

El análisis proximal

Práctica e interpretación de resultados



Evaristo Julio Ballinas Díaz
Patricia Ivett Meza Gordillo
Oscar Aarón Aguilar Nájera
Gilber Vela-Gutiérrez
Leonides Elena Flores-Guillén
Alfredo Pérez Jácome
Luis Alberto Morales Martínez



El análisis proximal, práctica e interpretación de resultados

Coordinadores

Evaristo Julio Ballinas Díaz

Patricia Ivett Meza Gordillo

Oscar Arón Aguilar Nájera

Gilber Vela-Gutiérrez

Leonides Elena Flores-Guillén

Alfredo Pérez Jácome

Luis Alberto Morales Martínez



UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS

2023

**Colección
Montebello**



UNICACH

Nombre de una reserva ecológica en el estado de Chiapas, las implicaciones de carácter antropológico de la Selva Negra han rebasado por mucho la alerta ambiental por su preservación. Es en este sentido que la colección dedicada a las ciencias sociales y humanísticas está sellada por un título cuya resonancia evoca un tema filosófico tan crucial como el que plantea los límites y alcances de la acción humana sobre los recursos naturales que le brindan sustento.

Primera edición: 2023

D. R. ©2023. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas
1ª Avenida Sur Poniente número 1460
C. P. 29000, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México.
www.unicach.mx
editorial@unicach.mx

ISBN: 978-607-543-193-2

Diseño de la colección: Manuel Cunjamá
Diseño de portada: Manuel Cunjamá

Impreso en México

El análisis proximal, práctica e interpretación de resultados

Coordinadores

Evaristo Julio Ballinas Díaz

Patricia Ivett Meza Gordillo

Oscar Arón Aguilar Nájera

Gilber Vela-Gutiérrez

Leonides Elena Flores-Guillén

Alfredo Pérez Jácome

Luis Alberto Morales Martínez

**Colección
Montebello**



UNICACH

Índice

Introducción	9
Capítulo I	
Conceptos en el análisis químico de los alimentos	11
Capítulo II	
Calidad nutrimental de los alimentos	19
Capítulo III	
Procedimientos analíticos.....	25
Capítulo IV	
Preparación de reactivos para el análisis proximal	40
Anexos	44
Anexo B. Otros métodos para determinación de fibra.....	47
Referencias bibliográficas.....	49

Introducción

Los alimentos tienen básicamente dos orígenes, ya sea animal o vegetal. Sin embargo, algunos microorganismos (algas, bacterias y hongos) son ricos en nutrimentos. El hombre ha elegido un grupo de animales domésticos y otros salvajes de los cuales obtiene distintos alimentos. Los productos animales incluyen: carnes de mamíferos, aves, peces, crustáceos y algunos reptiles que son consumidos por la población; los huevos, leche y derivados representan la mejor fuente de proteínas que existe en los alimentos, porque contienen todos los aminoácidos esenciales en las proporciones necesarias para que el organismo pueda formar las proteínas propias de sus tejidos. Además de proteínas, contienen sustancias minerales, como calcio, fósforo, hierro, grasa y vitaminas diversas.

En el reino vegetal, los productos vegetales incluyen: hortalizas, frutas, raíces, cereales y leguminosas que constituyen una fuente de vitaminas, minerales, hidratos de carbono, proteínas, grasas, fibra, antioxidantes, etc. Las diferencias entre ambos reinos están en la composición de los diferentes subgrupos de nutrimentos (proteínas, lípidos, carbohidratos solubles, fibra, vitaminas y minerales) que los constituyen, y en la estructura celular de los tejidos de ambos grupos.

El análisis proximal o sistema analítico de Weende, se desarrolló en Alemania hace más de cien años, en la estación experimental que lleva su nombre; este sistema se ha criticado mucho, pero hasta la fecha nadie ha desarrollado otro mejor que sea tan práctico y aceptable. El método fue desarrollado por Henneberg y Stohmann en 1867 en la estación experimental de Weende (Alemania). La técnica consiste en separar y cuantificar primero dos grandes fracciones del alimento: La humedad o contenido de agua total y la materia seca (MS). En segundo lugar, separar

y cuantificar en la MS dos nuevas fracciones: materia inorgánica o ceniza y materia orgánica (MO). En tercer lugar, la MO es separada y cuantificada en cuatro fracciones: proteína bruta o cruda (PC), grasa bruta o cruda, extracto etéreo o lípidos (EE), fibra bruta o cruda (FC) y Extracto Libre de Nitrógeno (ELN) o carbohidratos totales o solubles (AOAC, 1990).

Las determinaciones de humedad, MS, ceniza, MO, PC, EE y FC son determinaciones analíticas, de las cuales, solo la determinación de PC es una determinación volumétrica, las otras determinaciones son gravimétricas. La determinación del ELN es por diferencia porcentual de 100. La Tabla 1 muestra la composición química de cada una de las fracciones que constituye la MO, lo cual nos sirve para interpretar con mayor precisión los resultados de un análisis proximal.

Tabla 1. Composición de las diferentes fracciones de materia orgánica

Proteína cruda	Extracto etéreo	Fibra cruda	ELN
Proteínas	Grasas	Celulosa	Almidón
Aminoácidos	Aceites	Hemicelulosa	Glucógeno
Péptidos	Ceras	Lignina	Azúcares
Ácidos nucleicos	Esteroles	Cutina	Pectinas
Amidas	Pigmentos		Celulosa, Hemicelulosa y Lignina
Nitratos	Vitaminas liposolubles (A, D, E, K)		Vitaminas hidrosolubles
Vitamina B			Ácidos orgánicos y pigmentos

Desde el punto de vista químico, únicamente la determinación de proteínas es un análisis químico, las otras cinco determinaciones son análisis fisicoquímicos; así mismo, los resultados del análisis proximal únicamente nos indican las cantidades aproximadas de nutrimentos, incluida el agua. No nos señala nada acerca del valor nutrimental real del alimento. Desde el punto de vista nutrimental, un alimento con 80% de PC tiene poco valor biológico si la digestibilidad de esta PC es de 40% o menos. En capítulos posteriores se analizará lo relativo al valor nutricio de los alimentos.

Capítulo I

Conceptos en el análisis químico de los alimentos

El análisis cuantitativo determina la cantidad de una determinada sustancia (analito) que hay en una muestra. El análisis cuantitativo precisa de dos medidas: determinar la masa o volumen de la muestra analizada y determinar la cantidad de analito en la muestra.

Dependiendo de la propiedad utilizada para determinar la cantidad de analito, los métodos analíticos cuantitativos se clasifican en:

- **Métodos gravimétricos:** determinan la masa de analito o de algún compuesto que se obtiene a partir de él. En la práctica se realiza una precipitación del analito mediante transformación previa en alguna sustancia con baja solubilidad, para posteriormente proceder a la determinación de la masa del precipitado. Cuando es posible, puede extraerse el analito (grasa por ejemplo) en un disolvente apropiado y luego evaporar éste, o también, evaporar el analito (agua de una muestra húmeda) para su cuantificación.
- **Métodos volumétricos:** se determina el volumen de una solución que contiene un reactivo capaz de reaccionar con el analito. Esta reacción debe ser completa y debe disponerse de algún método que nos indique en qué momento se ha completado. En las valoraciones ácido-base se utiliza un indicador químico para determinar el final del procedimiento. En el caso de la determinación de proteína cruda por el método Kjeldahl, el nitrógeno (N_2) de la muestra de alimento reacciona con el ácido sulfúrico (H_2SO_4) para convertirse en sulfato de amonio $(NH_4)_2SO_4$.

Entonces, el sulfato libera el amoníaco al reaccionar con el hidróxido de sodio (NaOH) concentrado, y este amoníaco es estabilizado con ácido bórico. Al final, el nitrógeno es cuantificado al titular la solución de ácido bórico con ácido clorhídrico de concentración conocida, usando un indicador químico para determinar el punto final de la reacción.

- **Métodos electroanalíticos:** utilizan la medición de propiedades eléctricas del analito, tales como el potencial, la intensidad de corriente o la carga eléctrica.
- **Métodos espectroscópicos:** se basan en la interacción de la radiación electromagnética con el analito. Se puede analizar la cantidad de radiación absorbida o bien la radiación emitida por el analito previa excitación del mismo. Existen numerosas técnicas espectroscópicas de gran utilidad: espectroscopía infrarroja, espectroscopía visible-ultravioleta, espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear (RMN).

