, es fundamental conocer el contenido de agua en cada uno de los elementos que la compondrán; así mismo, es necesario vigilar la humedad en el alimento preparado, ya que niveles superiores al 8% favorecen la presencia de insectos y arriba del 14%, existe el riesgo de contaminación por hongos y bacterias (Cockerell et al., 1971). El método se basa en el secado de una muestra en un horno y su determinación por diferencia de peso entre el material seco y húmedo.

Aparatos:

- Horno de secado.
- Desecadores.

Procedimiento:

- Pese alrededor de 5–10 g de la muestra previamente molida.
- Coloque la muestra en un horno a 105°C por un mínimo de 12 h.
- Deje enfriar la muestra en un desecador.
- Pese nuevamente cuidando de que el material no este expuesto al medio ambiente.

Cálculos

$$\text{Contenido de humedad (\%)} = 100(((B-A) - (C-A))/(B-A))$$

Donde:

A = Peso de la charolilla seca y limpia (g)

B = Peso de la charolilla + muestra húmeda (g)

C = Peso de la charolilla + muestra seca (g)

Proteína cruda.

Por su costo es este el nutriente más importante en la dieta en una operación comercial; su adecuada evaluación permite controlar la calidad de los insumos proteicos que están siendo adquiridos o del alimento que se está suministrando. Su análisis se efectúa mediante el método de Kjeldahl, mismo que evalúa el contenido de nitrógeno total en la muestra, después de ser digerida con ácido sulfúrico en presencia de un catalizador de mercurio o selenio.

a) Método simple propuesto por Chow et al. (1980)

Reactivos

- Oxido de mercurio, grado reactivo.
- Sulfato de potasio o sulfato de sodio anhidro, grado reactivo.
- Ácido sulfúrico (98%), libre de Nitrógeno.
- Parafina.
- Solución de hidróxido de sodio al 40%; disolver 400 g de hidróxido de sodio en agua y diluir a 1,000 ml.
- Solución de sulfato de sodio al 4%.
- Solución indicadora de ácido bórico; agregue 5 ml de una solución con 0.1% de rojo de metilo y 0.2% de verde de bromocresol a un litro de solución saturada de ácido bórico.
- Solución estándar de ácido clorhídrico 0.1N.

Materiales y Equipo:

- Unidad de digestión y destilación Kjeldahl.
- Matraces Kjeldahl de 500 ml.
- Matraces Erlenmayer de 250 ml.
- Perlas de ebullición.

Procedimiento

1. Pese con precisión de miligramos 1g de muestra y colóquelo en el matraz Kjeldahl; agréguele 10g de sulfato de potasio, 0.7g de óxido de mercurio y 20 ml de ácido sulfúrico concentrado.
2. Coloque el matraz en el digestor en un ángulo inclinado y caliente a ebullición hasta que la solución se vea clara, continúe calentando por media hora más. Si se produce mucha espuma, adiciónale un poco de parafina.
3. Deje enfriar; durante el enfriamiento adicione poco a poco alrededor de 90 ml de agua destilada y desionizada. Ya frío agregue 25 ml de solución de sulfato de sodio y mezcle.
4. Agregue una perla de ebullición y 80 ml de la solución de hidróxido de sodio al 40% manteniendo inclinado el matraz. Se formarán dos capas.
5. Conecte rápidamente el matraz a la unidad de destilación, caliente y colecte 50 ml del destilado conteniendo el amonio en 50 ml de solución indicadora.
6. Al terminar de destilar, remueva el matraz receptor, enjuague la punta del condensador y titule con la solución estándar de ácido clorhídrico.

Cálculos:

A = Ácido clorhídrico usado en la titulación (ml)

B = Normalidad del ácido estándar

C = Peso de la muestra (g)

Nitrógeno en la muestra (%) = $100[(A \times B)/C] \times 0.014$

Proteína cruda (%) = Nitrógeno en la muestra * 6.25

b) Método estándar MAFF (1982) para la determinación de proteínas en alimentos y sus ingredientes.

Reactivos:

- Oxido de mercurio.
- Sulfato de potasio o sulfato de sodio anhidro.
- Sacarosa.

