

	UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER OCAÑA			
	<small>Documento</small> FORMATO HOJA DE RESUMEN PARA TRABAJO DE GRADO	<small>Código</small> F-AC-DBL-007	<small>Fecha</small> 10-04-2012	<small>Revisión</small> A
	<small>Dependencia</small> DIVISIÓN DE BIBLIOTECA	<small>Aprobado</small> SUBDIRECTOR ACADEMICO		<small>Pág.</small> i(57)

RESUMEN – TRABAJO DE GRADO

AUTORES	JOSE EFRAIN SALCEDO PAREDES		
FACULTAD	FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE		
PLAN DE ESTUDIOS	PROGRAMA DE ZOOTECNIA		
DIRECTOR	CESAR AUGUSTO URON CASTRO		
TÍTULO DE LA TESIS	DESCRIPCION DE LA METODOLOGIA DEL SISTEMA WEENDE UTILIZADA EN LABORATORIO, PARA EL ANALISIS DE ALIMENTOS PARA ANIMALES		
RESUMEN (70 palabras aproximadamente)			
<p>UNO DE LOS PROBLEMAS QUE ACARREA LA OPTIMIZACIÓN DE LOS PROCESOS DE ANÁLISIS QUÍMICO DE ALIMENTOS, ES LA LIMITACIÓN Y FALTA DE CONOCIMIENTO ACERCA DE LAS TÉCNICAS, QUE CONDICIONAN LA COMPRENSIÓN DE LA CALIDAD DE LAS FUENTES ALIMENTICIAS, YA QUE EN NUESTRA REGIÓN NO SE CUENTA CON LA FACILIDAD DE LLEVAR A CABO ESTUDIOS DE LAS PROPIEDADES DE LOS ALIMENTOS.</p>			
CARACTERÍSTICAS			
PÁGINAS: 57	PLANOS:	ILUSTRACIONES:	CD-ROM: 1



VÍA ACOLSURE, SEDE EL ALGODONAL, OCAÑA N. DE S.
Línea Gratuita Nacional 018000 121022 / PBX: 097-5690088
www.ufpso.edu.co



**DESCRIPCION DE LA METODOLOGIA DEL SISTEMA WEENDE UTILIZADA
EN LABORATORIO, PARA EL ANALISIS DE ALIMENTOS PARA ANIMALES**

JOSE EFRAIN SALCEDO PAREDES

Trabajo de grado presentado para optar el título de Zootecnista

Director

CESAR AUGUSTO URON CASTRO

MSc. (c) Zootecnista

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER OCAÑA

FACULTAD DE CIENCIAS ARARIAS Y DEL AMBIENTE

PROGRAMA DE ZOOTECNIA

Ocaña, Colombia

Noviembre de 2016.

Índice

Capítulo 1.....	1
Descripción de los métodos de laboratorio utilizados en el análisis de alimentos para animales. .	1
1.1 Planteamiento del problema	1
1.2 Formulación del problema	2
1.3 Objetivos	2
1.3.1 General.....	2
1.3.2 Específicos.....	2
1.4 Justificación.....	3
1.5 Delimitación	4
1.5.1 Operativa	4
1.5.2 Conceptual	4
1.5.3 Geográfica	4
1.5.4 Temporal:.....	4
Capítulo 2. Marco referencial	5
2.1 Marco teórico	5
2.1.1 Aspectos generales sobre análisis de alimentos para animales	5
2.1.2 Muestreo de alimentos.....	7
2.1.3 Conservación y limpieza de las muestras	9
2.1.4 Preparación de la muestra.....	10
2.1.5 Análisis químico	11
2.1.6 Métodos de análisis químico o proximal de alimentos en laboratorio	13
2.2 Marco conceptual	14
2.2.1 análisis bromatológico.....	14
2.2.2 digestibilidad	14
2.2.3 Contenido de materia seca en muestras de alimento.	14
2.2.4 Ceniza.	15
2.2.5 Forraje.....	15
2.2.6 Aditivo:.....	15
2.2.7 Ensilado	16
2.2.8 Suplemento.....	16

2.3 Marco legal.....	16
Capítulo 3. Diseño Metodológico	19
3.1 Tipo de investigación	19
3.1.1 Descriptiva	19
3.2 Localización	19
3.3 Metodología de trabajo.....	19
3.4 Recolección de información.....	20
3.5 Resultados de la investigación	20
3.5.1 Determinación de materia seca.....	21
3.5.2 Determinación de Cenizas	25
3.5.3 Determinación de Proteína bruta	27
3.5.4 Determinación de extracto etéreo	33
3.5.5 Determinación de fibra bruta.....	36
Capítulo 4. Conclusiones	41
Capítulo 5. Recomendaciones.....	43
Referencias.....	45

Lista de Figuras

Figura 1. Principales componentes de los alimentos de origen vegetal y animal.	5
Figura 2. Descripción de los tipos de análisis por el Sistema Weende	10

Capítulo 1. Descripción de los métodos de laboratorio utilizados en el análisis de alimentos para animales.

1.1 Planteamiento del problema

La nutrición, es la disciplina que estudia el consumo de alimento, los procesos de ingestión, absorción, transporte y utilización de los nutrientes hacia las células; estos nutrientes provienen de las diferentes materias primas utilizadas para la confección de suplementos alimenticios para los animales; para el estudio de estos nutrientes, esta rama se apoya la mayoría de veces en los métodos utilizados hoy día para analizar alimentos destinados a la nutrición animal, estas técnicas se basan en el Sistema Weende, desarrollado hace más de 140 años por investigadores alemanes. (*Mizubuti, et al. 2009*). En Colombia al igual que Brasil esta técnica es muy utilizada y conlleva a la misma finalidad, la poca diferencia existente se debe al criterio de estandarización del personal capacitado a cargo en cada región.

Sin embargo en Colombia estos estudios son llevados a cabo por Instituciones de Educación Superior y CORPOICA, entes reconocidos que cuentan con la estructura física, talento humano capacitado y equipos específicos para tal fin; pero muchas veces el acceso a estas prácticas se limita debido a que no todas las instituciones cuentan con la favorabilidad de tener un laboratorio de nutrición animal, con las especificaciones para desarrollar dichos procesos.

Debido a la necesidad de adquirir conocimientos y poner en práctica las técnicas y metodologías usadas para el análisis de alimentos, se hace necesaria la exploración de la manera en la cual instituciones como la universidad estadual de Londrina en Brasil, desarrollan sus investigaciones en el área zootécnica, en relación al análisis de calidad de alimentos para

animales; aprovechando la oportunidad brindada por la institución antes mencionada para desarrollar en su laboratorio de nutrición la metodología de análisis.

El conocimiento de estas técnicas de análisis de alimentos, repercute en soluciones para mejorar la calidad de la investigación, adelantada en proyectos relacionados a la nutrición y alimentación animal.

1.2 Formulación del problema

¿Contribuirá a la adquisición de conocimientos en el ámbito investigativo y al desarrollo y mejoramiento de competencias pedagógicas, la descripción y estudio de la metodología de laboratorio por el Sistema Weende, utilizada en el análisis proximal de alimentos para animales?

1.3 Objetivos

1.3.1 General

Describir la metodología del Sistema Weende utilizada en el laboratorio de nutrición para el análisis de alimentos para animales.

1.3.2 Específicos

Recopilar información sobre la metodología usada en el análisis de alimentos para animales por el Sistema Weende.

Desarrollar los métodos de análisis de alimentos por el Sistema Weende tales como: materia seca, ceniza, extracto etéreo, fibra bruta y proteína en el laboratorio de nutrición animal de la universidad estadual de Londrina, Brasil.

Estudiar cada una de las técnicas de laboratorio utilizadas en el Sistema Weende para análisis bromatológicos de alimentos para animales.

1.4 Justificación

Uno de los problemas que acarrea la optimización de los procesos de análisis químico de alimentos, es la limitación y falta de conocimiento acerca de las técnicas, que condicionan la comprensión de la calidad de las fuentes alimenticias, ya que en nuestra región no se cuenta con la facilidad de llevar a cabo estudios de las propiedades de los alimentos.

Por lo anterior, el adelanto de prácticas de análisis de alimentos, facilita el aprendizaje de nuevos conocimientos que luego podrán ser replicados en el desempeño profesional del zootecnista, contribuyendo al buen desarrollo de su trabajo, porque no solo se aprende sino que se generan ideas que sirven de apoyo para desarrollar actividades de tipo investigativo.