Humedad ambiental o del aire

El contenido de agua del aire es muy importante para los análisis químicos gravimétricos. Es muy importante entender los siguientes conceptos:

El aire siempre contiene entre sus componentes principales (O_2 y N_2) cierta cantidad de agua en forma de vapor. Para detallar este concepto, primero se definirán otros conceptos similares:

Humedad absoluta. Es la cantidad de vapor de agua (comúnmente medido en gramos) contenido en un determinado volumen de aire (comúnmente un m^3). Así pues, la humedad absoluta se mide en gramos de vapor de agua por metro cúbico de aire.

Humedad específica. Es el mismo concepto que la humedad absoluta, pero cambiando las unidades de medición, en este caso se habla de kilogramos de agua por kg de aire seco. En ambos casos, el agua siempre está en forma de vapor (gas).

Humedad relativa (HR). Es la relación entre cantidad de vapor de agua contenida en el aire (humedad absoluta) y la máxima cantidad que el aire sería capaz de contener a esa temperatura (humedad absoluta de saturación).

Supongamos que tenemos aire a 20°C con un 50% de HR y vemos que la humedad específica es de 0.0075 kg de agua por kg de aire seco. Vamos añadiendo agua a ese aire sin variar la temperatura y ese aire es capaz de admitir esa agua en forma de vapor, por lo que no veremos agua líquida alguna, pero al llegar a 0.015 Kg de agua por kg de aire seco el aire ya no admite más agua en forma de vapor, por lo que hemos llegado a lo que se llama saturación, si seguimos añadiendo agua ya no pasará a vapor y quedará en forma líquida. En este ejemplo podemos comprobar el significado de la humedad relativa, en efecto, vemos que el aire contiene 0.0075 Kg de agua/kg de aire seco, y que, a esa misma temperatura, en saturación, el aire contendría 0.015 Kg de agua/kg de aire seco, decimos que en ese punto la HR es del 50% porque 0.0075 es el 50% de 0.015.

Higroscopía

Cada sustancia tiene la llamada *humedad de equilibrio*, ésta es un contenido de humedad tal de la atmósfera a la cual el material capta humedad del ambiente a la misma velocidad que la libera. Si la humedad del ambiente es menor que este valor de equilibrio, el material se secará, si la humedad ambiente es mayor, se humedecerá, *reduciendo la humedad ambiental*. Por esa razón, minerales como el cloruro de calcio son capaces de captar agua de la atmósfera en diferentes tipos de ambientes, porque su humedad de equilibrio es muy baja. Esta clase de sustancias se utilizan como *desecadores* (Orozo, 1977; Salfield, 1974; Pearson, 1976).

Tabla 2. Compuestos con capacidad higroscópica

Compuesto	Fórmula
Cloruro de calcio	CaCl ₂
Cloruro de magnesio	MgCl ₂
Cloruro de sodio (Halita)	NaCl
Hidróxido de sodio	NaOH
Hidroxilamina	NH ₂ OH
Ácido sulfúrico	H ₂ SO ₄

Compuesto	Fórmula
Sulfato de cobre	CuSO ₄
Óxido de fósforo (V)	P ₄ O ₁₀
Óxido de calcio (cal viva)	CaO
Sulfato sódico	Na ₂ SO ₄

Delicuescencia

Una capacidad similar a la higroscopia, es la delicuescencia. Los materiales delicuescentes son sustancias (en su mayoría sales) que tienen una fuerte afinidad química por la humedad y que absorben grandes cantidades de agua al exponerse a la atmósfera, y, a diferencia de los compuestos higroscópicos, se convierten finalmente en una solución líquida. Debido a su gran afinidad por el agua, estas sustancias suelen ser usadas como *desecantes*.

Tabla 3. Materiales delicuescentes

Compuesto	Fórmula
Cloruro férrico	FeCl ₃
Cloruro de zinc	ZnCl ₂
Carbonato de potasio	K ₂ CO ₃
Hidróxido de potasio	KOH

Peso constante

Es un concepto utilizado ampliamente en el análisis gravimétrico. Los materiales usados para depositar las muestras deben estar limpios y secos, pero para fines analíticos, éstos deben contener cero por ciento de humedad. Los materiales de aluminio, porcelana o vidrio logran un peso constante si se someten a una temperatura de 120°C durante dos horas; otros materiales como papel, plásticos, pueden calentarse a 60°C durante 12 horas o más para lograr el peso constante (PC).

El *peso constante* de una muestra es aquel que se tiene cuando ya no hay absolutamente nada de humedad en la muestra a utilizar; se aplica solo a sólidos y se obtiene colocando la muestra de alimento en una capsula de porcelana en un horno o estufa que se enciente a 110°C o más, dejándolo ahí durante una hora o más y lo introducen en un desecador para que enfríe durante 30 minutos. Después de este tiempo se pesa y se reporta como peso constante.

Muestreo de alimentos para fines analíticos

La muestra requerida para analizar en el laboratorio debe tener las siguientes características:

1. Ser estadísticamente representativa de la población o universo. Es decir, todas las partículas o componentes del alimento total (saco o bulto, silo o taque, camión o buque, etcétera) deben tener la misma probabilidad de ser elegidas para la muestra.
2. Ser homogénea. Es decir, debe tener una apariencia física como si fuera una solo fase o un solo componente. En muestras sólidas secas o deshidratadas esto se consigue reduciendo de tamaño la muestra a través de un molino hasta que el producto pase por una malla 50-60. Si la muestra es líquida, mezclar perfectamente (si es necesario calentar para bajar la viscosidad) antes de tomar la muestra.
3. Para análisis físicos, químicos o fisicoquímicos, evitar que las muestras se contaminen con microorganismos; es decir, conservarlas en refrigeración o en lugares limpios y secos.

Existen diversas técnicas para llevar a cabo un muestreo adecuado de los alimentos, y éstas varían de acuerdo al tipo de ingrediente, la cantidad y el contenedor en el que se encuentren. Al adquirir un lote de materia prima, es importante obtener una muestra representativa de éste, para ello se requiere tomar varias *muestras primarias* en diversos puntos del lote, para obtener la *mezcla bruta* y por reducción de esta se obtiene finalmente la *muestra contractual*.

Muestreo de ingredientes sólidos

En **sacos**. Si el ingrediente se encuentra en bultos o sacos, se debe de muestrear 500 a 1000 g de cada saco. Si el lote es de uno a diez sacos, se deben de muestrear todos. Si el lote es mayor a diez, se deben de muestrear diez costales o por lo menos el 2% del total del lote. El muestreo de sacos puede hacerse mediante muestreadores (caladores) especiales para este fin.

A **granel**: Cuando la materia prima se encuentre a granel dentro de bodegas rectangulares, vagones o camiones, se tomaran muestras a tres niveles diferentes con muestreadores adecuados y en varios puntos de acuerdo a la capacidad del transporte o bodega.

Productos a granel

1. Tomar con un calador un número de submuestras representativo del camión o silo.
2. Si se muestrea durante la descarga del camión, recoger con un recipiente a intervalos de tiempo regulares alícuotas directamente de todo el ancho del chorro de descarga.
3. Homogeneizar y reducir para enviar al laboratorio (250-500 g).
4. En caso de ser mezclas asegurarse de que la distribución de los ingredientes sea homogénea.

Productos almacenados en bolsas

1. La muestra debe estar constituida por sub-muestras tomadas de un lote homogéneo, evitando el material procedente de partidas diferentes.
2. Para asegurar que la muestra sea representativa, las sub-muestras deberán tomarse con calador sobre la mayor cantidad de bolsas que sea posible. Cuando el número de bolsas es inferior a 200, muestrear sobre 20 unidades, cuando el número es mayor, el 10% del lote. Asegurarse que las muestras sean representativas de las distintas partes de las bolsas muestreadas y de distintas zonas de la estiba (penetrar las bolsas con el calador en diagonal de abajo hacia arriba).

3. Homogeneizar y reducir para enviar al laboratorio 250 g. aproximadamente.
4. Disponer la muestra en una bolsa de papel o plástico.
5. Hasta su envío al laboratorio, conservar a temperatura ambiente en un lugar seco (nunca en heladera o congelador).
6. Identificar y remitir al laboratorio (250-500 g).

Es muy importante evitar tomar muestras del alimento que se encuentren muy cercanos a las paredes del recipiente, ya que puede sufrir algunos cambios que alteren la muestra y provoque que ésta no sea representativa del lote.

Otra forma utilizada para muestrear alimentos a granel es al momento de descargar el producto, en este caso solamente se coloca un recipiente al momento de la descarga a intervalos de tiempo proporcionales para así obtener la muestra bruta.

Muestreo de ingredientes líquidos

Para realizar el muestreo de este tipo de ingredientes tales como melaza, aceite y algunos aditivos, para ello se requiere de muestreadores especiales que tienen trampas diseñadas para abrirse y cerrarse controladamente y así poder tomar muestras a diferente profundidad. En el caso de ingredientes como la melaza y manteca, es recomendable calentarlos previamente y mezclarlos vigorosamente para que el material quede completamente homogéneo y la muestra se obtenga fácilmente.