- Zinc granulado.
- Granulado de piedra pomex lavada con ácido sulfúrico y quemada.
- Ácido sulfúrico concentrado ($d = 1.84 \text{ g/ml}$).
- Solución de hidróxido de sodio al 40 %.
- Solución saturada de sulfato de sodio.
- Solución de tiosulfato de sodio; 8g de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en 100ml.
- Solución de hidróxido de sodio 0.1N.
- Solución de hidróxido de sodio 0.25N.
- Solución de ácido sulfúrico 0.1N.
- Solución indicadora de rojo de metilo; disuelva 0.3 g de rojo de metilo en 100 ml de etanol (95–96 % V/V).
- Solución indicadora rojo de metilo-azul de metileno; (a) disuelva 0.2g de rojo de metilo en 100ml de etanol (95–96 % V/V) y (b) disuelva 0.1g de azul de metileno en 100ml de etanol (95–96 % V/V), mezcle un volumen de (a) con uno de (b).

Materiales y Equipo:

- Unidad de digestión y destilación Kjeldahl.
- Matraces Kjeldahl.

Procedimiento:

1. Pese 1g de muestra con aproximación de miligramos y pásela a un matraz Kjeldahl; adicione 10g de sulfato de potasio o sulfato de sodio, 0.6 – 0.7g de óxido de mercurio, 25 ml de ácido sulfúrico y unos pocos granos de piedra pomex.
2. Caliente el matraz moderadamente al principio, agitando ocasionalmente hasta que la materia este carbonizada y las burbujas hayan desaparecido, luego aumente la temperatura y permita que se establezca una ebullición suave. Evite que las paredes del matraz se sobrecalienten para que no se le peguen partículas orgánicas.
3. Cuando la solución se vea clara y sin color, continúe la ebullición por 2 horas más y luego permita que se enfríe. Si después de la digestión y del enfriamiento se cristaliza la solución repita el análisis; si sigue ocurriendo la cristalización repita el análisis usando una mayor cantidad de ácido sulfúrico.
4. Adicione con cuidado al matraz 250–350ml de agua destilada, mezclando el contenido al mismo tiempo; deje enfriar y agréguele unas lentejas de Zinc.
5. Transfiera 25 ml de solución de ácido sulfúrico 0.1 ó 0.5N al matraz de colecta del aparato de destilación, de acuerdo con el valor esperado de Nitrógeno en la muestra, así como unas cuantas gotas de indicador de rojo de metilo.
6. Tomando precauciones para evitar pérdida de amonio, adicione cuidadosamente a la muestra 100 ml de solución de hidróxido de sodio y luego 10 ml de solución de

sulfato de sodio o 25 ml de solución de tiosulfato de sodio. Mezcle bien y conecte inmediatamente al aparato de destilación.

7. Caliente el matraz de tal manera que se destilen alrededor de 150 ml del líquido en 30 min. Al finalizar, mida con papel indicador el pH del destilado resultante y si es alcalino continúe con la destilación, la cual se suspenderá cuando el pH aparezca neutro. Durante este proceso agite ocasionalmente el contenido del matraz. Si el destilado se torna alcalino, la determinación deberá ser abandonada y el análisis repetido con los ajustes apropiados.
8. En el matraz de colecta titule el exceso de ácido sulfúrico con hidróxido de sodio 0.1 ó 0.25N, de acuerdo con la normalidad del ácido empleado, al punto final del indicador de rojo de metilo o rojo de metilo-azul de metileno.
9. Corra un blanco de reactivos usando 1g de sacarosa en lugar de la muestra, para usarlo en el cálculo de los resultados.

Cálculos:

- a) Determine el H₂SO₄ consumido. 1 ml de ácido \approx 1.4mg de Nitrógeno.
- b) Calcule el porcentaje de Nitrógeno en la muestra y conviértalo a porcentaje de proteína multiplicando el resultado por 6.25.
- c) Si se sospecha de la presencia de Nitrógeno amoniacal o nitratos en la muestra, deberán ser evaluados para restarse del Nitrógeno total. Exceptuando los alimentos para rumiantes, se deberá evaluar el contenido de Nitrógeno no proteico y también substraerse del Nitrógeno total.

Lípidos crudos

En este método, las grasas de la muestra son extraídas con éter de petróleo y evaluadas como porcentaje del peso después de evaporar el solvente.

Reactivos, Materiales y Equipo:

- Eter de petróleo, punto de ebullición 40–60°C.
- Aparato de extracción Soxhlet.
- Horno de laboratorio ajustado a 105°C.
- Desecador.
- Dedales de extracción.