Con la implementación de estas prácticas y conocimientos, se complementa la formación académica, permitiendo afianzar el trabajo del profesional, incorporando hábitos y destrezas teórico-prácticas, logrando con esto mayor experiencia.

1.5 Delimitación

1.5.1 Operativa: El cumplimiento de los objetivos del siguiente estudio puede ser afectado por factores como la falta de información precisa acerca del tema tratado o que esta información sea muy antigua. De surgir en el desarrollo del trabajo algún inconveniente que amerite modificaciones significativas, estas serán consultadas con el director y comunicadas al Comité Curricular.

1.5.2 Conceptual: La presente descripción está enmarcada en los siguientes conceptos: análisis bromatológicos, métodos de análisis de alimentos para animales, suplemento, nutrición.

1.5.3 Geográfica: El trabajo se realizó en las instalaciones del laboratorio de nutrición animal de la Universidad Estadual de Londrina, ubicada en el estado de Paraná, municipio de Londrina, República Federal de Brasil.

1.5.4 Temporal: La realización del proyecto tiene una duración de veintiocho (28) semanas, tiempo en el cual se muestran resultados.

Capítulo 2. Marco referencial

2.1 Marco teórico

2.1.1 Aspectos generales sobre análisis de alimentos para animales

Los alimentos son compuestos o productos comestibles que cuando los animales los ingieren, pueden ser digeridos y sus nutrientes absorbidos y metabolizados.

Generalmente, los alimentos utilizados por los animales son clasificados en alimentos voluminosos (verdes y secos) y concentrados (proteicos y energéticos). Estos pueden ser de origen vegetal o animal. Los animales dependen de esos alimentos para su sobrevivencia. Por tanto, es lógico que el estudio de la nutrición animal deba comenzar por el estudio de la composición de los alimentos. Todos los alimentos de origen vegetal o animal poseen la composición representada en la figura 1 (*Mizubuti, et al. 2009*).

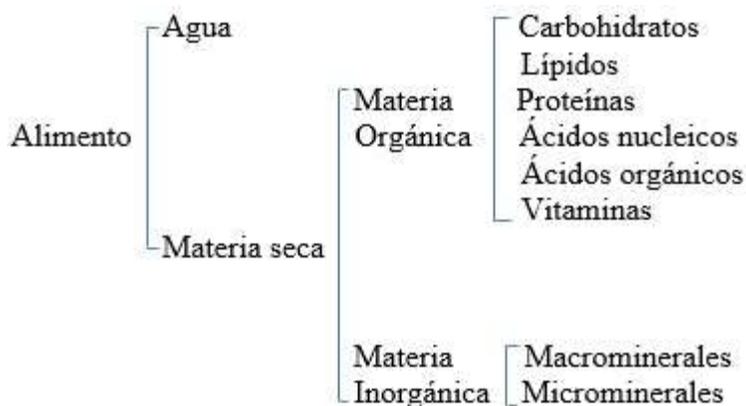


Figura 1. Principales componentes de los alimentos de origen vegetal y animal. Adaptada del manual de análisis de alimentos para animales de la Universidad Estadual de Londrina, Brasil.

La composición del alimento puede ser presentada en términos de peso húmedo o verde, y peso libre de humedad, tales como: peso seco al aire (secado a 60°C) y en base seca (materia seca a 105°C).

Dependiendo del nutriente analizado, se pueden utilizar diferentes formas de expresión como: porcentaje de peso o volumen, gramos por litro y partes por millón (ppm). Las vitaminas pueden ser medidas en microgramos por 100 gr o 100 ml y en unidades internacionales (UI). A medida que surgen nuevos conceptos sobre métodos analíticos, surgen también nuevos grupos de expresiones.

La mejor literatura sobre métodos analíticos está dada por el manual de la AOAC - *Association of Official Analytical Chemists – Official Methods of Analysis*, que, más allá de

técnicas analíticas, incluye recomendaciones sobre terminología y unidades a ser utilizadas en los resultados de análisis.

2.1.2 Muestreo de alimentos

El muestreo del alimento es una etapa muy importante en el proceso de análisis. La muestra debe ser siempre representativa de todo el material a ser analizado y su obtención no siempre es fácil de realizar, por tanto se debe tener en consideración los análisis que serán realizados. Por ejemplo: se utilizan en promedio 0,2 gr de muestra para la determinación de nitrógeno (N) por el método de micro Kjeldahl y esta cantidad muchas veces es usada para estimar el contenido de proteína de un pasto en un área extensa y con alto rendimiento de materia verde. Se debe entonces tener cuidado al momento del muestreo, considerando la extensión del pasto, estado fisiológico de la planta, altura de colecta y otros factores para que ésta sea representativa y los resultados sean significativos.

Las muestras para análisis deben tener peso suficiente para responder a todas las determinaciones. Las muestras de gramíneas obtenidas de varios locales en un pasto deben tener peso medio de 200 a 500 gr de material húmedo cada una. En 200 gr de material verde, por ejemplo, está contenido en promedio, de 40 a 50 gr de material seco, que representa alrededor de 200 a 250 veces la muestra de 0,2 gr requerida para la determinación de proteína por el método Kjeldahl. Esas muestras obtenidas de varios locales pueden ser sometidas a análisis separadamente, o pueden ser mezcladas, formando una única muestra compuesta para análisis.

Cuando se obtiene la muestra compuesta, pueden cometerse algunos errores, tales como: error en la mezcla, antes y después de seleccionar la submuestra, y errores en el tamaño y en la proporción de esta.

Considerando la dificultad al mezclar materiales de diferentes tamaños, se recomienda en el caso de gramíneas, estas sean cortadas en tamaños de 2,5 a 5,0 cm. Después de homogenizar, retirar la muestra compuesta, que debe ser seca, molida y cernida en tamiz de 1mm.

En el caso de muestreo de alimentos concentrados (granos), las muestras deben ser retiradas de varios bultos o varios locales, si estuvieran almacenados en cantidad sin empaque, las submuestras deben ser bien mezcladas y una cantidad representativa debe ser retirada y conservada para análisis. De manera general, cuando se tienen hasta 10 bultos de concentrado, todos deberán ser muestreados. De 11 a 20 bultos, se deberán muestrear 10 aleatoriamente, o en torno al 50% del material. Encima de 20 bultos se debe muestrear, lo mínimo el 10% de todos. Para materiales almacenados a granel, se debe hacer muestreos de cerca de 20 locales diferentes y mezclar bien las submuestras, para después retirar una muestra representativa. Muestras homogéneas pesando 250 gr generalmente son suficientes para los análisis de rutina.

Muestreos mal hechos o falta de atención en la colecta de muestras, es la mayor fuente de errores en el análisis químico, llevando a resultados no esperados. Una atención rigurosa en el muestreo define la exactitud del análisis.

Las muestras destinadas a análisis físico-químicos deben ser enviadas a los laboratorios debidamente embalados, en sus empaques originales o en recipientes limpios e íntegros para

evitar modificaciones en sus características originales. Siempre que sea posible, esas muestras deben ser acompañadas de un relatorio adicional, conteniendo información que ayude al analista en las determinaciones requeridas. En este relato deben estar contenidas informaciones, tales como: fecha de la colecta y motivo de la presentación; si fuese el caso, origen de la muestra y fecha de producción o adquisición; tipo y duración de almacenaje; nombre y dirección del fabricante o propietario; cantidad disponible después de la colecta o cantidad restante de pasto, raciones, sales minerales y similares (*Mizubuti, et al. 2009*).

2.1.3 Conservación y limpieza de las muestras

Toda muestra debe ser conservada en condiciones adecuadas, sobre todo si el análisis de laboratorio no fuese realizado inmediatamente después de la colecta. El contenido de humedad de la muestra debe ser controlado, pues, en exceso, ocasiona variación en la composición del alimento. El nivel de humedad aceptado para la mayoría de los alimentos concentrados o secos es de hasta el 10%. Sin embargo, algunos subproductos de leche, como leche en polvo y suero de leche en polvo, deben ser mantenidos con menos de 2% de humedad porque se deterioran fácilmente.

Generalmente, el material verde después de recogido, debe ser colocado en bolsas plásticas y transportado inmediatamente para el laboratorio, evitando la pérdida de humedad. Una vez en el laboratorio, se deberá hacer el presecado y el almacenamiento adecuado de la muestra. En el caso de forrajes verdes, heces, orina y otros, si los análisis no son procesados inmediatamente, estas deben ser conservadas en congelador a temperaturas que varíen entre -5 y -10°C.