Interpretación estadística de resultados

Réplicas. Por cuestiones de costos de reactivos de laboratorio, normalmente las muestras recibidas en el laboratorio de análisis se trabajan por triplicados ($n=3$); sin embargo, cuando sea posible éstas deben trabajarse por quintuplicado ($n=5$) o más ($n=7, 9, 11, 13$, consecutivamente).

El coeficiente de variación (CV) de la muestra no debe ser mayor a 5 %. Si esto sucede, realizar nuevamente el análisis correspondiente.

El CV se calcula con la siguiente fórmula:

$$CV = \frac{S * 100}{\bar{y}}$$

Donde:

S= Desviación estándar

\bar{y} = media o promedio

Ejemplo: análisis de proteína cruda por triplicado

Valores de proteína encontrados en harina de maíz amarillo: 8.2, 8.9, 8.5 %

$$\bar{y} = \frac{(8.2 + 8.9 + 8.5)}{3} = \frac{(25.5)}{3} = 8.5333\%$$

Cálculos:

X (%)	X - \bar{y}	(X - \bar{y}) ²
8.2	-0.3333	0.11108
8.9	0.3667	0.13447
8.5	-0.0333	0.00111
$\Sigma =$		0.24638

$$S = \frac{\sqrt{0.24638}}{3} = \sqrt{0.082127} = 0.28658$$

Considerando que

$$\bar{y} = 8.5333 \%$$

El Rango de contenido proteínico = (8.5333 ± 0.28658) %

$$CV = \frac{0.28658 * 100}{8.5333} = \frac{28.658}{8.5333} = 3.3591\%$$

Por lo que se asume que hubo buena reproducibilidad del método.

Capítulo II

Calidad nutrimental de los alimentos

Es importante señalar que, de manera normal los animales, incluido el hombre, no consumen nutrimentos de manera aislada, sino que consume, por así decirlo, mezclas de nutrimentos en diferentes proporciones naturales según el origen del alimento (carnes, huevo, leche, cereales, leguminosas, oleaginosas, frutas y verduras).

La calidad nutrimental de un alimento está definida si concurren a la vez ciertas características fisicoquímicas de los subgrupos de macro y micronutrientes. Sin embargo, en la actualidad, ha tomado mucha importancia un subgrupo de compuestos no considerados en el análisis proximal, los denominados antioxidantes de tipo fenólico, muchos de ellos relacionados con el color del alimento.

Cuando a un alimento se le determina su calidad nutricional, ésta se vislumbra a través de la calidad de los subgrupos de nutrimentos. En el caso de las proteínas, éstas deben cumplir con ciertos requisitos:

1. Debe contar con un perfil de aminoácidos esenciales (AAE) – AAE g./100g. proteína- de acuerdo con las recomendaciones de expertos de la FAO. Las proteínas de referencia que cubren estos requisitos son las proteínas de origen animal: huevo, leche y carne.
2. No debe tener AAE limitantes, lo que significa que, no deben contener aminoácidos esenciales en cantidades inferiores a los de la proteína de referencia.
3. Que la digestibilidad (80 a 95 %) *in vitro* e *in vivo* sea alta.

4. Poseer alta biodisponibilidad de los aminoácidos esenciales. La Lisina es un aminoácido muy reactivo, lo cual lo hace muy indisponible biológicamente.
5. Poseer valores altos de índice de eficiencia proteínica (PER- *Protein Efficient Rate*), utilización neta de proteína (NPU-*Net Protein Utilisation*) y valor biológico (VB- *Value Biological*). Estos valores determinan la calidad biológica de una proteína.
6. Poseer alto puntaje o *score* químico (ChS) respecto a los AAE de la proteína de referencia.

En el caso de los carbohidratos, éstos deben ser de preferencia azúcares sencillos (glucosa, fructosa, sacarosa, lactosa, entre otras). Cuando los azúcares son polisacáridos como los almidones o glucógeno, éstos deben ser muy digeribles por las enzimas correspondientes (amilasas). Los polisacáridos no digeribles como la celulosa u otros residuos de fibra no aportan energía metabólica al organismo humano.

La fibra dietaria, regularmente no digerible por las enzimas propias del tracto intestinal, está constituida por dos grupos de componentes: fibra soluble y fibra insoluble, ambas con funciones distintas en el organismo. La fibra insoluble lo conforman tres componentes no necesariamente carbohidratos: celulosa, hemicelulosa y lignina. La fibra soluble está constituida por gomas, mucílagos, pectinas y otros compuestos con propiedades fisicoquímicas similares.

Las grasas o aceites son químicamente triacilgliceroles porque están conformados por una molécula de glicerol y tres ácidos grasos. Son grasas (sólidos) y aceites (líquidos) dependiendo de la temperatura ambiente. La calidad nutricia de un aceite o grasa depende exclusivamente del tipo de ácidos grasos (ácidos orgánicos) que lo constituyan. Estos ácidos grasos se caracterizan por poseer un grupo carboxílico. Su estructura carbonada puede ser saturada o insaturada con dobles o triples enlaces entre carbono y carbono, de configuración *trans* o *cis*. También se caracterizan por ser de cadena corta o larga con número par o impar de carbonos. Uno de estos ácidos grasos se denomina ácido linoleico y es un ácido esencial ya que el organismo humano no lo sintetiza. Por tanto, una grasa o aceite de buena calidad debe contener este ácido. Actualmente, en relación al

valor nutricional de un ácido graso, también se consideran otros aspectos de estos ácidos, como la posición de los dobles enlaces respecto al grupo carboxilo, es decir, los ácidos *omegas*.

El perfil de minerales y vitaminas también determinan la calidad nutricional de los alimentos. El análisis proximal solo cuantifica la cantidad total de minerales o ceniza.

Interpretación del análisis proximal

Las tablas cuatro y cinco sintetizan la integración del análisis proximal. En primer lugar, separamos la muestra de alimento en agua y materia seca. A su vez, la materia seca (MS) es dividida en materia orgánica e inorgánica. La materia orgánica (MO) se subdivide a su vez en cinco subgrupos, cuatro de ellos son constituyentes del análisis proximal (proteína cruda o bruta, grasa cruda o Extracto Etéreo -EE-, fibra cruda o bruta), extracto libre de nitrógeno o carbohidratos totales (ELN).

Por lo tanto, para interpretar el análisis proximal, que prácticamente es un análisis fisicoquímico en un 83%, la interpretación está basada en el contenido de la MO. En el caso de la proteína cruda, ésta debería corregirse a proteína verdadera (proteínas, péptidos y aminoácidos exclusivamente). Sin embargo, esto no garantiza que la proteína determinada tenga un alto valor nutricional; solo es un dato cuantitativo.

Similarmente, el EE debe corregirse para aceites o grasas exclusivamente para no incluir compuestos solubles en éter que no producen energía derivada de la beta-oxidación, como las vitaminas liposolubles y algunos pigmentos.

El análisis de fibra por otro lado, solo es válido si el alimento es de origen vegetal, o que el alimento (carne por ejemplo) esté adulterado con proteína vegetal (“carne de soya”). Este análisis no determina fibra dietaria, únicamente fibra insoluble.

Por último, los carbohidratos totales o ELN representa un grupo heterogéneo de sustancias, de las cuales sólo los carbohidratos verdaderos (almidón, glucógeno azúcares simples) participan en el metabolismo energético vía glucólisis o ciclo de Krebs.

En resumen, el análisis proximal es un análisis cuantitativo que normalmente sobreestima los valores de proteína, grasas y carbohidratos, y

por lo tanto, los cálculos de energía metabolizable (EM) usando los factores de Atwater (Carbohidratos y proteínas 4 Kcls/g, grasas o aceites 9 kcls/g.) son sobreestimados. Valores verdaderos de EM solo se obtienen usando un calorímetro, donde primero se obtiene la energía bruta del alimento directamente en este aparato, y luego el mismo alimento es proporcionado experimentalmente a un grupo de animales (gallos entrenados). Se recolecta el excremento de los gallos y se determina la energía bruta en el mismo calorímetro. La diferencia entre la energía bruta (EB) del alimento y la EB del excremento es la EM aparente. La EM verdadera se obtiene dejando un grupo de animales en ayuno y recolectando después el excremento (muy poco) de estos gallos.