Procedimiento:

1. Saque del horno los matraces de extracción sin tocarlos con los dedos, enfríelos en un desecador y péselos con aproximación de miligramos.

2. Pese en un dedal de extracción manejado con pinzas, de 3 a 5g de la muestra seca con aproximación de miligramos y colóquelo en la unidad de extracción. Conecte al extractor el matraz con éter de petróleo a 2/3 del volumen total.
3. Lleve a ebullición y ajuste el calentamiento de tal manera que se obtengan alrededor de 10 reflujos por hora. La duración de la extracción dependerá de la cantidad de lípidos en la muestra; para materiales muy grasosos será de 6 horas.
4. Al término, evapore el éter por destilación o con rotovapor. Coloque el matraz en el horno durante hora y media para eliminar el éter. Enfríe los matraces en un desecador y péselos con aproximación de miligramos. La muestra desengrasada puede usarse para la determinación de fibra cruda.

Cálculos

A = Peso del matraz limpio y seco (g)

B = Peso del matraz con grasa (g)

C = Peso de la muestra (g)

Contenido de lípidos crudos (%) = $100((B - A)/C)$

Fibra cruda

Este método permite determinar el contenido de fibra en la muestra, después de ser digerida con soluciones de ácido sulfúrico e hidróxido de sodio y calcinado el residuo. La diferencia de pesos después de la calcinación nos indica la cantidad de fibra presente.

Reactivos:

- Solución de ácido sulfúrico 0.255N.
- Solución de hidróxido de sodio 0.313N, libre de carbonato de sodio.
- Antiespumante (ej. alcohol octil o silicona).
- Alcohol etílico al 95% (V/V).
- Eter de petróleo.
- Solución de ácido clorhídrico al 1% (V/V).

Materiales y equipo.

- Matraz de bola fondo plano, 600 ml, cuello esmerilado.
- Unidad de condensación para el matraz.
- Matraz Kitazato de un litro.
- Embudo Buchner.
- Crisol de filtración.
- Conos de hule.
- Papel filtro Whatman No. 541.
- Pizeta de 500 ml.

- Desecador.
- Horno de laboratorio.
- Mufla.

Método

1. Pese con aproximación de miligramos de 2 a 3 gramos de la muestra desengrasada y seca. Colóquela en el matraz y adicione 200ml de la solución de ácido sulfúrico en ebullición.
2. Coloque el condensador y lleve a ebullición en un minuto; de ser necesario adiciónele antiespumante. Déjelo hervir exactamente por 30 min, manteniendo constante el volumen con agua destilada y moviendo periódicamente el matraz para remover las partículas adheridas a las paredes.
3. Instale el embudo Buchner con el papel filtro y precaliéntelo con agua hirviendo.
4. Simultáneamente y al término del tiempo de ebullición, retire el matraz, déjelo reposar por un minuto y filtre cuidadosamente usando succión; la filtración se debe realizar en menos de 10 min. Lave el papel filtro con agua hirviendo.
5. Transfiera el residuo al matraz con ayuda de una pizeta conteniendo 200ml de solución de NaOH en ebullición y deje hervir por 30 min como en paso 2.
6. Precaliente el crisol de filtración con agua hirviendo y filtre cuidadosamente después de dejar reposar el hidrolizado por 1 min.
7. Lave el residuo con agua hirviendo, con la solución de HCl y nuevamente con agua hirviendo, para terminar con tres lavados con éter de petróleo. Coloque el crisol en el horno a 105°C por 12 horas y enfríe en desecador.
8. Pese rápidamente los crisoles con el residuo (no los manipule) y colóquelos en la mufla a 550°C por 3 horas, déjelos enfriar en un desecador y péselos nuevamente.

Cálculos

A = Peso del crisol con el residuo seco (g)

B = Peso del crisol con la ceniza (g)

C = Peso de la muestra (g)

Contenido de fibra cruda (%)= $100((A - B)/C)$

Recomendaciones

Uno de los problemas más frecuentes durante la evaluación de la fibra cruda es la oclusión de los filtros, por lo que en algunos casos se recomienda sustituir el papel (paso 4 del método) por una pieza de tela de algodón. Para evitar la saturación del crisol de filtración (paso 6) colóquelo ligeramente inclinado y agregue muy lentamente el material a filtrar, de manera que gradualmente se vaya cubriendo la superficie filtrante.