Antes de proceder al análisis, se debe verificar si la muestra posee algún material extraño. Es común que muestras de materiales vegetales, principalmente pasto, estén contaminadas con tierra, estiércol, fertilizantes químicos y otros materiales extraños. Es necesario remover el material contaminante y proteger la muestra contra posteriores contaminaciones.

Toda muestra contaminada se debe limpiar, evitándose, sin embargo el lavado. El proceso de lavado rápido es apenas aceptado en casos de raíces con mucha contaminación.

2.1.4 Preparación de la muestra

Las muestras deben ser previamente preparadas para proceder al análisis propiamente dicho. El método preparatorio escogido debe estar de acuerdo con el constituyente a ser determinado. Por ejemplo, cuando se determinan cenizas, no hay necesidad de la destrucción previa de enzimas hidrolíticas, más en la determinación de nitrógeno y carbohidratos, es necesario que ocurra esa destrucción.

La acción enzimática puede ser detenida por el secado a 60°C. Una destrucción rápida de la enzima ocurre cuando se calienta la muestra a 80°C/10 min. Antes de secarla a 60°C. Otra forma de impedir la acción enzimática es el blanqueamiento, mediante la inmersión de la muestra en agua hirviendo o alcohol caliente. Esos tratamientos impiden la acción enzimática, aunque a veces, no sean compatibles con los análisis requeridos porque el calor y algunos solventes pueden afectar otros constituyentes.

De manera general, las muestras son sometidas a secado (60°C) y a molienda. Cuando se tienen forrajes verdes, raíces y tubérculos, estos deben ser inicialmente sometidos a una trituración previa, grosera y en seguida, sometidos a molienda fina para obtener un polvo fino por medio de tamizado en malla de 20 – 30 perforaciones por pulgada lineal (*Mizubuti, et al. 2009*).

2.1.5 Análisis químico

El análisis de los alimentos tiene como objetivo el conocimiento de la composición química y puede ser realizada por medio de muchos métodos analíticos.

Ningún método analítico puede ser considerado único o el mejor método. El analista debe siempre experimentar nuevos métodos y compararlos con aquellos que utiliza.

La composición química determinada en laboratorio de nutrición animal es realizada comúnmente por los sistemas de Weende y de Van Soest. (*Adaptado de técnicas de análisis físico – químico de alimentos. 2007*).

Sistema de Weende

El sistema de Weende es un conjunto de métodos analíticos que fue desarrollado en la estación experimental de Weende en Alemania y ha sido utilizado desde 1864 para el análisis aproximativo de los alimentos. Las técnicas analíticas sufrieron pocas modificaciones, con

excepción del nitrógeno, cuya determinación es hecha conforme al método Kjeldahl (AOAC, 1990 a, b).

Los análisis ofrecen informaciones de algunos componentes nutritivos y son realizados conforme a lo esquematizado en la **figura 2**.

Las determinaciones rutinarias por el sistema Weende ofrecen los contenidos (o fracciones) de humedad, proteína bruta, grasas o extracto etéreo, fibra bruta, extracto no nitrogenado y cenizas o materia mineral.

Esas fracciones son consideradas aproximativas porque contienen otros compuestos afines. Por ejemplo, en la fracción de proteína bruta están contenidos todos los compuestos nitrogenados (proteicos y no proteicos), bien como en la fracción de extracto etéreo, están contenidos todos los compuestos solubles en éter.

De la misma forma, la fracción de fibra bruta incluye celulosa y solamente la lignina insoluble en álcali. La lignina soluble en álcali y la hemicelulosa hacen parte de la fracción extracto no nitrogenado, exactamente con almidón, pectina y carbohidratos solubles. Del punto de vista nutricional, estas informaciones son insatisfactorias, dependiendo del animal al que se destina el alimento. El sistema Van Soest parece complementar las informaciones necesarias.

El sistema de Weende es criticado por muchos investigadores por presentar resultados aproximados. Sin embargo, es ampliamente utilizado y de alguna forma, también estimulado

porque reúne la mayoría de los requisitos legales para aprobación de productos alimenticios. En Brasil y en otros países, ocurre la exigencia de la presentación de niveles mínimos y máximos de los componentes alimenticios para liberación de productos como raciones para comercialización.

El hecho es que, después de casi 150 años de utilización, el sistema de Weende continua activo y reconocido en todos los laboratorios de nutrición del mundo.

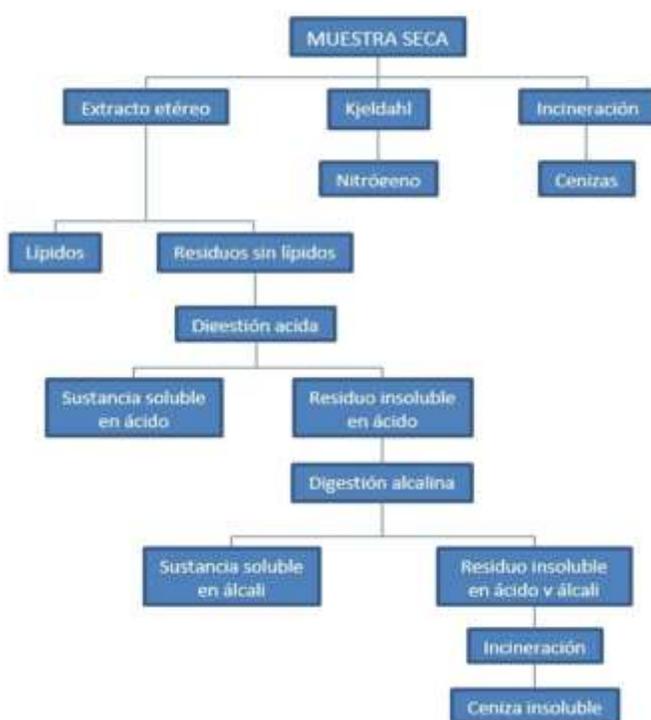


Figura 2. Descripción de los tipos de análisis por el Sistema Weende.

Fuente: Bateman, 1970.

2.1.6 Métodos de análisis químico o proximal de alimentos en laboratorio

Por el análisis químico o proximal se obtienen cinco principios nutritivos: materia seca, cenizas, proteína bruta, extracto etéreo o grasa bruta y fibra cruda (UCO, 2006).

2.2 Marco conceptual

2.2.1 análisis bromatológico. La bromatología es la disciplina científica que estudia íntegramente los alimentos, y a la cual le aportan otras áreas como la química, física y la biología. Con la bromatología se pretende hacer el análisis químico, físico, higiénico (microorganismos y toxinas), hacer el cálculo de las dietas en las diferentes especies y ayudar a la conservación y el tratamiento de los alimentos (CID, J. M. 2013).

2.2.2 digestibilidad. Es la capacidad que tiene un animal de degradar una materia prima y hacerla asimilable al organismo. Sencillamente es lo que el animal aprovecha de lo que consume (Mejía, L. M. 2013).

2.2.3 Contenido de materia seca en muestras de alimento. Según la FAO (1976), el contenido de materia seca de muestras de alimento y otros materiales es expresado en tres formas: como alimento, parcialmente seco y seco. Las definiciones de estos términos son:

Como alimento: se refiere al alimento tal como es consumido por el animal; términos similares: seco al aire, como se recibió, fresco, verde, húmedo. (Adaptado de módulo de recursos forrajeros. 2009).

Parcialmente seco: se refiere a una muestra “como alimento” que ha sido secada en un horno (usualmente con aire forzado), comúnmente a una temperatura de 60°C, o secada por congelación y equilibrada con el aire; la muestra después de esos procesos contendrá usualmente más de 88% de materia seca (12% de humedad); algunos materiales son preparados en esta

forma y así ellos pueden ser muestreados, analizados y almacenados. Este análisis es reconocido como “% de materia seca parcial de una muestra como alimento”. Término similar: secado al aire. (*Serna, L. y López, S. 2010*).

Seco: se refiere a una muestra de material que ha sido secada a 105°C, hasta que toda la humedad ha sido eliminada. Términos similares, 100% de materia seca; libre de humedad. Si la materia seca es determinada (en un horno a 105°C) a una muestra “como alimento”, se reconoce como “materia seca de una muestra como alimento”. Si la materia seca se determina en una muestra parcialmente seca, ésta es reconocida como “materia seca de una muestra parcialmente seca”. (*Serna, L. y López, S. 2010*).