Tabla 4. Constituyentes del análisis proximal

Muestra de alimento				
Agua o humedad				
Materia seca (MS)				
Materia inorgánica o Ceniza (Calcio, Fósforo, Hierro, Magnesio, Manganeso, Cobre, Sodio, Potasio, etcétera)				
Materia orgánica				
Proteína cruda	Grasa cruda	Fibra cruda	ELN[©]	Otros
Proteínas	Grasas	Celulosa	Almidón	Antioxidantes Sustancias volátiles (aromas, aceites esenciales)
Aminoácidos	Aceites	Hemicelulosa	Glucógeno	
Péptidos	Ceras	Lignina	Azúcares	
Ácidos nucleicos	Esteroles	Cutina	Pectinas	
Nitratos	Pigmentos	Otros	Vitaminas	
Otros compuestos nitrogenados	Vitaminas liposolubles	compuestos indigeribles ¹	hidrosolubles Ácidos	
	Otros		orgánicos	
	compuestos		Pigmentos	
	solubles en			
	éter			

©Calculado por diferencia de 100

¹ Dependiendo de la técnica empleada.

Tabla 5. Análisis proximal. Composición de las fracciones del análisis proximal

ALIMENTOS							
100 %	AGUA						
	MATERIA SECA (MS)						
Materia inorgánica(MI) (Minerales)	Materia Orgánica (MO): Compuestos formados por Carbono, Nitrógeno, Oxígeno e Hidrógeno						
No esencial	Compuestos nitrogenados	Carbohidratos		Compuestos fenólicos		Lípidos	Vitaminas
Esencial							
Macrominerales	No proteína	^a Sin pared celular	Pared celular	Lignina	Taninos No analizados	Sencillos	Liposolubles
Microminerales	Proteína					Compuestos	Hidrosolubles
	Compuestos con nitrógeno	Glucosa, pectina, almidón, otros azúcares	Celulosa, hemicelulosa			Triglicéridos Ácidos grasos, fosfolípidos, ceras, pigmentos	No analizados
	Urea, aminoácidos, ácidos nucleicos, proteínas		Fibra neutra detergente =FND Celulosa + Lignina= FAD ^b		Extracto etéreo		
Ceniza (C)	Proteína cruda (PC)	^c ELN	FC		(EE)		

^a Sin pared celular = 100 – PC – EE – Ceniza – FND

^b FAD = Fibra ácido detergente

^c ELN = 100 – (%C + %EE_{BS} + % PC_{BS} + % FC_{BS}) en base seca

^d ELN = 100 – (%H + %C + %EE_{BH} + % PC_{BH} + % FC_{BH}) en base húmeda

Corrección de base seca a base húmeda para alimentos frescos

En el caso de que los alimentos analizados se consuman FRESCOS se deberá realizar la corrección para agregar el aporte de humedad del mismo; dicha corrección se debe realizar en los cálculos de porcentaje de grasa, proteínas, y fibra ya que la técnica pide que se realice la determinación en muestra seca o deshidratada en charola extendida colocada a 60°C por un lapso de 24h.

Para la fórmula siguiente se requiere haber obtenido el porcentaje de humedad de la muestra, así como haber realizado el cálculo correspondiente a la determinación, dado en Base Seca; la fórmula es la siguiente:

$$\%EEBH = EEBS \left(1 - \frac{\%H}{100} \right) \qquad \text{Ecuación 11}$$

Dónde:

$\%EE_{BH}$ = Extracto Etéreo en Base Húmeda

$\%EE_{BS}$ = Extracto Etéreo en Base Seca (dato ya calculado)

$\%H$ = Porcentaje de Humedad (dato ya calculado)

Capítulo III

Procedimientos analíticos

Análisis químico proximal (Análisis proximal o análisis bromatológico)

Este análisis incluye seis determinaciones:

1. El contenido total de agua o humedad (H),
2. La ceniza o minerales totales (C),
3. Los lípidos, grasa cruda o Extracto Etéreo (EE) y
4. La fibra cruda (FC) son determinaciones cuantitativas gravimétricas o que se determinan calculándolos por diferencia de peso.
5. La determinación de *proteína cruda* (PC) es una determinación volumétrica que se basa en la cuantificación del nitrógeno total a través de la estequiometría de la reacción química que ocurre entre el nitrógeno de la muestra y los reactivos añadidos (ácido sulfúrico, hidróxido de sodio, ácido bórico y ácido clorhídrico).
6. La determinación del Extracto Libre de Nitrógeno (ELN) o carbohidratos totales se realiza por diferencia de 100; es decir, se asume que la muestra está constituida por estos seis subgrupos de nutrimentos:

$$H + C + EE + FC + PC + ELN = 100\%$$

Ecuación 1

Por lo tanto,

$$ELN = 100 - (\%H + \%C + \%EE + \%FC + \%PC)$$

Ecuación 2

Si la muestra está seca o deshidratada, o sea 0 % de humedad, entonces:

$$ELN = 100 - (\%C + \%EE + \%FC + \%PC)$$

Ecuación 3

y el análisis se dice que es en Base Seca (BS)

Procedimientos:

NOTA: Todos los procedimientos se realizan por triplicado

Determinación de humedad (h)

Materiales y equipos
Horno o estufa con control de temperatura, vacío o circulación de aire caliente
Termómetro: escala de 0 a 200 °C
Charolas de papel aluminio (5x5x 2 cm) o cajas de Petri, con identificación A, B y C ó 1, 2 y 3 (cuando el análisis se realiza por triplicado)
Balanza analítica
Espátula de acero inoxidable
Desecador con indicador de humedad

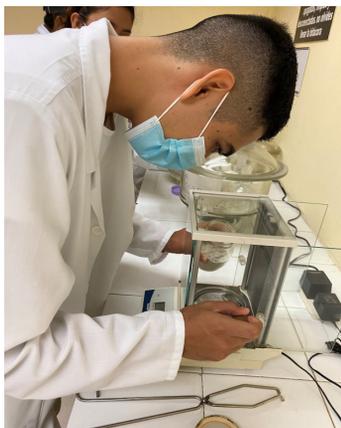


Figura 1 Peso muestra de Humedad

Método de secado al vacío a 95-100°C

7.003, AOAC-1984

1	Pesar una muestra que contenga aproximadamente 2.0 gramos de materia seca (PM)
2	Depositar la muestra dentro de un recipiente rectangular de papel aluminio o caja Petri, puesto previamente a peso constante (PRV).
3	Introducir la muestra en la estufa, manteniendo ésta a 95-100°C bajo una presión de < 100 mm Hg por aproximadamente 5 horas, o hasta que el peso de la muestra sea constante (PMS). (Para melazas, usar una temperatura < 70°C y presión < 50 mm Hg)
4	<p>Cálculos:</p> <p>% MATERIA SECA (MS)</p> $\%MS = \frac{FMS - PRV}{PM} \times 100 = (PMS - PRV) \frac{100}{PM}$ <p style="text-align: right;"><i>Ecuación 4</i></p> <p>PMS: incluye el PRV</p> <p>% HUMEDAD (H)</p> $\%H = 100 - \%MS$ <p style="text-align: right;"><i>Ecuación 5</i></p>

Método de secado a 135°C

Método 7.007, AOAC-1984

No usar la muestra seca resultante para análisis posteriores.

1	Regular la temperatura del aire en la estufa a 133-137°C.
2	Poner a peso constante la charola de aluminio [PCV] o caja Petri
3	Distribuir aproximadamente 2.0 gramos de muestra (PM) en el interior de unacharola de aluminio o caja Petri
4	Introducir la charola o caja Petri con la muestra a la estufa u horno, y evaporar elagua durante dos horas (o hasta peso constante)
5	Retirar la charola con la muestra seca de la estufa, y colocarla en un desecadorpara que se enfríe por cinco minutos. Pesar la charola con la muestra seca (PMS).
6	<p>Cálculos:</p> <p>% MATERIA SECA (MS)</p> $\% MS = (PMS - PCV) \frac{100}{PM}$ <p style="text-align: right;"><i>Ecuación 6</i></p> <p>PMS: incluye el PCV</p> <p>% Humedad = 100 - %MS</p> <p style="text-align: right;"><i>Ecuación 7</i></p>

Nota 1: La determinación de humedad de muestras sólidas también se puede realizar con una termobalanza, en la cual se lee directamente el % de humedad de la muestra.

Nota 2. Este no es un procedimiento general para todo tipo de muestras; recordar que con la aplicación de calor también se volatilizan otros compuestos, además del agua.

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

$$\%H + \%MS = 100\%$$

Ecuación 8

Nota 3 En las muestras líquidas de alimento, como leche, por ejemplo, eliminar el agua a bajas temperaturas (60 -70 °C) o con el método al vacío.

