

**NMX-Y-305-1997-SCFI**

**ALIMENTOS PARA ANIMALES - HARINA DE ALFALFA -  
ESPECIFICACIONES**

**ANIMAL FEEDS - ALFALFA MEAL - SPECIFICATIONS**

## **PREFACIO**

En la elaboración de esta norma mexicana participaron las siguientes Instituciones y Organizaciones:

- ALIMENTOS CONCENTRADOS, S.A. DE C.V.
- ASOCIACIÓN MEXICANA DE ESPECIALISTAS EN NUTRICIÓN ANIMAL, A.C.
- CÁMARA NACIONAL DE LA INDUSTRIA DE TRANSFORMACIÓN  
Sección 49 - Fabricantes de Alimentos Balanceados para Animales;
- COMITÉ TÉCNICO DE NORMALIZACIÓN NACIONAL DE ALIMENTOS PARA ANIMALES
- CONSEJO NORTEAMERICANO DE GRANOS FORRAJEROS
- MALTA TEXO, S. A.
- SEMILLAS Y SUBPRODUCTOS ALIMENTICIOS, S.A. DE C.V.
- SECRETARÍA DE AGRICULTURA, GANADERÍA Y DESARROLLO RURAL  
Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP);
- UNIÓN NACIONAL DE AVICULTORES

## ÍNDICE DEL CONTENIDO

Número del Capítulo	Página
0 <b>Introducción</b>	1
1 <b>Objetivo y campo de aplicación</b>	2
2 <b>Referencias</b>	2
3 <b>Definiciones</b>	2
4 <b>Clasificación y designación</b>	3
5 <b>Especificaciones</b>	3
6 <b>Muestreo</b>	5
7 <b>Métodos de prueba</b>	5
8 <b>Marcado y etiquetado</b>	10
9 <b>Bibliografía</b>	11
10 <b>Concordancia con normas internacionales</b>	11

**ALIMENTOS PARA ANIMALES - HARINA DE ALFALFA - ESPECIFICACIONES****ANIMAL FEEDS - ALFALFA MEAL - SPECIFICATIONS****0 INTRODUCCIÓN**

La alfalfa es una planta herbácea, perenne, que pertenece a la familia de las leguminosas, su raíz llega a medir hasta 9 m o más, tiene tallos delgados, erectos y muy ramificados, de 60 cm a 70 cm de altura, sus hojas tienen tres folíolos oblongos y ovalados, sus flores en racimos son libres, pequeñas y según la variedad sus colores pueden ser moradas, amarillas o blancas. El fruto maduro es una vaina curva de color café, ligeramente vellosa, que contiene semillas de forma ovalada en unas especies, o arriñonadas en otras, con una cicatriz en una depresión ancha cerca de un extremo en las primeras, o con una incisión bien definida cerca de la mitad en las segundas; su color varía entre amarillo verdoso y café claro; miden aproximadamente 1,5 mm, se aprovecha la planta en sí para forraje, la que se cosecha continuamente en cortes espaciados o periódicos alrededor de cada 30 días, según el clima o condiciones de cultivo.

**0.1 Formas**

La alfalfa puede tener las siguientes presentaciones:

Deshidratada, conserva su color verde después que se ha secado en una deshidratadora, con un máximo de humedad del 10 %.

Verde, conserva su color y humedad después de cosechada, por lo que es un producto "fresco".

**0.2 Usos**

La harina de alfalfa se emplea como ingrediente en la elaboración de alimentos para todas las especies animales.

## 1 OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Esta norma mexicana establece las características de calidad que debe cumplir la harina de alfalfa que se comercializa en territorio nacional y se emplea como ingrediente en la alimentación animal.

## 2 REFERENCIAS

Para la correcta aplicación de esta norma, deben consultarse las siguientes normas mexicanas vigentes:

NMX-B-231	Cribas para clasificación de materiales granulares.
NMX-Y-093	Determinación de cenizas en alimentos para animales.
NMX-Y-094	Determinación de fibra cruda en alimentos para animales.
NMX-Y-098	Alimentos para animales.- Determinación de humedad.
NMX-Y-111	Muestreo de alimentos balanceados e ingredientes mayores para animales.
NMX-Y-118	Alimentos balanceados e ingredientes para animales.- Determinación de proteína cruda.
NMX-Y-143	Etiquetado y rotulado en envases de alimentos balanceados e ingredientes mayores para animales.

## 3 DEFINICIONES

Para propósitos de esta norma, se establecen las siguientes definiciones:

### 3.1 Harina de alfalfa

Es el polvo producido al deshidratar y moler la alfalfa, con el fin de ser utilizada como ingrediente en los alimentos para los animales. Su presentación final puede ser en polvo o en comprimidos (pellets).