2.2.4 Ceniza: residuo mineral remanente después de incinerar el material combustible. (*Magrama. 1997*).

2.2.5 Forraje: material vegetal aéreo, primariamente pastos y leguminosas, que contienen más de 18% de fibra cruda en base seca, usados como alimento animal. El término usualmente se refiere únicamente a materiales vegetales como pastura, rastrojo, ensilados y alimentos verdes picados (*Torres, 2010*).

2.2.6 Aditivo: es un ingrediente o combinación de ingredientes, adicionados usualmente en pequeñas cantidades, a la mezcla básica de alimento o a partes de ésta, para satisfacer una necesidad específica (*AAFCO, 2000*).

2.2.7 **Ensilado:** Preservado mediante el ensilaje, un proceso en el cual partes de plantas finamente cortadas, son envasadas en una cámara cerrada donde se lleva a cabo una fermentación ácida que retarda la descomposición (FAO, 2004).

2.2.8 **Suplemento:** es un alimento usado con otro para mejorar su balance nutritivo. Este puede ser proporcionado sin diluir como un suplemento para otros alimentos, ofrecido a libre elección con otras partes de la dieta disponibles por separado, o mezclado con otros ingredientes alimenticios para producir un alimento completo (FAO, 1976).

2.3 Marco legal

El Artículo 65 (*Constitución Política de Colombia. 1991*), establece que la producción de alimentos gozará de la especial protección del estado. Para tal efecto se otorgará prioridad al desarrollo integral de las actividades agrícolas, pecuarias, pesqueras, forestales y agroindustriales, así como también a la construcción de obras de infraestructura física y a la adecuación de tierras.

De igual manera el estado promoverá la investigación y la transferencia de la tecnología para la producción de alimentos y materias primas de origen agropecuario, con el propósito de incrementar la productividad.

La *Ley N° 6198 (MAPA. 1974)* de la legislación brasilera, en su artículo primero dispone sobre la inspección y la fiscalización obligatoria de los productos destinados a la alimentación animal, estas serán efectuadas en todo el territorio nacional, desde la producción hasta la

comercialización y en el artículo segundo establece que la inspección y la fiscalización referidas en el art. 1º, a cargo del Ministerio de Agricultura, tendrán en cuenta los aspectos industrial, bromatológico e higienico-sanitario.

El *Decreto N° 01698 (Instituto Colombiano Agropecuario ica 2000)* de la legislación colombiana dicta disposiciones sobre productores de alimentos para animales con destino al autoconsumo. Para efectos del presente decreto se establecen las siguientes definiciones:

Productor para autoconsumo. Toda persona natural o jurídica que contando con planta de producción y los procesos pertinentes, se dedique a la fabricación de alimentos completos y concentrados, con destino exclusivo a la alimentación de sus animales; **Alimentos para animales.** Son mezclas de nutrientes elaborados en forma tal que respondan a requerimientos de cada especie, edad y tipo de explotación a que se destina el animal, bien sea suministrándolos como única fuente de alimento o como complemento de otras fuentes nutricionales. El Registro de productores de alimentos para animales con destino al autoconsumo se establece en el artículo segundo, el cual dispone que toda persona natural o jurídica que contando con planta de producción y los procesos pertinentes se dedique a la fabricación de alimentos completos y concentrados, con destino exclusivo a la alimentación de sus animales, debe registrarse en el Instituto Colombiano Agropecuario ica.

El *Decreto N° 57284 (MAPA. 1965)* de la legislación brasilera aprueba el reglamento de inspección industrial, bromatológica e higiénica de productos destinados a la alimentación de los animales domésticos en el artículo 1 quedando aprobado el reglamento de inspección

industrial, bromatológica e higiénica de productos destinados a la alimentación de los animales domésticos, en anexo al decreto mencionado.

Mediante la *resolución N° 002050 (ica. 2005)* de la legislación colombiana, en su artículo 1° se adoptan los manuales de técnicas analíticas, procedimientos y operación de equipos de laboratorio nacional de insumos pecuarios LANIP.

A través de la *resolución 1056 (ica. 1996)* de la legislación colombiana (artículo 26) se establecen los requisitos que deben cumplir los laboratorios, para realizar el control de calidad de insumos pecuarios.

La legislación brasilera en la *instrucción normativa N° 13 (MAPA. 2004)* artículo 1° aprobó la regulación técnica sobre aditivos para productos destinados a la alimentación animal, según las buenas prácticas de fabricación, conteniendo los procedimientos sobre evaluación de la seguridad de uso, registro y comercialización.

Capítulo 3. Diseño Metodológico

3.1 Tipo de investigación

Para este trabajo se tiene en cuenta el tipo de investigación descriptiva.

3.1.1 Descriptiva: En un estudio descriptivo se seleccionan una serie de conceptos o variables y se mide cada una de ellas independientemente de las otras, con el fin, precisamente, de describirlas. (*Ureña, F. 2012*).

3.2 Localización

La universidad estadual de londrina se encuentra situada entre 23 ° 08'47" y 23 ° 55'46" de latitud sur y entre los 50 ° 52'23" y 51 ° 19'11" al oeste de Greenwich, localizada en el municipio de Londrina, Paraná. Brasil. Con una altitud media de 610 m.s.n.m. clima subtropical, temperatura ambiente promedio de 22 °C y precipitación total media anual de 1300 mm.

3.3 Metodología de trabajo

La duración del trabajo fue de 7 meses (28 semanas).

Desde el momento de llegada a la Universidad Estadual de Londrina, se inició con un recorrido de reconocimiento por las instalaciones del laboratorio de Nutrición Animal, y se comenzó con la realización de toma de muestras de materias primas (granos y forrajes), para análisis bromatológicos; partiendo del secado de las muestras, molido y pesado en balanza analítica de las mismas, dependiendo del tipo de análisis a realizar (materia seca, proteína,

cenizas, extracto etéreo, fibra bruta). Este trabajo se realizó en horario de lunes a viernes de 08:00 am – 12:00 m y 02:00 pm – 05:00 pm.

3.4 Recolección de información

Para la realización de esta investigación de trabajo de grado, se propuso el desarrollo de tres etapas, las cuales contienen tareas y actividades que permitieron secuencialmente ir cumpliendo los objetivos específicos y finalmente la culminación del proyecto. Las etapas en las que se divide el proyecto son: - Primera etapa: Análisis preliminar. Para desarrollar esta etapa se realizó una consulta bibliográfica de manuales existentes, bibliografía asociada, legislación técnica colombianas y brasilera y otros documentos. La revisión consiste en: Describir los métodos de análisis de alimentos por el Sistema Weende, los análisis sugeridos para cada alimento, equipos y reactivos para su ejecución, las necesidades académicas del área de nutrición. - Segunda etapa: Estructurar el documento con base en el análisis anterior, proponiendo que contenga las siguientes técnicas: determinación de materia seca, cenizas, proteína bruta, extracto etéreo y fibra bruta. - Tercera etapa: diseño final e impresión del documento. Al finalizar el cumplimiento de todas las etapas anteriores se imprimirá el documento con los puntos propuestos en la primera etapa (adaptado de *Obando, R. 2007*).

3.5 Resultados de la investigación

De acuerdo a lo planteado en el trabajo, se relacionan las prácticas de laboratorio por el Sistema Weende o análisis proximal de alimentos.

3.5.1 Determinación de materia seca

El conocimiento del contenido de materia seca de un alimento es posible por la eliminación del contenido de agua por medio del pre secado y/o secado definitivo. Los alimentos contienen agua en forma libre, que sirve como medio de dispersión para coloides o solventes para los cristaloides, y combinada con otros componentes tales como los polisacáridos, proteínas y diversas sales. El método más común para determinar la materia seca es la eliminación de agua libre por medio de calor, seguida de la determinación del peso del residuo. Este método indirecto puede ser hecho en 2 etapas, pre secado y secado definitivo, realizándose inicialmente, un secado a 60°C y posteriormente a 105°C. Generalmente, se usa un secado en 2 etapas para alimentos con alto contenido de humedad, como forrajes y ensilajes. Alimentos con bajo contenido de humedad, como granos de leguminosas (soya, guisante, guandul y otros) y cereales (maíz, trigo, sorgo y otros) pueden ser molidos y sometidos directamente a secado definitivo. Todo procedimiento analítico debe ser realizado en triplicado. El contenido de materia seca de los alimentos permite la comparación de muestras de distintos laboratorios o de diversos años de producción y diferentes tipos de alimentos en una misma base, pues es la porción de materia seca que contienen los nutrientes. Por lo tanto, el conocimiento de la cantidad de un nutriente contenido en la materia seca de un alimento puede ser comparado con otro alimento de características físicas diferentes.