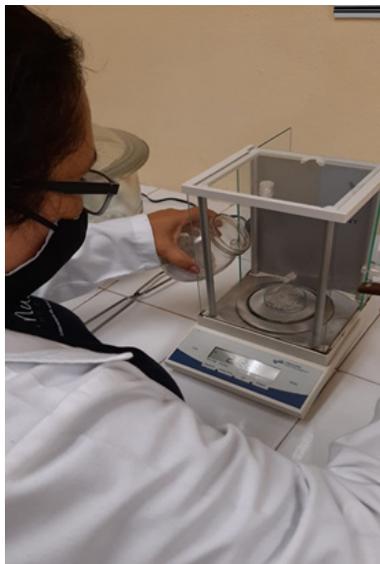


Figura 2 Agregando muestra fresca

Determinación de ceniza o minerales totales

Método 7.009 (AOAC- 1984)

Equipos y materiales
Mufla eléctrica con indicador de temperatura (600°C), mínimo
Crisoles de porcelana, marcados con punta de carbón
Balanza analítica
Desecador con indicador de humedad
Espátula
Pinza para Crisol
Guantes de asbesto
Parrilla de calentamiento
Campana de extracción de aire

Procedimiento

1	Los crisoles limpios e identificados (marcar con Grafito) con números o letras son introducidos a la mufla.
2	Subir gradualmente la temperatura de la mufla hasta 550-600°C. Mantener estatemperatura por dos horas o más (peso constante de los crisoles).
3	Retirar los crisoles calientes de la mufla y colocarlos en un desecador (cerrar el desecador cuando baje la temperatura de los crisoles). Esperar a que enfríen en el desecador cerrado y pesar los crisoles vacíos (PCV).
4	Adicionar de dos a tres gramos de muestra (PM) en cada crisol y quemar la muestra sobre la parrilla hasta que no se libere más humo (bajo la campana deextracción), cuidando que la muestra se carbonice lentamente para evitar el arrastre de partículas.
5	Introducir los crisoles con las muestras parcialmente quemadas en la mufla, y elevar gradualmente la temperatura hasta 550-600°C.
6	Mantener la temperatura de la mufla hasta que la ceniza adquiera un color blanco o gris-blanco (aproximadamente tres a cuatro horas).
7	Sacar los crisoles con ceniza de la mufla, enfriarlos en desecador y pesarlos (PCC).
8	<p>Cálculos:</p> $\% \text{ Cenizas} = (PCC - PCV) \frac{100}{PM}$ <p style="text-align: right;">Ecuación 6</p> <p>PCC: incluye el PCV</p>

Determinación de grasa cruda o extracto etéreo

Método 7.061-7.062 (AOAC, 1990).

Componentes solubles en agua, tales como carbohidratos, urea, ácido láctico, glicerol y otros componentes, pueden interferir en la extracción de la grasa. Si están presentes, extraer dos gramos de muestra con 50 porciones de 20 mL de agua sobre papel filtro en un embudo Büchner, antes de secar para extracción con éter o hexano.

Aparatos y materiales	Reactivos
Sistema Soxhlet (extractor con sifón) Refrigerante de rosario.	Éter anhidro o Hexano
Matraces Bola de fondo plano de 250mL, y condensador.	
Pinza para Crisol	
Balanza analítica	
Dedal de papel tipo Whatman No. 2	
Guantes de asbesto	

Los matraces del sistema Soxhlet deben identificarse con números y estar a peso constante,



Figura 3 Peso inicial de Dedal para Grasa Cruda

Procedimiento

1	Pesar de dos a tres gramos de muestra seca en forma de harina (PM) sobre un papel filtro (Whatman #2), y envolver evitando que se escape la harina (elaborar una especie de tubo con el papel; usar clips se es necesario); o usar un cono de extracción de papel prefabricado (con algodón por dentro y por fuera formando una tapa).
2	Depositar la muestra (envuelta o en el cono) en el extractor del sistema Soxhlet, cuidando que la altura de la muestra sea menor que la altura del sifón. Montar el sistema de extracción
3	Adicionar un volumen de disolvente equivalente a casi dos “sinfonadas”, por la parte superior del extractor (aproximadamente 200 mL).
4	Los matraces para recuperación de la grasa deben ponerse previamente a peso constante (PMV), a 120 °C por cuatro a cinco horas (con perlas de ebullición preferentemente) y manejarse con pinzas para Crisol para NO tocarlo con las manos.
5	Extraer la grasa de la muestra durante cinco a 16 ^h horas. La circulación de agua en el refrigerante o condensador debe ser suficiente para evitar la evaporación del disolvente (éter etílico o hexano). Cuidar que no se evapore el solvente pues es un producto inflamable.
6	Pasado el tiempo de extracción, poner nuevamente a peso constante los matraces que contienen la grasa (PMG) o extracto; así como el cartucho de extracción. Recuperar en un frasco de vidrio color ámbar el solvente sucio para su correcto desecho.
7	Calcular la grasa cruda o extracto etéreo con la fórmula: $\%EE = (PMG - PMV) \frac{100}{PM}$ <div style="text-align: right;"><i>Ecuación 10</i></div>



Figuras 4, 5 y 6 Extracción de Grasa Cruda por el Método Soxhlet

©: Depende del tipo de muestra. Al terminar la extracción, el disolvente del extractor debe ser transparente si el extracto es coloreado. También, coleccionar una gota de disolvente del extractor sobre una tira de papel filtro y secarla a temperatura ambiente, si permanece una mancha grasosa, proseguir la extracción.

Si el alimento se consume fresco hacer la corrección de Base seca a Base húmeda como ya se explicó anteriormente

$$\%EEBH = EEBS \left(1 - \frac{\%H}{100} \right)$$

Ecuación 11

Determinación de fibra cruda

Método del filtro con fibra de cerámica (7.066-7.070, AOAC-1984), modificado

La fibra cruda es la pérdida por ignición del residuo seco remanente, después de la digestión de la muestra con H_2SO_4 al 1.25 % e $NaOH$ al 1.25 % bajo condiciones específicas.

Aparatos y materiales	Reactivos
Equipo de digestión de fibra cruda con vaso Berzelius de 600mL	Solución de H_2SO_4 : 0.255 N (1.25 gramos/100 ml)
Matraz Kitassato de 500 mL	Solución de $NaOH$: 0.313 N (1.25 g./100 mL libre de Na_2CO_3)
Bomba de vacío	Etanol de 95 %,
Mufla eléctrica	Metanol o isopropanol
Crisoles Gooch	Éter de petróleo o éter etílico
Embudos Buchner	
Papel filtro a peso constante con identificación.	

Nota: checar la concentración del ácido y la sosa.



Figura 7 Peso inicial de papel filtro a peso constante.

Procedimiento

1	Desengrasar la muestra con éter de petróleo o éter etílico
2	Transferir el residuo desgrasado (2 gramos aproximadamente) al frasco de digestión (PM).
3	Adicionar 200 ml de solución hirviendo de ácido sulfúrico e inmediatamente conectar el frasco de digestión al condensador y calentar. Es esencial que el contenido del frasco empiece a hervir en un minutos y que la ebullición continúe bruscamente por 30 minutos; el material del frasco no debe pegarse a la pared.
4	Después de 30 minutos a de ebullición, remover el frasco, filtrar inmediatamente a través del sistema Buchner y lavar con agua hirviendo hasta que el agua de lavado no de reacción ácida. El papel no debe estar a peso constante
5	Poner a hervir la solución de NaOH. Lavar la muestra directamente sobre el papel filtro del Buchner con 200 ml de NaOH, recibiendo la solución de lavado en el frasco de ebullición (usar una pizeta).
6	Conectar el frasco al condensador y hervir exactamente 30 minutos.
7	Al final de los 30 minutos de ebullición remover el frasco y filtrar inmediatamente a través de un sistema Buchner usando un papel filtro de peso constante conocido, P1.
8	Después de un lavado completo con agua, sobre el papel filtro, lavar con unos 15 ml de alcohol.
9	Secar el papel filtro y su contenido en estufa a 60-70°C hasta peso constante, enfriar en desecador y pesar (P2)
10	Incinerar el contenido del papel en la mufla a 550-600°C en un crisol de peso constante (P3) hasta obtener ceniza de color blanco o gris-blanco. Enfriar en desecador y pesar (P4).
11	Cálculos: $\% FC = (P_2 + P_3 - P_1 - P_4) \cdot \frac{100}{PM}$ <div style="text-align: right;"><i>Ecuación 12</i></div>



Figura 8 Digestión de Fibra Bruta



Figura 9 Filtrado de Muestra digerida con reactivo S-K.

Método rápido para determinación de fibra cruda [celulosa]

Método de Van de Kamer and Van Ginkel (1952)

Principio del método. La muestra finamente molida es digerida hirviéndola por exactamente 30 minutos con el reactivo de Scharrer y Kurschner [ácido nítrico y ácido tricloroacético disueltos en ácido acético al 70%]. La celulosa y la grasa con atacadas únicamente en ligero grado, las pentosanas se disuelven casi completamente, mientras que el almidón, la proteína y la lignina se disuelven totalmente.

