

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"

DIVISION DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE NUTRICION ANIMAL

LABORATORIO DE PRINCIPIOS DE NUTRICION ANIMAL

CLAVE: NUA 403 (95,96)

CARRERA: INGENIERO AGRONOMO ZOOTECNISTA.

FECHA DE ELABORACION: MAYO 1995

PROGRAMA ELABORADO POR: DAVID RODRIGUEZ MALTOS.

Las prácticas que se realizarán en el curso de Principios de Nutrición Animal, tienen como objetivo que el estudiante encaminado a la Zootecnia, comprenda la necesidad de analizar forrajes y alimentos, con el propósito de entender mejor la Nutrición y alimentación de los animales y el hombre.

INTRODUCCION

El estudio de los alimentos, es un tema complejo y la manera de estudiarlos es subdividiendolos en partes. La bromatología forma parte de esas subdivisiones, en la cuál se trata el estudio y conocimiento de los alimentos antes de ser ingeridos por el animal.

El conocimiento y estudio de los alimentos y en general la buena alimentación es uno de los puntos fundamentales de la Nutrición Animal ; El análisis bromatológico o proximal se efectúa con un mínimo de tres submuestras :

La primera se somete a calentamiento (100-110°C) para determinar su humedad. (Su complemento que es la materia seca, se calcula por diferencia) ; posteriormente se calcina (500-600°C) para determinar la materia mineral. Su diferencia se considera materia orgánica.

A una segunda submuestra se les somete al análisis de proteína cruda (P.C) , que representa el Nitrógeno total liberado en una digestión química.

A la última muestra se le somete a una extracción con un disolvente orgánico que arrastra el llamado extracto etéreo o grasa cruda y que comprende los aceites, las grasas y otros materiales liposolubles como los pigmentos. Al material sobrante se le expone a una digestión ácida seguida de una alcalina, quedando como remanente la llamada fibra cruda.

Al restar de 100 lo anteriormente determinado (H, C, PC, EE y FC) se obtiene una diferencia a la que se denomina ELN (Extracto libre de Nitrógeno) y que abarca principalmente a los glúcidos solubles (almidones, peptinas etc).

CONTENIDO

- I.- MANEJO DE LA BALANZA ANALITICA
- II.-CONTENIDO DE AGUA Y MATERIA SECA PARCIAL DE LOS ALIMENTOS
- III.- DETERMINACION DE MATERIA SECA TOTAL
- IV.- DETERMINACION DE CENIZA Y MATERIA ORGANICA
- V.- DETERMINACION DE NITROGENO TOTAL (METODO MACRO KJELDAHL)
- VI.-DETERMINACION DE EXTRACTO ETereo O GRASAS
(METODO SOXLHET)
- VII.- DETERMINACION DE FIBRA CRUDA
- VIII.- DETERMINACION DE EXTRACTO LIBRE DE NITROGENO

I.- MANEJO DE LA BALANZA ANALITICA

La balanza analítica como su nombre lo indica no es una balanza normal sino un equipo de precisión que se debe manejar con un cuidado extremo.

La balanza debe de existir en cualquier laboratorio donde se maneje la precisión. Debe estar localizada en un lugar adecuado de preferencia cerrado, donde no exista ningún movimiento, ni siquiera del aire. Comúnmente se observa que durante el pesado de materiales no es correcto que varias personas se encuentren alrededor de la persona que se encuentra pesando, esto provoca una cierta presión de aire que puede resultar un error en el peso que se está efectuando. Es recomendable para disminuir el error que sólo una persona pese.

En seguida se presentan algunas recomendaciones para el uso de la balanza analítica, la cual le será de gran utilidad en la realización de sus prácticas.

I.- Antes de pesar asegúrese que la balanza se encuentre perfectamente limpia y equilibrada, esto es indicado en el momento que se acciona el botón de encendido aparecerá la escala electrónica 0-0.

II.- La balanza tiene tres perillas las cuales se deben mover lentamente para evitar que las pesas se caigan y ocasionar que la balanza se desequilibre.

III.-Al efectuar una pesada primero coloque el material sobre el platillo de la balanza manteniendo el botón de encendido, apagado con cuidado coloque el peso por medio de las perillas tratando que este movimiento sea lento si en la escala aparece un signo - quiere decir que le falta peso y si aparece un signo + le sobra peso.

IV.- Cada vez que se efectuó un cambio de peso la balanza debe de estar apagada.

V.- Cuando se termine de pesar, apague la balanza con cuidado mueva las perillas y colóquelas en 0.