Materiales y equipos

Balanza analítica.

Estufa de secado con circulación forzada de aire, regulada a 60°C (+/- 5°C).

Estufa de secado regulada a 105°C.

Desecadores.

Pesa filtros o pesa sustancias (crisoles).

Pinzas y espátulas.

Procedimiento analítico

- Pre secado o muestra seca al aire (MSA)

Pesar el material verde en la balanza con precisión de 0,1 gr y colocarlo en un recipiente propio, previamente pesado. Es recomendable el uso de bandejas confeccionadas con tela o bolsas de papel perforados para permitir la circulación de aire a través de la muestra.

Colocar en la estufa con circulación forzada de aire, regulada a 60°C (más o menos 5°C).

Después de 2 o 3 días, retirar la muestra de la estufa; dejar enfriar durante cerca de 1 hora en temperatura ambiente o hasta que la humedad de la muestra entre en equilibrio con la humedad del aire, y pesar. Ese material es llamado de muestra pre-seca o muestra seca al aire (MSA).

$$\% \text{ MSA} = \frac{\text{Peso de la muestra pre-seca}}{\text{Peso de la muestra verde}} \cdot 100$$

- Secado definitivo o muestra seca en la estufa (MSE)

Numerar y estandarizar los crisoles, colocarlos en la estufa a 105°C/4 horas (numerar para evitar que sean cambiados). Dejar enfriar en el desecador (con silica) hasta alcanzar la temperatura ambiente y pesar, anotando los pesos (tarar).

Pesar de 3 a 5 gr de muestra pre-seca (MSA) (ensilaje o forrajes) y triturada, en balanza analítica con precisión de 0,0001 gr en el crisol, previamente tarado.

Colocar en estufa regulada a 105°C /4 horas. Cuando se trabaja con una gran cantidad de muestras, se pueden dejar en la estufa durante una noche.

Enseguida, retirar de la estufa los crisoles con la muestra ya seca y colocarlos en el desecador con silica, dejando enfriar más o menos 1 hora y pesar nuevamente, siempre usando pinza. La diferencia entre los pesajes debe ser inferior al 1% y esta operación debe ser hecha para verificar la constancia de peso.

Cuando se realice análisis de secado definitivo y de cenizas, se puede pesar el material directo en los crisoles de porcelana; después del procedimiento para determinación del secado definitivo, se incineran los crisoles para determinar las cenizas. Este procedimiento tiene la ventaja de ganar tiempo, aprovechando el material pesado para M.S, (se puede utilizar la misma planilla para anotaciones).

$$\% \text{ materia seca definitiva} = \frac{\text{Peso de la muestra seca en estufa } 105^{\circ}\text{C}}{\text{Peso de la muestra}} \cdot 100$$

$$\% \text{ materia seca de forrajes y ensilajes} = \frac{(\% \text{ materia seca definitiva} \times \% \text{ materia pre-seca})}{100}$$

$$\text{Humedad} = 100 - \% \text{ materia seca}$$

Cálculo

Ejemplo de cálculo de la determinación de pre secado o muestra seca al aire (MSA), de secado definitivo o muestra seca en la estufa (MSE) y de materia seca (MS) total de un forraje:

- Pre secado o muestra seca al aire (MSA)

Peso del material verde: 320,30 gr.

Peso del material pre seco (después de secado a 60°C): 144,50 gr.

$$\% \text{ MSA} = 144,50 \text{ gr} / 320,30 \text{ gr} * 100$$

$$\% \text{ MSA} = 45,11$$

- Secado definitivo o muestra seca en estufa (MSE)

Peso del crisol vacío: 39,7000 gr.

Peso del crisol + muestra: 43,5624 gr.

Peso de la muestra: 3,8624 gr.

Peso del crisol + muestra seca a 105°C: 43,1406 gr.

Peso de la muestra seca (43,1406-39,7000): 3,4406 gr.

$$\% \text{ secado definitivo: } 3,4406 \text{ gr} / 3,8624 \text{ gr} * 100$$

$$\% \text{ secado definitivo: } 89,08$$

- Materia seca total del forraje

$$\% \text{ MS} = (0,8908 * 0,4511) * 100$$

$$\% \text{ MS} = 40,18$$

- Humedad del forraje

$$\% \text{ H} = 100 - 40,18$$

$$\% \text{ H} = 59,82$$

3.5.2 Determinación de Cenizas

Las cenizas están consideradas, de forma general, como el residuo inorgánico de una muestra que se obtiene al incinerar la muestra seca a 550°C – 600°C durante 4 horas. Están constituidas por óxidos, carbonatos, fosfatos y sustancias minerales.

El residuo obtenido (cenizas) es generalmente considerado como una medida del contenido mineral del alimento original.

En alimentos utilizados en nutrición animal, como forrajes, raciones completas, granos y subproductos diversos, es común usar de 1 a 2 gr de muestra. Sin embargo, algunas variaciones en los pesajes no traen problemas para el análisis y no interfieren en los resultados.

Materiales y equipos

Estufa a 105°C.

Crisoles de porcelana con capacidad aproximada de 50 ml.

Mufla, con temperatura controlada a 600°C.

Pinzas y espátulas.

Balanza analítica.

Desecador.

Procedimiento analítico

Cuando son nuevos, los crisoles de porcelana se deben colocar vacíos en la mufla calentada a 550 – 600°C, durante 15 a 20 minutos para quemar. Si los crisoles ya fueron usados, es suficiente colocarlos en la estufa a 105°C durante 30 a 60 minutos, para estandarizarlos.

Después, se deben retirar y enfriarlos en el desecador, durante aproximadamente 1 hora. Pesar los crisoles vacíos y anotar los respectivos pesos (tarar).

Pesar de 1 a 2 gr de muestra. (El peso de la muestra a ser analizada depende del grado de riqueza del elemento mineral a ser investigado).

Proceder a incinerar en la mufla a 600°C durante 4 horas. Las cenizas han de presentar un color blanquecino. De lo contrario, la muestra es sospechosa de contener todavía materia orgánica.

Apagar la mufla y esperar que la temperatura sea reducida por lo menos a la mitad o un tercio. Retirar los crisoles y enfriarlos en el desecador durante 1 hora y hacer los pesajes.

Si se desea, se pueden aprovechar las muestras de materia seca ya realizadas, colocarlas en la mufla a 600°C durante 4 horas, retirarlas cuando esta tenga una temperatura mínima de 200°C, enfriarlas en el desecador, pesar y anotar los pesos.

Calculo

$$\begin{array}{l} \% \text{ materia mineral} \\ \text{o cenizas} \end{array} = \frac{(\text{peso del crisol} + \text{cenizas}) - \text{peso del crisol vacío}}{\text{peso de la muestra seca (gr)}} * 100$$

3.5.3 Determinación de Proteína bruta

La Proteína Bruta o Materias Nitrogenadas Totales (MNT) se determinan mediante el método Kjeldahl que data de 1883. Como consecuencia de su estructura a base de aminoácidos individuales, el contenido de nitrógeno de las proteínas varía sólo entre unos límites muy estrechos (15 a 18% y como promedio 16%). Para la determinación analítica del contenido en proteína total o “proteína bruta”, se determina por lo general el contenido de nitrógeno tras eliminar la materia orgánica con ácido sulfúrico, calculándose finalmente el contenido de proteína con ayuda de un factor (en general 6,25).

Determinándose el contenido de nitrógeno de la muestra, este se multiplica por el factor de corrección.

$$\% \text{ de proteína} = \% \text{ de N} * 6,25$$

En el tratamiento Kjeldahl de alimentos no se determinan sólo proteínas o aminoácidos libres, sino también ácidos nucleicos y sales de amonio.

Este método se divide básicamente en tres etapas: digestión, destilación y titulación, y determina el contenido de nitrógeno en la materia orgánica, incluyendo nitrógeno proteico y compuestos no nitrogenados, tales como: amidas, aminas, lecitinas, nitrilos y aminoácidos. El contenido de nitrógeno no proteico presente en las plantas esta alrededor del 23 al 30% y varia con el estadio de crecimiento, nivel de fertilización y variedad, entre otros factores.