Aparatos y materiales	Reactivos
Vaso Berzelius de 600 mL	Ácido nítrico
Digestor de Fibra	Ácido acético
Bomba de vacío	Ácido tricloroacético
Matraz kitasato de 500 mL	Reactico S-K
Embudo Buchner	Acetona
Vidrio de reloj	Agua caliente
Papel filtro de peso constante previamente rotulado con punta de grafito.	Horno de secado

Procedimiento

1	Moler la muestra SECA hasta un tamaño de partícula de aproximadamente 0.6 mm de diámetro.
2	Pesar aproximadamente 1.0 gramo de muestra molida y desgrasada (PM).
3	Transferir la muestra a un Vaso Berzelius y adicionar 30 ml o menos de reactivo S-K precalentado a punto de ebullición.
4	Colocar en el digestor, cuidar que el flujo de agua de enfriamiento sea constante.
5	Llevar el contenido del vaso a ebullición lo más rápido posible.
6	Hervir por exactamente 30 minutos.
7	Filtrar en caliente a través de un filtro con fondo de vidrio poroso, de poro mediano (puesto previamente a peso constante = PF1) o a través del embudo Buchner con papel filtro de peso constante (PP).
8	Lavar el residuo con agua caliente

9	Lavar nuevamente el residuo con acetona (hasta decoloración).
10	Poner a peso constante el filtro (PF2) o el papel filtro con fibra (PPf) sobre un vidrio de reloj en un Horno de Secado a 60 °C por 24h.
11	<p>Cálculos:</p> $\% \text{ Fibra} = (PF_2 - PF_1) \frac{100}{PM} \quad \text{Ecuación 12}$ $\% \text{ Fibra} = (PP_1 - PP) \frac{100}{PM} \quad \text{Ecuación 13}$ <p>De la misma manera, si el producto analizado se consume fresco, realizar la corrección a base húmeda a través de la siguiente fórmula:</p> $\% \text{ FCBH} = \text{FCBS} \left(1 - \frac{\%H}{100} \right) \quad \text{Ecuación 14}$

Determinación de proteína cruda por método microkjeldahl (47.021-47.023, AOAC, 1984).

No aplicable a materiales que contienen enlaces N-N o N-O.

Aparatos y materiales	Reactivos
Balanza analítica	K_2SO_4 (libre de N)
Matraces Erlenmeyer de 250 mL	Solución de NaOH - Tiosulfato de Sodio
Pipetas de 10 mL	Solución saturada de ácido bórico (5%)
Sistema de destilación (refrigerante de rosario, matraz de destilación, tripié con pinzas de sujeción, mechero y tripié con malla de asbesto, mangueras y agua corriente para enfriamiento).	Indicador de rojo de metilo/verde de bromocresol o rojo de metilo /azul de metileno
Digestor microKjeldahl	HCl 0.02-0.05N
Matraz microKjeldahl de 30 mL	H_2SO_4 concentrado (D=1.84, libre de N)
Tripié con pinza para Bureta y Bureta de 25 mL	HgO rojo

Procedimiento

1	Moler o triturar la muestra (fresca o seca, hasta malla 100)
2	Pesar una cantidad de muestra de tal manera que requiera de 3 a 10 mL de HCl 0.02-0.05 N (5 a 100 mg). Si el peso de la muestra es < 10 mg usar una balanza microquímica. Depositar en matraz MicroKjeldahl de 30 mL.
3	Agregar 2.0 g. de catalizador microKjeldahl (1.9 gramo K_2SO_4 + 40 mgHgO) y 2.0 ml de H_2SO_4 Si el peso de la muestra es > 15 mg, agregar 0.1 ml de H_2SO_4 por cada 10mg de materia orgánica seca arriba de 15 mg.
4	Adicionar perlas de ebullición (opcional) y digerir la muestra de 1 a 1.5 horas después de que toda el agua ha sido evaporada y el ácido inicia suebullición. Evitar proyección del material al inicio de la digestión.
5	Enfriar y adicionar poca agua para disolver los sólidos.
6	Transferir la solución al aparato de destilación y lavar el matraz Microkjeldahl de 5 a 6 veces con porciones de agua de 1-2 mL; colocar un excedente de agua hasta la mitad del matraz de destilación, con ayuda de un embudo de tallo largo.
7	Agregar al sistema de destilación 10 mL de solución de sosa tiosulfato y empezar la operación.
8	Colocar un matraz de 125 ó 250 ml con 5 ml de ácido bórico y 3 gotas de indicador bajo el extremo del condensador, cuidando que el extremo de éste (un tramo de manguera) quede sumergido en la solución de ácido bórico.

9	Colectar 50 mL de destilado.
10	Titular el destilado con HCl 0.02-0.05 N hasta la aparición de un color violeta (si se utiliza el indicador RM/VBC). Correr un blanco (sin muestra).
11	<p>Cálculos:</p> $\%N \text{ total} = (14.007) (V_m V_b) (N) \frac{100}{PM \text{ en mg}} \quad \text{Ecuación 15}$ <p>Dónde:</p> <p>V_m= Volumen de HCl gastado en la titulación de la muestra. V_b= Volumen de HCl gastado en la titulación del blanco. N = Normalidad de ácido clorhídrico. PM= Peso de la muestra, en mg</p>
12	<p>% PROTEINA CRUDA</p> $\%PC = \%N \text{ total} \times \text{Factor} \quad \text{Ecuación 16}$ <p>El factor se selecciona de acuerdo con el tipo de muestra (tabla 6)</p>

Tabla 6. Factores de conversión nitrógeno/proteína

Materia prima	Factor	Materia prima	Factor
Trigo (harina blanca)	5.83	Soya	6.71
Trigo (otras harinas)	5.70	Nueces	5.41
Macarrones	5.70	Almendras	5.18
Salvado	6.31	Otras nueces	5.30
Arroz	5.95	Lácteos	6.38
Cebada, avena, centeno,	5.83	Gelatina	5.55
Maíz	6.25	Otros alimentos	6.25

Otros factores según Heidelberg *et al.* (1975), por grupo de alimentos son:

- a. Carne, huevos, frutas, vegetales y semillas de leguminosas 6.25
- b. Leche y quesos 6.38
- c. Productos de panadería 5.70
- d. Cacahuates 5.46
- e. Nueces 5.30

Extracto libre de nitrógeno [ELN] o carbohidratos totales

El ELN se calcula por diferencia de 100:

$$ELN = 100 - (\%H + \%C + \%EEBH + \%PCBH + \%FCBH) \quad \text{Ecuación 17}$$

Valor energético teórico (vet) o energía metabolizable (em)

Se considera que únicamente aportan energía los componentes señalados en la tabla 7.

Tabla 7. Factores de Atwater

Componente	Factor de Atwater, kilocaloría/gramo
Proteína	4
Carbohidratos	4
Grasas o aceites	9

$$VET = EM = (\%PCBH + \%ELN) \times 4 + EEX9 \frac{\text{Kcal}}{100} \text{ alimento} \quad \text{Ecuación 18}$$

Capítulo IV

Preparación de reactivos para el análisis proximal

Reactivos para determinación de proteínas

1. Catalizador microKjeldahl.

Pesar 1.9 gramos de K_2SO_4 y mezclar con 40 mg de HgO rojo.

NOTA. Moler por separado el K_2SO_4 y mezclar perfectamente

2. Indicador microKjeldahl

<p>ROJO DE METILO-AZUL DEMETILENO (2:1)</p>	<p>A.1. Solución alcohólica de rojo metilo al 0.2 % (w/v) A.2. Solución alcohólica de azul metileno al 0.2 % (w/v) SOLUCIÓN A.1. Pesar 100 mg de rojo de metilo y disolverlo en alcohol etílico de 95 %. Aforar a 50 ml con etanol. SOLUCIÓN A.2. Pesar 50 mg de azul de metileno y disolverlo en alcohol etílico de 95 %. Aforar a 25 ml con etanol. Mezclar las soluciones A.1 y A.2 y guardar en goteros de color ámbar (75 ml de indicador aproximadamente).</p>
<p>ROJO DE METILO-VERDE DE BROMOCRESOL (1:5)</p>	<p>B.1. Solución alcohólica de rojo metilo al 0.2 % (w/v) B.2. Solución alcohólica de verde de bromocresol al 0.2 % (w/v) SOLUCIÓN B.1. Pesar 0.02 gramos de rojo metilo y disolverlo en alcohol etílico de 95 %. Aforar a 10 ml con etanol. SOLUCIÓN B.2. Pesar 0.1 gramos de verde de bromocresol y disolverlo en alcohol etílico de 95 %. Aforar a 50 ml con etanol. Mezclar las soluciones B.1 y B.2 y guardar en goteros de color ámbar (60 ml de indicador aproximadamente)</p>

3. Procedimiento de valoración química del ácido clorhídrico (HCl) 0.05 N

Fuerza del ácido, P = 36.5 %	Cantidad de HCl concentrado a utilizar (C _{au}) C _{au} = (PM) (N) (V)/10PD...
Densidad del ácido, D = 1.18 gramos/ml	C _{au} = (36.5) (0.05) (1000)/10(36.5)(1.18) C _{au} = 4.237 mL ... [Agregar un exceso de 50 % ó más]
Peso molecular de HCl, PM = 36.5 gramos/mol	Medir 4.3* ml de HCl concentrado y adicionarle agua destilada hasta 1000 mL, en un matraz aforado de 1000 mL
Normalidad requerida, N=0.05 Volumen requerido, V = 1000 mL	*En este caso, agregar 6.5 ml de HCl concentrado (36.5 %) Utilizar la fórmula para sustancias líquidas; para sustancia sólidas suponer D = 1.