CUESTIONARIO

- 1.- Mencione que tipos de balanzas son más utilizadas en los laboratorios.
- 2.- Porqué la balanza analítica es llamada de precisión y exactitud.
- 3.- Que tipo de error ocasiona que se encuentren varias personas alrededor de la persona que está pesando.
- 4.-¿Mencione porqué se debe manejar la balanza con precaución?

II CONTENIDO DE AGUA Y MATERIA SECA PARCIAL

Todos los alimentos contienen cantidades de agua que varían de 10-90% por lo que también varía la concentración de sus nutrientes es de gran importancia conocer la cantidad de agua que un alimento o insumo contiene ya que esté es un factor importante en su conservación. Se considera humedad al agua contenida o impregnada en los alimentos es el componente más simple de analizar ya que se determina por desecación mediante evaporación sometiendo la muestra a 65-70°C durante 24 horas, las plantas en crecimiento pueden contener un 70-80% de agua a este tipo de muestras se les determina Materia seca parcial.

MATERIA SECA

La materia seca, no es más que la muestra a la que se le ha extraído el agua por acción del calor. Esta constituida por una porción susceptible de quemarse ya que está constituida por sustancias que contienen Carbono o materia orgánica y que constituye a dar energía al alimento, la otra porción incombustible se encuentra formada por sustancias que no pueden quemarse y que los residuos que forman son cenizas cuando se someten a calcinación.

MATERIA SECA PARCIAL

El método más utilizado para determinar materia seca parcial es el de la eliminación de agua libre por medio del calor de circulación seguida por la determinación del peso del residuo, esta técnica se basa en someter a los insumos o alimentos a temperaturas entre 60-65°C la temperatura se regula para efectuar un secado máximo y para evitar un mínimo de pérdidas de sustancias volátiles y otras que se descomponen.

EQUIPO

- 1.-Estufa con circulación de aire caliente.
- 2.-Charolas o bolsas de papel grueso perforadas.
- 3.-Balanza
- 4.-Tijeras.

PROCEDIMIENTO

- 1.-Caliente el horno 60-65°C
- 2.- Perfore su bolsa de papel.
- 3.- Pese su bolsa de papel perforada.
- 4.-Corte su muestra en pedazos de 1.5 cm aproximadamente excepto la raíz, coloque la muestra dentro de la bolsa y pese.
- 5.- Coloque la bolsa de la muestra en la estufa durante 12 -14 hrs.
- 6.- Saque la muestra de la estufa y enfríela a temperatura ambiente.
- 7.- Pese su bolsa con la muestra.

MATERIA SECA PARCIAL

DATOS

| | |
|----------------------------------|--|
| 1.-Peso de la bolsa | |
| 2.-Peso de la bolsa +Mtra Fresca | |
| 3.-Peso de la bolsa +Mtra seca | |

CALCULOS

$$\%MSP = \frac{\text{Peso de la muestra seca}}{\text{Peso de la muestra total}} \times 100$$

CUESTIONARIO

- 1.- ¿Que es materia seca parcial?
- 2.- ¿A que temperatura y por cuanto tiempo se deja la muestra en la estufa para determinar MSP?
- 3.- ¿Cuál es el proceso físico mediante el cual se determina MSP?
- 4.- ¿A qué tipo de muestras se les determina MSP?
- 5.- ¿Qué tipo de horno se necesita para MSP?

MATERIA SECA TOTAL

La Materia seca total se obtiene mediante la evaporación total de la humedad a una temperatura que varía entre 100-105 C . Este método determina el agua contenida en los alimentos.

EQUIPO:

- 1.-Estufa de aire de temperatura de 80-200 C.
- 2.-Crisoles de porcelana.
- 3.-Pinzas para crisol.
- 4.-Espátula de acero inoxidable.
- 5.-Desecador.
- 7.-Balanza Analítica.
- 8.- Molino Wiley con criba de mm.

PROCEDIMIENTO

- 1.- La muestra completamente seca se muele en el Molino Wiley, cada vez que se utilice debe limpiarse, su muestra molida colóquela en un frasco limpio y seco e identifíquela.
- 2.- Colocar los crisoles en la estufa a 80-110 C durante 24 hrs para que estén a peso constante.
- 3.- Con las pinzas sacar con cuidado los crisoles de la estufa y colocarlos en el desecador enfriar durante 10 minutos y pesar.
- 4.- Pesar dos gramos de muestra y colocarlos en el crisol.
- 5.- Colocarlos en la estufa durante 12 hrs o durante toda la noche.
- 6.- Sacar el crisol con las pinzas colocarlo en el desecador y enfriar, y pesar.