La determinación de la proteína y otros compuestos nitrogenados tiene, como principio, su descomposición por ácido sulfúrico bajo calentamiento y producción de sulfato de amonio. Este sulfato en la presencia de una solución concentrada de hidróxido de sodio, libera NH_3 que es captado en solución en solución de ácido bórico. Este amoniaco en solución de ácido bórico y titulado con ácido sulfúrico o clorhídrico, de título conocido, para determinar el contenido de nitrógeno total.

El método Kjeldahl es de uso internacional y comúnmente utilizado para comparación con otros métodos. Es de reconocida universalidad, alta precisión y buena reproductividad, por lo que es el mejor método para determinación de proteína en los alimentos. Su desventaja está en el

hecho de no ofrecer una medida del contenido de proteína verdadera, más allá de trabajar con ácido sulfúrico concentrado, en alta temperatura, que libera gases tóxicos.

Materiales y equipos

Balanza analítica.

Bloque digestor.

Set de destilación.

Bureta automática.

Tubos de ensayo.

Pipetas.

Erlenmeyer.

Espátulas.

Ácido sulfúrico concentrado.

Catalizador.

Solución de hidróxido sódico (50%).

Ácido bórico con indicador.

Ácido clorhídrico valorado (0,02 N).

Procedimiento analítico

La determinación de nitrógeno, por el método micro Kjeldahl es dividido y descrito en 3 etapas a seguir (digestión, destilación y titulación).

- 1ª etapa: Digestión

Encender el bloque digestor verificando el voltaje correcto del aparato.

Preparar las muestras conforme a lo indicado (si son muestras sólidas o líquidas).

No se debe aumentar bruscamente la temperatura del bloque, puede ocurrir pérdida de muestra tanto líquida como sólida.

La digestión termina cuando la muestra este ionizada y reverdecida (cuando este caliente), o ionizada y azulosa (cuando este fría). El tiempo de digestión varía conforme al tipo de muestra. Generalmente dura 4 horas.

Terminada la digestión, apague el bloque digestor.

Esperar que los tubos de ensayo se enfríen y transferirlos para la gradilla de soporte de tubos y posteriormente realizar la destilación.

En caso que haya la necesidad de continuar la digestión de nuevas muestras, siempre esperar el enfriamiento del bloque digestor.

- Para muestras sólidas:

Pesar cerca de 0.2 gr de muestra sobre papel vegetal previamente pesado (tarado) y colocar junto con el papel de pesaje en el tubo de digestión. En caso de que la muestra contenga alto nivel de proteína, la cantidad de muestra pesada deberá ser de 0.1 gr. Colocar en el tubo de ensayo 1,2 gr de mezcla digestora y 5 ml de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado.

Agitar cuidadosamente el tubo para mezclar la muestra.

Iniciar el calentamiento solamente cuando la muestra este lista y colocada en el bloque digestor. La temperatura del bloque debe iniciar más o menos en 100°C y debe aumentar gradualmente de forma automática, hasta alcanzar los 400°C.

- Para muestras líquidas:

Pipetear, con ayuda de una pipeta volumétrica, 2 ml de muestra y colocar en el tubo de ensayo. Adicionar los catalizadores, en las mismas cantidades que la muestra sólida.

Agitar cuidadosamente el tubo para mezclar la muestra.

Iniciar el calentamiento solamente cuando la muestra este lista y colocada en el bloque digestor. La temperatura del bloque debe iniciar más o menos en 100°C y debe aumentar gradualmente de forma automática, hasta alcanzar los 400°C.

- 2ª etapa: Destilación

Observar el nivel de agua del balón de generación de vapor, debe estar encima del sensor o marca de nivel mínimo. Completar siempre que sea necesario durante el procedimiento de destilación. Cerrar la llave de paso de soda.

Encender el aparato destilador, verificando el voltaje de la red eléctrica.

Abrir la llave de agua para que circule en el condensador.

Conectar un tubo de ensayo con 20 ml de agua destilada, en el lugar de encaje, y un Erlenmeyer en el soporte de abajo del condensador y girar el dial de resistencia hasta 7/8 para calentamiento del agua del generador de vapor, esperando a que hierva.

Diluir la muestra que está en el tubo de digestión, con 15 ml de agua destilada.

Girar el dial para cero, para parar el calentamiento.

Colocar un Erlenmeyer de 125 ml, conteniendo 10 ml de ácido bórico al 2%, en el soporte de abajo del condensador, cuidando para que el borde final del condensador sea inmerso en la solución.

Colocar el tubo de ensayo con la muestra digerida y diluida en el lugar de encaje.

Adicionar NaOH 50% en el embudo o tolva medidora de soda (la llave debe estar cerrada).

Abrir la llave del medidor de soda lentamente (gota a gota) y adicionar NaOH 50% en el tubo digestor hasta neutralizar.

Observación, la muestra neutralizada debe quedar con un color azul oscuro o marrón oscuro.

Una vez terminada la neutralización, esperar la formación de vapor y coleccionar cerca de 50 ml de destilado.

Retirar el Erlenmeyer (con líquido destilado de coloración verde claro).

Retirar el tubo digestor con cuidado (tubo caliente con solución caustica).

Limpiar el aparato para la siguiente destilación, cada muestra debe tener 3 réplicas.

- 3ª etapa: Titulación

Preparar una bureta con capacidad de 50 ml o más, conteniendo H_2SO_4 a 0,02 N, factorizado.

Titular directamente el Erlenmeyer en que fue coleccionado el destilado.

Cerciórese de que la punta de la bureta este dentro del Erlenmeyer. Introducir la solución de titulación lentamente, agitando constantemente para asegurar la mezcla. Disminuir el volumen de cada adicción conforme la titulación vaya dándose y cuando este cerca al punto final debe hacerse gota a gota. Esperar más o menos unos 30 segundos cuando el color final se haya mantenido y anotar el volumen gastado de la bureta.

El punto final de la titulación será indicado por la mudanza de color de la solución para rosado.

Cálculo

$$\text{Proteína bruta (\%)} = \frac{V * Fc * 0,00028 * 6,25}{PA} * 100$$

En que:

V = volumen de H₂SO₄ gastado en la titulación.

Fc = factor de corrección de H₂SO₄

PA = peso de muestra seca en gramos.

6,25 = factor de conversión de nitrógeno en proteína.

0,00028 = equivalente de H₂SO₄ correspondiente al nitrógeno.

Obs: multiplicar normalmente.

3.5.4 Determinación de extracto etéreo

Extracto etéreo o grasa son compuestos insolubles en agua, más solubles en éter, cloroformo, benceno y otros solventes. En el análisis proximal de los alimentos, siempre se hace

referencia al extracto etéreo porque en este grupo está incluido, además de los lípidos verdaderos (glicéridos, fosfolípidos, cerebrósidos, etc.), un conjunto de compuestos heterogéneos, como carotenos, clorofilas, xantofilas, resinas y otras sustancias. Estos compuestos son extraídos con éter, que bajo calentamiento, se torna volátil y al condensarlo, circula por la muestra, lavando y arrastrando consigo la fracción de grasa que se deposita en el fondo del recipiente colector.

Al escogerse el solvente a ser utilizado en el análisis, se debe considerar las ventajas y desventajas de cada uno. Las extracciones en alimentos pueden ser hechas con éter etílico anhidro (punto de ebullición 34,6°C) o éter de petróleo (punto de ebullición 40 a 60°C). El éter etílico es un solvente más eficaz que el éter de petróleo, sin embargo este último es más barato, no absorbe humedad durante la extracción y no requiere de alguna preparación especial, desde que se obedezcan los límites de temperatura de ebullición.

El éter utilizado para la extracción es recuperado en otro recipiente y la grasa extraída es calculada por diferencia.

Materiales y equipos

Balanza analítica.

Cartuchos de tipo celulósico o papel filtro para envolver la muestra.

Desecador.

Estufa a 105°C.

Aparato extractor tipo Soxhlet y sus accesorios.

Balones de fondo redondo o plano.

Pinzas y espátulas.

Éter de petróleo.

Procedimiento analítico

Estabilizar los balones en la estufa a 105°C durante 4 horas, enfriarlos en el desecador y pesar en la balanza analítica.

Pesar de 2 a 5 gr de muestra y preparar para análisis en cartuchos celulósicos o enrollar en papel filtro.

Encender el bloque calentador.

Abrir el paso de agua, para refrigerar los condensadores.

Colocar la muestra en el extractor, adicionar el éter de petróleo hasta que ocurra el reflujo, adicionar un poco más, ya que ocurrirán pérdidas por evaporación.