Valoración del HCl

Disolver aproximadamente 50 mg (0.05 g.) de Bórax* deshidratado en 50 mL de agua destilada, agregar 2-3 gotas de indicador microKjeldahl, y titular con el HCl cuya concentración exacta se desconoce. Realizar esto por triplicado.

*Tetraborato de sodio. También puede utilizarse carbonato de sodio.

$$N_{\text{ácido}} = \frac{\text{mg bórax}}{(\text{mL HCl})(190.69)} \quad \text{Ecuación 19}$$

$$N = \frac{N_1 + N_2 + N_3}{3} = \text{Normalidad exacta e HCl} \quad \text{Ecuación 20}$$

4. Ácido bórico al 4% (w/v).

Pesar 40 g. de ácido bórico, disolver en agua caliente y aforar a 1000 mL Esta es una solución saturada

5. Solución de Sosa-tiosulfato

Sosa: NaOH, granulado

Tiosulfato de sodio [Na₂S₂O₃·5H₂O].

Pesar 60 gramos de NaOH y 5 gramos de tiosulfato, mezclar y disolver en agua destilada. Aforar a 100 mL con agua destilada.

O bien, pesar 600 g de NaOH y 50 g de tiosulfato, mezclar y disolver en agua. Aforar a 1000 mL con agua destilada.

(Precaución: reacción exotérmica)..Usar un baño de agua fría.

Procedimiento de preparación de reactivos para determinación de fibra

6. Solución neutro detergente

A.1. Pesar 30 g. de Lauril sulfato de sodio A. 2. Pesar 18.61 g.de EDTA.10 H ₂ O-Sal disódica A. 3. Pesar 4.56 gramos de Na ₂ HPO ₄ anhidro A. 4. Medir 10 mL de 2-etoxietanol (Etilenglicol monoetil éter)	Mezclar las sustancias A.1, A.2, A.3 y A.4, y agregar 1000 mL de agua destilada. Evitar al máximo la formación excesiva de espuma. Verificar que el pH final de la solución esté entre 6.9 y 7.1
---	---

7. Preparación de reactivo de Scharrer-Kurschner (reactivo S-K)

Acido tricloroacético = 50 g. Ácido acético al 70 % Ácido nítrico de 65 % (D:1.4) = 124 mL	Disolver la sustancia A.1 en 1-1.5 L de la sustancia A.2, adicionar el ácido nítrico (A.3) y completar a 2 litros con ácido acético (A.2).
--	--

Correcciones en los cálculos del análisis proximal

1. Base húmeda [bh] y base seca [bs].

$$\% \text{ MS} = 100 - \% \text{ H}_{bh}$$

$$P_{bhi} = \frac{(100 - H_{bhi})P_{bsi}}{(100)} = \frac{(\% \text{ MS})(P_{bsi})}{(100)} \quad \text{Ecuación 21}$$

$$P_{bhi} = \frac{(100 - H_{bhi})P_{bsi}}{(100 - H_{bh})} = \frac{(100)(P_{bhi})}{(\% \text{ MS})} \quad \text{Ecuación 22}$$

Dónde:

P_{bhi} = % del componente i, en base húmeda

P_{bsi} = % del componente i, en base seca

H_{bh} = % de humedad, en base húmeda.

i = Proteína, lípido, ceniza, fibra o carbohidrato

2. Corrección de fibra por grasa y humedad.

$$F_{bh} = \frac{(100 - H_{bh})(F_{bssg})}{100 + F_{bssg} + H_{bs}} \quad \text{Ecuación 23}$$

Donde

F_{bh} = % de fibra, en base húmeda

F_{bssg} = % de fibra, en base seca* y sin grasa

H_{bs} = % humedad en base seca (*humedad de equilibrio, 2-6 %)

Fórmulas desarrolladas por J. Ballinas D.

Anexos

Anexo A. Otros métodos para determinación de proteínas

Método de la reacción Biuret

Reactivos	Equipos y materiales
$\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$	Espectrofotómetro o colorímetro
Tartrato de sodio y potasio ($\text{NaKC}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) ₄	Tubos de ensayo de 10-16x150 mm
NaOH al 10 %	Pipetas
Reactivo de Biuret	Baño María a 37 ° C
	Gradilla
	Termómetro
	Agitador magnético

Procedimiento

1	Preparar una solución de 10 mg/mL de albúmina de suero bovino. Enumerar consecutivamente 11 tubos de ensayo de 10-16x150 mm. En cada uno de los tubos pipetear los volúmenes siguientes de la solución proteínica anterior: 0.0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 y 1.0 mL.
2	Ajustar a 1.0 mL el volumen de cada tubo con agua destilada.
3	Adicionar 4.0 mL del reactivo de Biuret a cada tubo y agitar la mezcla unos pocos segundos.
4	Incubar los tubos a 37 °C durante 20 minutos. El color es estable por corto tiempo(1-2 h).
5	Determinar la absorbancia de cada muestra a una longitud de onda de 540 nm. Leer las muestras tan pronto como sea posible.
6	Graficar los datos obtenidos de absorbancia contra la concentración o cantidad de proteína en cada tubo.
7	Ensayar las muestras desconocidas por el método anterior y determinar su contenido proteínico con la curva estándar preparada con antelación.

Método de Lowry (1951)

Reactivos	Equipos y materiales
Na ₂ CO ₃	Espectrofotómetro o colorímetro
NaOH 0.5 N	Tubos de ensayo de 10 -16x150 mm
CuSO ₄ · 5H ₂ O	Agitador magnético
Tartrato de potasio	Gradilla
Albúmina de suero bovino	Matraces Erlenmeyer de 125 ml
Reactivo de Folin-Fenol 2N	Matraces Erlenmeyer de 50 ml

Procedimiento

1	Preparar una solución de 0.3 mg/mL de albúmina de suero bovino. Enumerar consecutivamente 11 tubos de ensayo de 10-16x150 mm. En cada uno de los tubos pipetear los volúmenes siguientes de la solución proteínica anterior: 0.0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 y 1.0 ml.
2	Ajustar el volumen de cada tubo a 1.0 mL con agua destilada
3	Mezclar completamente 15 ml del reactivo A, 0.75 ml del reactivo B y 0.75 ml del reactivo C en un matraz Erlenmeyer de 50 ml.
4	Adicionar 1 ml de la mezcla anterior a cada uno de los tubos preparados arriba. Mezclar completamente.
5	Incubar los tubos a Temperatura Ambiente durante 15 minutos
6	Mientras los tubos están siendo incubados, agregar 5 ml del reactivo Folin- Fenol 2N a 50 ml de agua destilada en un matraz Erlenmeyer de 125 ml. Mezclar completamente
7	Después del período de incubación, pipetear 3.0 ml de la solución de Folin a cada uno de los tubos. Mezclar de inmediato
8	Incubar las muestras a Temperatura Ambiente durante 45 minutos.
9	Determinar la absorbancia de cada muestra a una longitud de onda de 540 nm. La absorbancia también puede ser determinada a 660 ó 750 nm
10	Leer la absorbancia tan pronto como sea posible después del período de incubación.
11	El color de la muestra permanece estable por casi 45 minutos a una hora después del período de incubación
12	Graficar la absorbancia contra la concentración o cantidad de proteína para obtener la curva estándar. Usar el mismo procedimiento para las muestras problema.

Método de Bradford (1976).