MATERIA SECA TOTAL

DATOS

| | |
|------------------------------------|--|
| 1.- Número de Crisol | |
| 2.- Peso de crisol sólo | |
| 3.- Peso de crisol + muestra | |
| 4.- Peso del crisol + Mtra Seca | |

CALCULOS

$\%MST = \frac{\text{Peso del crisol + Muestra} - \text{Peso del crisol vacío}}{\text{Gramos de muestra}} \times 100$

$\%H = 100 - \%MST$

*Nota Cuando a las muestras se les determina MSP la humedad total de la muestra se calcula multiplicando

$\%MSP \times \%MST / 100$

CUESTIONARIO

- 1.-¿Cuál es el período de tiempo para determinar MST a un forraje?
- 2.-¿ A que temperatura se usa la estufa para MST ?
- 3.-¿ Porqué proceso físico se determina MST?

CENIZAS

El término de cenizas se refiere que queda de la combustión total de una muestra de alimento. Las cenizas no contienen Carbono y están formadas por diversas sustancias minerales. La porción incombustible (cenizas) se determina quemando la porción combustible mediante una elevada temperatura (calcínación) que puede ser de 500-600 C.

EQUIPO

- 1.- Mufla 550-600 C
- 2.- Crisol de porcelana.
- 3.- Desecador.
- 4.- Pinzas.
- 5.- Balanza Analítica.

PROCEDIMIENTO

- 1.- Preincinerar en el mechero la muestra de Materia seca contenida en el crisol hasta que la muestra se quemé.
- 2.- Colocar en la mufla durante 2-3 hrs.
- 3.- Sacar con las pinzas, colóquelo en el desecador y enfríe durante 15 minutos y pese.

DATOS

| | |
|----------------------------------|--|
| No. Crisol | |
| Peso del crisol solo | |
| Peso del crisol +Muestra seca | |
| Peso del crisol + Cenizas | |

CALCULOS

$$\% C = \frac{\text{Peso del crisol} + \text{Cenizas} - \text{Peso crisol Solo}}{\text{gramos de muestra}} \times 100$$

$$\% \text{ Materia Orgánica} = \% \text{ Materia Seca Total} - \% \text{ Cenizas}$$

Para ajustar sus datos en base a Materia Seca total dividir su % Cenizas entre su % MST y multiplicar X100.

CUESTIONARIO

- 1.-¿ A que nos referimos cuando decimos cenizas ?
- 2.-¿Porque las cenizas no proporcionan energía al alimento ?
- 3.- ¿ Por cuál proceso físico se determina cenizas?
- 4.- ¿ La porción incombustible de la muestra de que esta compuesta?
- 5.-¿ La porción combustible está constituida por dos grupos cuales son?

PROTEINA CRUDA O BRUTA

EL término o adjetivo de bruto o cruda , es para indicar que no son determinaciones de entidades químicas, puras ,sino que además se obtienen otros compuestos que no son estrictamente proteínas. Se le denomina proteína cruda porque no solo se determinan proteínas sino también compuestos nitrógenados que no son estrictamente proteínas. Las proteínas son compuestos nitrogenados que están integrados por cadenas de aminoácidos que son necesarios para realizar las funciones fisiológicas del animal.

El principio básico de este método se basa en la conversión del nitrógeno de las sustancias nitrogenadas en amonio.

MATERIAL Y EQUIPO

- 1.- Matraz kjeldhal de 800 ml.
- 2.- Aparato de digestión y destilación kjeldahl.
- 3.- Matraz erlenmeyer 500ml.
- 4.- Bureta.
- 5.- Acido Sulfúrico 0.1N
- 6.- Hidróxido de Sodio 45%.
- 7.- Acido Bórico 4%.
- 8.- Indicador mixto.
- 9.- Agua destilada.
- 10.- Mezcla de Selenio.
- 11.- Perlas de vidrio
- 12.- Acido Sulfúrico Concentrado.

PROCEDIMIENTO

- 1.- Pese 1 gramo de muestra (previamente molida)
- 2.- Coloque la muestra en el matraz kjeldhal.
- 3.- Agreguele 1 cucharada de mezcla de Selenio (catalizador)
- 4.- Agregue 6-7 perlas de vidrio.
- 5.- Agréguele 30 ml de ácido sulfúrico concentrado.
- 6.- Coloque el matraz en el digestor kjeldhal, encienda la parrilla entre 4-5, encienda el motor aspirador de gases, hasta que la muestra cambie de color café oscuro a verde claro.
- 7.- Enfríe el matraz, colóquelo en la llave del agua con cuidado agréguele 300 ml de agua destilada.
- 8.- En el matraz erlenmeyer agregue 50 ml de ácido bórico, añada 5-6 gotas de indicador mixto, coloque la manguera del destilador kjeldhal dentro del matraz.
- 9.- Agite el matraz kjeldhal para que se disuelva la muestra, abra la llave del agua coloque el matraz con cuidado, procurando no agitar el matraz agregue lentamente por las paredes del matraz 110 ml de Hidróxido de Sodio al 45%, añada 6-7 granallas de Zinc, con cuidado llévelo al aparato de destilación kjeldhal, colóquelo en la parte de arriba, encienda la parrilla, abra la llave del agua, reciba hasta 300ml, retire primero el matraz erlenmeyer de la manguera, apague la parrilla, para evitar que la muestra se succione y se regrese al matraz kjeldhal.
- 10.- Corra un blanco (Sin muestra) y siga los pasos 2-9.