Encajar el extractor en el condensador, verificar si hay un perfecto encaje, ejerciendo una leve presión de encima hacia abajo, ajustar la temperatura para que no ocurra calentamiento excesivo y las pérdidas por evaporación sean mínimas, cuidando siempre para que la cantidad de éter permita el reflujo. Dejar la muestra en el extractor durante 4 horas.

Recorrido este tiempo, retirar la muestra del extractor. Voltar el extractor con el balón para recuperar el solvente, repetir este procedimiento hasta recuperar completamente el éter.

Desconectar el equipo de la red eléctrica y cerrar el paso de agua de refrigeración de los condensadores.

Retirar los balones, llevarlos a la estufa a 105°C por 4 horas o una noche, enfriarlos en el desecador y pesar en la balanza analítica.

La diferencia entre el peso inicial y final obtenido será la cantidad de extracto etéreo de la muestra.

Observacion, el residuo que queda en los cartuchos, después de la extracción, puede ser usado para determinación de fibra bruta.

Cálculo

$$\text{Extracto etéreo (\%)} = \frac{(\text{peso del balon} + \text{residuo}) - (\text{peso del balon vacio})}{\text{peso de la muestra seca en gramos}} * 100$$

3.5.5 Determinación de fibra bruta

La fibra bruta es la porción de los carbohidratos totales resistentes al tratamiento con ácido y base, siendo en mayor parte constituida por celulosa, que presenta baja digestibilidad para la mayoría de los animales, con excepción de los rumiantes, tornándose como fuente de energía para esos animales, promoviendo el buen funcionamiento intestinal y estimulando los movimientos peristálticos. (*Rodrigues, F. 2010*).

Nutricionalmente la fibra es importante por contener la parte orgánica de la materia. Alimento más resistente a las acciones digestivas del tracto gastrointestinal y desempeña importante función en el control del consumo voluntario y consecuentemente, en la ingestión de

nutrientes, además de estimular un ambiente ruminal favorable al desarrollo de los microorganismos responsables por la digestión de carbohidratos fibrosos. (Marco, A. A. 2013).

Fundamento: esta técnica determina el residuo que persiste después de dos hidrolisis sucesivas, una acida y otra alcalina. Con esto se intenta simular el ataque gástrico e intestinal que se produce in vivo. Es una fracción que se encuentra únicamente en muestras de origen vegetal, las de origen animal han de contener cantidades inferiores a un 2%.

Materiales y equipos

Solución de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 0.128 M: medir 7.1 mL de H_2SO_4 y diluir para 1 litro con agua destilada.

Solución de hidróxido de potasio (KOH) 0.223 M: pesar 12.5 g de KOH y disolver para 1 litro con agua destilada.

Octanol (antiespumante).

Acetona.

Equipo Dosi-Fiber

Balanza analítica.

Crisoles de vidrio filtrantes (porosidad 2).

Mufla.

Desecadores.

Bomba de vacío.

Kitasato.

Procedimiento analítico

(1) Pesar entre 1 y 1.5 g de muestra (peso W0) debidamente molida para un crisol de vidrio de fondo filtrante P2.

(2) Colocar hasta 6 crisoles en el equipo Dosi-Fiber (Nota: el equipo puede funcionar con cualquier número de crisoles).

(3) Confirmar que los crisoles estén bien colocados en cada soporte, bajar el soporte (hacia abajo la palanca).

Hidrólisis ácida

(4) Calentar una cantidad suficiente de la solución de ácido sulfúrico (hasta una temperatura de 95°C aproximadamente).

(5) Confirmar que las válvulas estén en la posición OFF.

(6) Levantar la tapa superior del equipo y adicionar cuidadosamente entre 100 y 150 mL de ácido en cada columna, por encima de los crisoles. Seguidamente adicionar 1 o 2 gotas de antiespumante en cada columna.

(7) Abrir el circuito de refrigeración (abriendo la llave de agua).

(8) Oprimir el botón POWER y activar las resistencias de calentamiento a 90% (el botón HEATER).

(9) Después de la entrada en ebullición, reducir la potencia de calentamiento para 30%, girar la válvula a la posición de la izquierda (soplado), encender la bomba de aire (oprimir el botón PRESSURE) y dejar hervir durante 30 minutos.

(10) Después de haber terminado el tiempo establecido, apagar el equipo (girar el botón HEATER para cero, y desactivar el botón POWER), colocar las válvulas en la posición OFF y apagar la bomba de aire (desactivar el botón PRESSURE).

(11) Abrir el circuito de vacío (abriendo el grifo donde está el aspirador de agua) y girar las válvulas para la posición “aspirar”.

(12) Lavar por tres veces con agua destilada, levantando la tapa superior y enjuagando con una pequeña cantidad de agua.

Hidrólisis básica

(13) Repetir todos los pasos de la hidrolisis acida (4 a 12) más con la solución KOH en vez del ácido.

Extracción en frio con acetona

NOTA: este paso no es hecho en el aparato Dosi-Fiber más en un Kitasato.

(14) Retirar los crisoles del equipo Dosi-Fiber.

(15) Colocar un crisol en un Kitasato conectado a una trompa de vacío

(16) Con el vacío conectado, lavar por tres veces con acetona.

(17) Repetir para cada crisol.

(18) Secar los crisoles en estufa a 105°C durante 1 hora. Seguidamente dejar reposar en un desecador por 15 minutos y pesar (peso W1).

(19) Colocar los crisoles en la mufla y calentar hasta 500°C durante 3 horas. Retirar los crisoles con pinzas cuando la temperatura de la mufla haya disminuido a mínimo 200°C. Seguidamente dejar enfriar los crisoles en el desecador y pesar (peso W2) (*Pereira, M. 2012*).

Cálculo

$$\% \text{ Fibra Bruta} = 100 \times (W1 - W2) / W0$$

Capítulo 4. Conclusiones

Este trabajo se desarrolló en un periodo de 28 semanas y se pudo concluir que:

Este tipo de análisis no requiere una gran inversión en recursos humanos, debido a que es sencillo y muy entendible.

Los métodos de secado por estufa se basan en la pérdida de peso de la muestra por evaporación del agua y que para esto se requiere que la muestra sea térmicamente estable y que no contenga una cantidad significativa de compuestos volátiles.

A nivel de práctica se pueden evaluar los cambios físicos y químicos y estimar cálculos mostrando que el contenido de humedad de los alimentos es de gran importancia. La determinación de la humedad ayuda a conocer en qué proporción se encuentran los nutrientes e indica la estabilidad de cada uno de los alimentos, además, sirve para determinar las condiciones de almacenamiento, sobre todo en granos, ya que éstos no se pueden almacenar con más del 14% de humedad, debido al crecimiento de microorganismos tales como hongos. Con estos análisis es posible afirmar que los resultados obtenidos en cuanto a la humedad son o no favorables al momento de conservar el material o transformarlo en suplementos para animales.

La cantidad de cenizas representa el contenido total de minerales en los alimentos. La determinación del contenido de cenizas puede ser importante por varias razones, ya que son una parte del análisis proximal para la evaluación nutricional. Las cenizas son el primer paso en la preparación de la muestra para análisis elemental específico, el contenido de cenizas se usa como

índice de calidad. Podemos observar que los elementos minerales en los alimentos se encuentran en combinaciones orgánicas e inorgánicas ya sea sales inorgánicas o sales de ácidos orgánicos.

El método de Kjeldahl para estimación de proteína cruda, está basado en la combustión húmeda de la muestra, calentándola con ácido sulfúrico concentrado en presencia de catalizadores para efectuar la reducción del nitrógeno orgánico de la muestra a amoníaco, el cual es retenido en solución como sulfato de amonio. La solución de digestión se hace alcalina y se destila o se arrastra con vapor para liberar el amoníaco que es atrapado y titulado.

La determinación de extracto etéreo o grasa bruta es un análisis básico de los alimentos; es el procedimiento a través del cual un conjunto de sustancias entre ellas ésteres de ácidos grasos, fosfolípidos, lecitinas, esteroides, ceras, etcétera, se extraen con éter. Para ello es necesario que la muestra sea previamente deshidratada. Es muy eficaz, pero tiene el problema de usar cantidades grandes de disolvente, alrededor de 250 ml de éter por muestra.

La determinación de fibra en un alimento es de suma importancia, dado que esta es útil para la buena digestión de los alimentos.

Capítulo 5. Recomendaciones

Dadas las condiciones en las que se desarrolló el trabajo de grado:

Se recomienda utilizar la metodología del Sistema Weende, siendo esta la más apropiada para la realización y desarrollo de cada uno de los procedimientos de estudio de alimentos (materia seca, humedad, cenizas, proteína cruda, extracto etéreo, fibra cruda), que conforman el análisis bromatológico.