Con el uso los crisoles de filtración tienden a taparse. Para su limpieza calcínelos a 500°C y hágalos pasar agua en sentido inverso. Cuando se han tapado con partículas minerales, prepare una solución que contenga 20% KOH, 5% de Na₃PO₄ y 0.5% de EDTA sal sódica, caliéntela y hágala pasar por el crisol en sentido inverso. Este tratamiento erosiona al filtro de vidrio.

Ceniza

El método aquí presentado se emplea para determinar el contenido de ceniza en los alimentos o sus ingredientes mediante la calcinación. Se considera como el contenido de minerales totales o material inorgánico en la muestra.

Materiales y equipo.

- Crisoles de porcelana.
- Mufla.
- Desecador.

Procedimiento

1. En un crisol de porcelana que previamente se calcinó y se llevó a peso constante, coloque de 2.5 a 5g de muestra seca.
2. Coloque el crisol en una mufla y calcínelo a 550°C por 12 horas, deje enfriar y páselo a un desecador.
3. Cuidadosamente pese nuevamente el crisol conteniendo la ceniza.

Cálculos

A = Peso del crisol con muestra (g)

B = Peso del crisol con ceniza (g)

C = Peso de la muestra (g)

Contenido de ceniza (%) = $100((A - B)/C)$

Extracto Libre de Nitrógeno (ELN)

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.

Cálculo

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 (%)

Correcciones

Debido a que los análisis normalmente se hacen con muestras preparadas para tal fin, es necesario realizar ciertas correcciones en los resultados para que reflejen el contenido real de nutrientes en el material en las condiciones en que se usará.

a) Humedad

Si los análisis se efectuaron en base seca (BS), esto es material deshidratado, es necesario corregir el resultado para expresarlo en base húmeda (BH), tal como se encuentra en el alimento o material para su elaboración, mediante la siguiente expresión:

A = Contenido de nutriente (%/BS)

B = Contenido de humedad de el material (%)

Contenido de nutriente (%/BH) = $(A \times ((100 - B)/100))$

b) Lípidos

Cuando se usa material desengrasado, por ejemplo en el análisis de fibra cruda, se aplica una expresión similar a fin de obtener un valor representativo de la muestra:

A = Contenido de fibra (desengrasada, %)

B = Contenido de lípidos en el material (%)

Contenido de fibra ajustado (%) = $(A \times ((100 - B)/100))$

Determinación del Contenido Celular

Los nutrientes más aprovechables se encuentran encerrados por la pared celular y pueden agruparse bajo el nombre de contenido celular. Esta fracción incluye proteína, carbohidratos solubles, minerales solubles y los lípidos. Un valor porcentual alto del contenido celular es también indicio del alto valor nutritivo en un alimento. El contenido celular equivale al valor resultante de la diferencia entre el porcentaje de paredes celulares y 100.

Calculo:

Contenido celular (%) en base seca:

100 – contenido de paredes celulares (%) en base seca.

Ejemplo:

% de paredes celulares en base seca = 59.3%

Entonces: $100 - 59.3 = 40.7$ contenido celular, base celular.

Conversión con base “tal como ofrecido”: (sirve para otros componentes también)

$$\frac{\text{Componente en base seca, \%}}{100} \times \frac{\text{materia seca \% “tal como ofrecido”}}{100} \times 100$$

Ejemplo:

Materia seca “tal como ofrecida” = 89.3

Entonces: $\frac{40.7}{100} \times \frac{89.3}{100} \times 100 = 36.3\%$ contenido celular “tal como ofrecido”.

Bibliografía

- Bustos Morales, N. (2016). *StuDocu*. Obtenido de <https://www.studocu.com/co/document/universidad-de-pamplona/quimica-analitica/informe/analisis-quimico-proximal/4409335/view>
- Díaz Inocencio, D. (Septiembre de 2017). *Universidad Veracruz*. Obtenido de <https://www.uv.mx/pozarica/cba/files/2017/09/MANUAL-DE-BROMATOLOGIA-2017.pdf>
- Laredo Covarrubias, M. (1979). *AgroSavia*. Obtenido de <https://repository.agrosavia.co/handle/20.500.12324/23661>
- Olvera Novoa, M., Martínez Palacios, C., & Real de León, E. (Mayo de 1993). *fao.org*. Obtenido de <http://www.fao.org/3/AB489S/AB489S00.htm#TOC>