CUESTIONARIO

- 1.- ¿ Químicamente que son las grasas?
- 2.-¿ Que tanta energía produce las grasas comparadas con los carbohidratos y a qué se debe esto?
- 3.- ¿Porqué se llama Extracto Etereo?
- 4.- ¿ A parte de los lípidos que otras sustancias se extraen durante la determinación de E.E?

FIBRA CRUDA

Químicamente la fibra cruda corresponde a la lignina y a la celulosa, es decir a los glúcidos insolubles en el agua que resisten a la acción hidrolítica de los ácidos y álcalis, con esto se trata de imitar la digestión ácida del estómago y la digestión alcalina del intestino. Esta fracción esta determinada o integrada por la celulosa y otros hidratos de carbono insolubles o que no se disuelven fácilmente.

MATERIALES Y REACTIVOS

- 1.- Digestor de Labconco
- 2.- Vasos Berzelius de 600 ml
- 3.- Acido sulfúrico 0.255 N
- 4.- Hidróxido de Sodio 0.313N
- 5.- Agua destilada
- 6.- Filtros de tela
- 7.- Embudos de vidrio

PROCEDIMIENTO

- 1.- Pese 2 g de su muestra desengrasada, colóquela en el vaso Bersellius.
2. Agregue 100 ml de Acido sulfúrico 0.255 N.
- 3.- Abra la llave del digestor labconco, encienda la parrilla 2-3.5 coloque el vaso.
- 4.- A partir de que la muestra empiece a hervir se toma el tiempo de 30 minutos.
- 5.- Caliente agua destilada , coloque el filtro sobre el embudo filtre su muestra y lave con agua caliente.
- 6.- Por medio de una espátula vacíe su muestra en el vaso , agregue 100 ml de Hidróxido de Sodio 0.313 N a partir de que empiece a hervir tome el tiempo de 30 minutos.
- 7.- Retire su muestra, filtrela y lavéla con agua caliente con las pinzas saque un crisol de la estufa, por medio de una espátula retire la muestra y colóquela en el crisol.
- 8.- Deje el crisol en la estufa durante 12 hrs.
- 9.- Saque el crisol de la estufa con las pinzas ,colóquelo en el desecador enfríe y pese.
- 10.- Coloque su crisol en la mufla durante 2hrs, enfríe en el desecador durante 10 minutos y pese.

REACTIVOS Y EQUIPO

- 1.- Aparato extractor tipo soxlhet.
- 2.- dedales de asbesto
- 3.-Matraces bola fondo plano boca esmerilada
- 4.- Estufa
- 5 .- Pinzas
- 6.- Estufa
- 7.- Balanza Analítica
- 8.- Desecador
- 9.- Hexano o éter anhidro
- 10.-Perlas de vidrio
- 11.-Papel filtro
- 12.-Dedales de asbesto
- 13.- Aparato Soxlhet
- 14.- Algodón

PROCEDIMIENTO.

- 1.- Los matraces bola de fondo plano con tres perlas de vidrio se colocan en la estufa durante 12 hrs para que estén a peso constante.
- 2.-En un papel filtro pese 4 g de muestra (molida) colóquela en el dedal de asbesto doblando con cuidado el papel que contiene la muestra.
- 3.- Con las pinzas saque con cuidado un matraz bola de fondo plano colóquelo en el desecador durante 10 minutos, enfríe y pese el matraz.
- 4.- Agregue al matraz 250 ml de hexano.
- 5.- Coloque el dedal en el sifón soxlhet, junto con el matraz bola al refrigerante, encienda la parrilla y abra la llave del agua, déjelo 16 hrs sifoneando.
- 6.- Con cuidado retire el dedal con pinzas, recupere el solvente coloque su matraz en la estufa déjelo 12 hrs ,ságuelo enfrielo y pese.