Reactivos	Equipos y materiales
Azul brillante de Coomassie -250	Espectrofotómetro
2-mercaptoetanol	Super-agitador (vórtex)
Triton X-100	Tubos de ensayo de 12x100 mm
Dodecil sulfato de sodio	
Etanol al 50 %	
NaCl	
EDTA	
Acido fosfórico al 85 %	
Albúmina de suero bovino	
Albúmina de suero humano	
Quimotripsinógeno A	
Citocromo C	
Hemoglobina	

Procedimiento

1	Enumerar consecutivamente una serie de 11 tubos de ensayo de 12x100mm
2	Preparar una solución proteínica de albúmina de suero bovino de 1000 mg/ml.
3	Pipetear en cada tubo 0.00, 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09 y 0.1 ml de la solución anterior
4	Ajustar el volumen de los tubos a 0.1 ml con un buffer apropiado (etanol 95 %, NaCl 5M, EDTA 0.1M).
5	Adicionar 5.0 ml del reactivo de Coomassie a cada uno de los tubos. Mezclar los contenidos por inversión o con vórtex.
6	Después de 60 minutos, leer la absorbancia a 595 nm contra un blanco preparado con 0.1 ml de buffer y 5 ml del reactivo Bradford (azul de Coomassie).
7	Graficar la absorbancia contra el peso de proteína. La curva estándar resultante es usada para determinar la cantidad de proteína en la muestra problema.

Anexo B. Otros métodos para determinación de fibra

b.1. Fibra neutra detergente

Método de Van Soest and Wine (1967).

Este método también se conoce como paredes celulares o fibra detergente neutra (FDN).

Procedimiento general. Hervir a reflujo durante una hora, la muestra finamente molida con la solución detergente neutra. Después del tiempo de ebullición (sin burbujear bruscamente), filtrar la mezcla caliente en un crisol con fondo de vidrio poroso (poro medio) puesto previamente a peso constante (P1), lavar el filtro con agua caliente con ayuda de vacío; lavar nuevamente pero con acetona hasta decoloración. Secar el filtro con la muestra hasta peso constante (P2). En el caso de muestras ricas en almidón, adicionar una solución de amilasa para digerir los almidones.

La FDN se calcula con:

$$\%FND = (P_2 - P_1) \frac{100}{PM} \quad \text{Ecuación 24}$$

Si se requiere realizar corrección por ceniza, hay que incinerar el residuo seco a 600 °C, enfriar y poner a peso constante (P3).

$$\%FND = (P_2 - P_3) \frac{100}{PM} \quad \text{Ecuación 25}$$

Reactivos	Equipos y materiales
Solución Netra Detergente	Sistema de reflujo
Decahidronaftaleno	Crisoles de vidrio sinterizado de poro medio, 40-50 ml de capacidad
Acetona	Condensador con boquilla esmerilada
Sulfito de sodio anhidro	Parrilla electrica
	Matraz balón de fondo plano de 250mL, boca esmerilada

Procedimiento

1	Pesar 0.5-1.0 g. (PM) de muestra seca y molida (malla 40), y colocarlo enel sistema de reflujo.
2	Adicionar, en orden, 100 mL de solución detergente neutra fría (a TA), 2.0ml de decahidronaftaleno y 0.5 gramos de sulfito de sodio
3	Calentar a ebullición en 5 a 10 minutos. Reducir el calor cuando empiezal a ebullición para evitar la formación de espuma. Controlar la ebullición acierto nivel y reflujar por 60 minutos a partir de que empieza la ebullición.
4	Filtrar en los crisoles de vidrio (filtros) de peso constante conocido (P1). Aplicar vacío hasta que el filtro esté totalmente lleno, enjuagar la muestra con un mínimo de agua caliente (80- 90 °C). Lavar dos veces con acetona y secar con ayuda de succión.
5	Secar el crisol a 100 °C por 8 horas o, toda la noche a 60 °C.
6	Enfriar en desecador y pesar (P2).
7	Reportar el rendimiento de fibra detergente neutra recuperada como constituyentes de la pared celular $\% \text{Paredes celulares} = (P_2 - P_1) \frac{100}{PM} \quad \text{Ecuación 26}$ $\% \text{Contenido celular} = 100 - \% \text{paredes celulares} \quad \text{Ecuación 27}$
8	Corrección por ceniza (fibra) Incinerar el contenido del crisol a 550- 600 °C en la mufla durante 3 horas. Enfriar en desecador y pesar (Pc). $\% \text{Cenizas de la FDN} = (P_c - P_1) \frac{100}{(P_2 - P_1)} \quad \text{Ecuación 28}$ $\% \text{Fibra neutro detergente} = (P_2 - P_c) \frac{100}{(PM)} \quad \text{Ecuación 29}$

Referencias bibliográficas

- AOAC, *Official Methods of Analysis* (1990). Association of Official Analytical Chemist. 16 th. Ed., Washington, DC.
- FAO (1968). *Amino acid content of food and biological data on proteins*. M. Autret, Rome.
- Prosky, L., Asp, N.G., Furda, I., Devries, J.W., Schweizer, T.F. and Harland, B.F. (1984). *Determination of total dietary fiber in foods, food products ad total diets : Interlaboratory study*. J. Of Assoc. Off. Anal. Chem., 67(6):1044-1052.
- SIBBALD, I.R. (1976). *A bioassay for true metabolizable energy in feedingstuff*. *Poultry Science*, 55: 303-208.
- Van De Kamer J.H. and L.Van Ginkel (1952). *Rapid determination of crude fiber in cereals*. *Cereal Chemistry*, 29(4):239-250.
- Van Soest P.J. (1963). *Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. I. Preparation of fiber residues of low nitrogen content*, J. Assoc. Off. Anal. Chem., 46(5):825-829.
- Van Soest P.J. and R.H. Wine (1967). *Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell-wall constituents*, J. Assoc. Off. Anal. Chem., 50: 50- 55.

Libros consultados

- Araneo Antonio (1972). *Química analítica cuantitativa*. Ed. Mc Graw-Hill, México
- Fritz James and Schenk George H. (1993). *Química analítica cuantitativa*. Ed. Limusa, México.
- Gordus Adon A. (1987). *Química analítica*. Ed. Mc Graw-Hill, México.

- Hans G.M. (1975). Métodos modernos de análisis de alimentos. Volumen 2. Métodos cromatográficos incluyendo el intercambio iónico. Ed. Acribia, España.
- Harris Daniel C. (2003). Análisis químico cuantitativo. 3a. ed., Ed. Reverte, S.A., México.
- Lees R. (1980). *Food analysis: Analytical and quality control methods for the manufacturer and buyer*. Leonard Hill Books, Gran Bretaña.
- Luna Rangel Raymundo (1982). Fundamentos de química analítica. Volumen I y II. Ed. Limusa, México.
- Orozco D. Fernando (1977). Análisis químico cuantitativo. Ed. Porrúa, S.A., México. Salfield J.R. (1974). Prácticas de ciencia de los alimentos. Ed. Acribia, España.
- Pearson David (1976). *The Chemical Analysis of Foods*. Ed. Churchill Livingstone, New York

Rectoría

Mtro. Juan José Solórzano Marcial
RECTOR

Dra. Magnolia Solís López
SECRETARIA GENERAL

Mtro. Rafael de Jesús Araujo González
SECRETARIO ACADÉMICO

Lic. Enrique Pérez López
DIRECTOR GENERAL DE EXTENSIÓN UNIVERSITARIA

Mtro. Sergio Mario Galindo Ramírez
DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN Y ALIMENTOS

**Colección
Montebello**



UNICACH

*El análisis proximal,
práctica e interpretación de resultados*

El diseño tipográfico estuvo a cargo de Salvador López Hernández y la corrección de Luciano Villarreal Rodas. El cuidado de la edición fue supervisada por la Oficina Editorial de la UNICACH, durante el rectorado del Mtro. Juan Jose Solórzano Marcial

El análisis Químico Proximal forma parte de las determinaciones cuantitativas que se realizan a los alimentos, así como los análisis toxicológicos y bromatológicos; en cuanto a los análisis cualitativos se encuentran los físicos y sensoriales que son indispensables para determinar la calidad del mismo.

La presente obra enmarca la importancia para los nutriólogos y tecnólogos en alimentos al determinar, a través del uso de técnicas internacionales adaptadas a la infraestructura básica que se encuentra en un laboratorio de ciencias, el aporte nutritivo de los diversos alimentos naturales y procesados, convencionales o no convencionales que se consumen en nuestro estado; dichas determinaciones como la humedad, cenizas, grasa cruda, proteína bruta y fibra bruta, además de calcular el Valor Energético Total de un alimento, sirve para la aplicación de éste aporte tanto en el etiquetado del producto, como en el cálculo dietético para su incorporación en una dieta normal o terapéutica tanto a población abierta o específicamente a cierto grupo de edad.