Cronograma De Actividades

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES																																
TIEMPO ITEMS	MES 1				MES 2				MES 3				MES 4				MES 5				MES 6				MES 7							
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4				
Reconocimiento del laboratorio de nutrición	■																															
Recolección de información		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■								
Realización de análisis en laboratorio			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■							
Estructuración de los contenidos para su análisis e interpretación																							■	■	■	■						
Revisión por parte del director																												■				
Sustentación de la investigación																																■

Fuente: autor, 2016

Referencias

AOAC. (1990). *Association of Official Analytical Chemists – Official Methods of Analysis*. Edited by Kenneth Helrich. Arlington, Virginia, volume one. P684.

BATEMAN, J. V. (1970). *Nutrición animal*. Manual de métodos analíticos. Herrero Hermanos, sucesores, S. A., México. P468.

MIZUBUTI, I. Y., et al. (2009). *Manual de métodos de laboratorio para evaluación de alimentos para animales*. Aspectos generales sobre análisis de alimentos. Londrina, 2009, 228 h. Universidad Estadual de Londrina. Facultad de ciencias agrarias. Departamento de zootecnia.

AAFCO. (2000). *The American Feed Control Officials*. Department of Agriculture. State Capital Building, Charleston, West Virginia. USA. Recuperado: <http://www.aafco.org/>

CID, J. M. (2013). *Análisis Bromatológico*. Tomado de: <http://cidjorgemario.blogspot.com.co/2011/08/analisis-bromatologico.html>

CONSTITUCIÓN POLÍTICA DE COLOMBIA. (1991). *Artículo 65*. Citado el 27 de agosto de 2015.

FAO. (1976). *Nutrición y alimentación.* Recursos de nutrientes y su composición.

Recuperado de: <http://www.fao.org/docrep/field/003/ab492s/AB492S06.htm>

FAO. (2004). *Recursos de nutrientes y su composición.* Procesos y tratamientos a

los cuales los productos han sido sujetos antes de usarse como alimento. USA.

Recuperado: <http://www.fao.org/docrep/field/003/ab492s/AB492S06.htm>

RODRIGUES, F. CARLA A. (2010). *Laboratorio de Nutrição Animal.* Fibra

bruta. Faculdade de Veterinária – Dep. de Zootecnia. Brasil. Recuperado de:

[http://www.labnutrianimal.uff.br/index.php?option=com_content&view=article&id=15&](http://www.labnutrianimal.uff.br/index.php?option=com_content&view=article&id=15&Itemid=33)

[Itemid=33](http://www.labnutrianimal.uff.br/index.php?option=com_content&view=article&id=15&Itemid=33)

INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO – ICA. (2000). Decreto

01698. Recuperado de: [http://www.ica.gov.co/getattachment/03a7e117-bf9d-46b4-951d](http://www.ica.gov.co/getattachment/03a7e117-bf9d-46b4-951d39a4c69f9dc5/1698.aspx)

[39a4c69f9dc5/1698.aspx](http://www.ica.gov.co/getattachment/03a7e117-bf9d-46b4-951d39a4c69f9dc5/1698.aspx)

INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO – ICA. (1996). *Disposiciones*

sobre el control técnico de los Insumos Pecuarios. Resolución 1056. Recuperado de:

[http://www.ica.gov.co/getattachment/498ca7d0-65d6-4f6d-bb03-](http://www.ica.gov.co/getattachment/498ca7d0-65d6-4f6d-bb03-bc905c0a22d7/1056.aspx)

[bc905c0a22d7/1056.aspx](http://www.ica.gov.co/getattachment/498ca7d0-65d6-4f6d-bb03-bc905c0a22d7/1056.aspx)

INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO – ICA. (2005). *Adoptan los*

manuals de técnicas analíticas, procedimientos y operación de equipos de laboratorio

nacional de insumos pecuarios LANIP. Resolución N° 002050. Recuperado de:

<http://www.ica.gov.co/getattachment/a9140e9a-69c4-49bb-8b15-9d9ed60734fa/2005R050.aspx>

MARCO, A. A. (2013). *Fibra bruta*. Brasil. Recuperado de:

<http://www.trabalhosfeitos.com/ensaios/Fibra-Bruta/647853.html>

MEJÍA, L. M. (2013). *Análisis Bromatológicos*. Tomado de:

<http://independent.academia.edu/LUISMANUELMEJ%C3%8DAVARGAS>

MINISTERIO DE AGRICULTURA, PECUARIA E ABASTECIMENTO –

MAPA. (1974). Normatividade governo do Brasil. Recuperado de:

<http://www.agricultura.gov.br/legislacao>

MINISTERIO DE AGRICULTURA, PECUARIA E ABASTECIMENTO –

MAPA. (1974). Legislação brasileira. Inspeção e a Fiscalização Obrigatórias dos Produtos à Alimentação Animal. Recuperado de:

<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=recuperarTextoAtoTematica&codigoTematica=925793&dshierarquia=undefined7931919257702088206925793&word=dezembro20/2019CLeisLegislaBAsicaAlimentaCCAAnimalCLegisla%CAAIindexadaporGrandesTemas20>

MINISTERIO DE AGRICULTURA, PECUARIA E ABASTECIMENTO –

MAPA. (1965). Legislação brasileira. Regulamento de Inspeção Industrial, Bromatológica e Higiênica de Produtos Destinados à Alimentação dos Animais Domésticos. Recuperado de:

<http://sistemasweb.agricultura.gov.br//sislegis/loginAction.do?method=exibirTela>

MINISTÉRIO DE AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO –

MAPA. (2004). Secretaria de apoio rural e cooperativismo. Instrução Normativa, Regulamento técnico sobre aditivos para produtos destinados à alimentação animal. Recuperado de:

<http://sistemasweb.agricultura.gov.br//sislegis/loginAction.do?method=exibirTela>

MINISTERIO DE AGRICULTURA, ALIMENTACIÓN Y MEDIO

AMBIENTE – MAGRAMA. (1997). *Glosario de nutrición animal*. Gobierno de España. Recuperado de:

<http://www.magrama.gob.es/app/nutricionanimal/glosarioNutricionAnimal.aspx?lng=es>

MODULO DE RECURSOS FORRAJEROS. (2009). *Técnicas de laboratorio para el análisis de forrajes para rumiantes*. Universidad autónoma de México. Medicina veterinaria y zootecnia. Recuperado de:

<http://208237946mvzsmc.blogspot.com/2009/06/resumen-tecnicas-de-laboratorio-para-el.html>

OBANDO, R. L. (2007). *Propuesta de modelo administrativo para la empresa informar publicidad.* Universidad Tecnológica de Pereira. Recuperado de:
<http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/handle/11059/941/658306O12.pdf?sequence=1>

PEREIRA, M. M. (2012). *Determinação da fibra bruta pelo método de weende utilizando o equipamento selecta dosi-fiber.* Instituto Superior de Agronomia. Lisboa. Recuperado de: <http://www.isa.utl.pt/dqaa/TLQB/DetFibra.pdf>

SERNA, L. y LOPEZ, S. (2010). *Actualización del manual del laboratorio de análisis de alimentos.* Programa de tecnología química de la universidad tecnológica de Pereira. Tomado de:
<http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/11059/1824/1/66407S486.pdf>

TÉCNICAS DE ANÁLISIS FÍSICO – QUÍMICO DE ALIMENTOS. (2007).
Recuperado de: <http://www.analizacalidad.com/docftp/fi1441ene2007.pdf>

TORRES. (2010). *Análisis químico – nutricional de forrajes.* Estimación de emisiones de metano en ganado bovino en el ejido Emiliano Zapata, Tecpatan, Chiapas. Tomado de:
http://cuencagrijalva.ecosur.mx/cuenca_grijalva/files/informe_Final/sp05_archivos/05_0901Tesis_Ervin_Marroquin_ITTGZ.pdf

UCO. (2006). *Análisis químico de los alimentos.* Toma de muestras, Sistema Weende. España. Recuperado de:

<https://www.uco.es/zootecniaygestion/menu.php?tema=146>

UREÑA, F. (2012). *Producción animal y gestión de empresas.* Universidad de Córdoba, España. Departamento de producción animal. Recuperado de:

<http://www.uco.es/organiza/departamentos/prod-animal/economia/aula/menu.php?tema=14>