DATOS

| | |
|-------------------------|--|
| Número de dedal | |
| Peso de la Muestra | |
| Número de matraz | |
| Peso del matraz vacío | |
| Peso del matraz + grasa | |

CALCULOS

$$\%EE = \frac{\text{Peso del matraz + Grasa} - \text{Peso del matraz vacío} \times 100}{\text{Gramos de muestra}}$$

Para ajustar su %EE en base a materia seca total se divide entre %MST y se multiplica X100.

DATOS

| | |
|--|--|
| Número de matraz kjeldhal | |
| Mililitros de Acido Sulfúrico gastados en el blanco. | |
| Mililitros de Ac, gast en la muestra. | |
| Normalidad del ácido. | |

CALCULOS

$$\%N = \frac{(Ml \text{ de Ac Mtra} - ml \text{ de ac Blanco}) \times 0.014 \times N \text{ Ac} \times 100}{\text{gramos de muestra}}$$

N= Normalidad del ácido sulfúrico

0.014= miliequivalente de Nitrógeno

1 eq de Nitrógeno pesa 14 g/eq= 14/1000= miliequivalente.

%PC= %N x 6.25

El 6.25 resulta de dividir 100 entre 16 que es el porcentaje de Nitrógeno que tienen algunos alimentos.

CUESTIONARIO

- 1.-¿Qué es una proteína?
- 2.-¿Cuál es la concentración del ácido sulfúrico para la determinación de proteínas?
- 3.-¿Porqué se le llama proteína cruda o bruta?
- 4.-¿ Porqué se Multiplica el N x 6.25?
- 5.-Dé el nombre de 3 suplementos proteicos de origen animal.
- 6.- Dé el nombre de 3 suplementos proteicos de origen vegetal.
- 7.- De el nombre de 5 aminoácidos esenciales, y 5 no esenciales para bovinos.

EXTRACTO ETereo O GRASA

La grasa cruda es otro de los componentes químicos que representa la grasa y que algunas veces se les denomina extracto etéreo. La grasa cruda está formada principalmente por lípidos y por otras sustancias que no lo son, pero que son solubles con ciertos solventes de las grasas.

AL realizar el análisis de extracto etéreo, no solamente se encuentran en este las grasas y aceites, sino otros compuestos como las vitaminas liposolubles, pigmentos, fosfolípidos, glicolípidos, proteolípidos, ceras, parafinas y xantofilas. El compuesto que más se emplea en la extracción de extracto etéreo es el hexano que mediante el calor extrae los compuestos solubles hasta que la muestra se seca.

DATOS

| | |
|------------------------------------|--|
| Peso de muestra | |
| Número de Crisol | |
| Peso de crisol + Muestra seca | |
| Peso de crisol + Muestra (cenizas) | |

CALCULOS

$$\%F.C = \frac{\text{Peso del crisol} + \text{Muestra Seca} - \text{Peso de crisol} + \text{cenizas}}{\text{gramos de muestra desengrasada}} \times 100$$

Para ajustar sus datos de % F.C en base a Materia Seca total divide entre su %MST y multiplique X 100.

CUESTIONARIO

- 1.- ¿Químicamente qué es la fibra cruda ?
- 2.- ¿ Porqué en la determinación de F.C. se realiza una digestión ácido y una alcalina ?
- 3.- ¿Qué es la celulosa?
- 4.- ¿Qué es la Lignina?
- 5.-¿ A qué concentraciones deben utilizarse el ácido y el hidróxido?
- 6.-¿ Porqué es importante la determinación del porcentaje de lignina?.

EXTRACTO LIBRE DE NITROGENO

En realidad no se determina por análisis en el laboratorio, sino que se calcula por diferencia. EL E.L.N. que comprende los azucares, el almidón y gran parte del material clasificado como hemicelulosa. El E.L.N. se obtiene sumando los porcentajes de agua, ceniza, grasas , proteínas y Fibra cruda y se resta de 100 partes de muestra analizada. El E.L.N. es necesario para realizar el cálculo del total de nutrientes digestibles (TND)

DATOS

| | |
|------------------|--|
| %Humedad | |
| %Cenizas | |
| %Extracto Etereo | |
| % Proteína Cruda | |
| % Fibra Cruda | |

CUESTIONARIO

- 1.- ¿Químicamente qué es el E.L.N.?
- 2.- ¿Porqué no se considera el E.L.N un valor exacto?
- 3.-¿Cuántos carbonos tiene la celulosa?
- 4.-¿Porqué método se puede determinar lignina?
- 5:-¿Cuál es el proceso para determinar E.L.N?

BIBLIOGRAFIA

Tejada de H.I 1985.- Manual de laboratorio para análisis de ingredientes utilizados en la alimentación animal.