### 3.2 Harina de hojas

Es el polvo obtenido exclusivamente de hojas de alfalfa, a través de tamices o por el procedimiento industrial de ciclones, en donde se absorbe el polvo fino de las hojas.

### 3.3 Harina de tallos

Se hace a partir del residuo que queda después de tamizar la harina de alfalfa.

### 3.4 Harina integral

Es la que se obtiene al moler el tallo y las hojas de la alfalfa.

## 4 CLASIFICACIÓN Y DESIGNACIÓN DEL PRODUCTO

La harina de alfalfa se clasifica en tres grados de calidad, y estos se designan de acuerdo al tipo de harina y al contenido de proteína de la siguiente manera (véase tabla 1).

Grado A -	Harina de hojas
Grado B -	Harina integral
Grado C -	Harina de tallos

## 5 ESPECIFICACIONES

La harina de alfalfa en sus tres grados de calidad, debe cumplir con las siguientes especificaciones:

### 5.1 Sensoriales

#### 5.1.1 Olor

Característico, libre de olores ajenos como: humedad, fermentación, insecticida, rancio o quemado.

#### 5.1.2 Color

Verde o verde amarillento.

## 5.2 Físicas de cernido

### 5.2.1 Harina de hojas (grado A)

El 100 % de esta harina debe pasar por la malla número 0.850 (No. 10), de acuerdo a lo establecido en la norma mexicana NMX-B-231 (véase 2 Referencias).

### 5.2.2 Harina integral y harina de tallos (grado B y C)

El 100 % de esta harina debe pasar por la malla número 1.18 (No. 16), de acuerdo a la norma mexicana NMX-B-231 (véase 2 Referencias).

## NOTAS

1- En la elaboración de comprimidos se debe proporcionar tamaño y consistencia de acuerdo a la especie animal en que se vayan a emplear y sus resistencia debe ser de conformidad al aglutinante empleado (agua, bentonita, melaza u otros).

2- El producto objeto de esta norma debe estar libre de adulteraciones.

## 5.3 Químicas

La harina de alfalfa debe cumplir con las especificaciones químicas que se indican en la tabla 1.

**TABLA 1.- Propiedades químicas de la harina de alfalfa**

Indicadores	Grado A harina de hojas		Grado B harina integral		Grado C harina de tallos		Métodos de prueba véase
	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo	
Proteína %	24		18		15		NMX-Y-118
Humedad % harina comprimido		11 12				11 12	NMX-Y-098
Fibra cruda %		16				16	NMX-Y-094
Cenizas %		10				10	NMX-Y-093
Xantofilas mg/kg	200		165		85		inciso 7.1

## 6 MUESTREO

6.1 El muestreo del producto puede establecerse de común acuerdo entre vendedor y comprador. A falta de este acuerdo se recomienda seguir la norma mexicana NMX-Y-111 (véase 2 Referencias).

## 7 MÉTODOS DE PRUEBA

Para verificar las especificaciones que se establecen en la presente norma, se deben aplicar las normas mexicanas que se indican en el capítulo 2 de Referencias y el método de prueba que a continuación se establece:

7.1 Determinación de xantofilas en plantas secas y alimentos balanceados - Cromatografía en columna.

7.1.1 Fundamento

Este método determina fotométricamente las xantofilas, separado en columnas cromatográficas, de plantas secas y alimentos balanceados.

7.1.2 Reactivos y materiales

7.1.2.1 Reactivos

7.1.2.1.1 Acetona

Acetona anhidra que no contenga alcohol. Para deshidratarla destilar sobre granallas de zinc malla número 2.00 (No. 10), de acuerdo a lo establecido en la norma mexicana NMX-B-231 (véase 2 Referencias).

7.1.2.1.2 Adsorbente I

Durante 1 h a 2 h, mezclar en una mezcladora 1:1 sílica G y tierra de diatomeas.

7.1.2.1.3 Adsorbente II

Durante 1 h a 2 h, mezclar en una mezcladora 1:1 magnesia activada y tierra de diatomeas.

7.1.2.1.4 Eluyentes

- a) Pigmentos monohidroxi (MHP) (zeinoxantina, criptoxantina), hexano - acetona (90:10).

- b) Pigmentos dihidroxi (DHP) (luteína, zeaxantina y sus isómeros), hexano - acetona (80:20)
- c) Pigmentos polioxi (POP) (violaxantina, neoxantina y otros).
- d) Xantofilas totales (TX), hexano - acetona - metano (80:10:10).

#### 7.1.2.1.5 Hexano

Hexano de alta pureza o hexano comercial destilado sobre hidróxido de potasio.

#### 7.1.2.1.6 Hidróxido de potasio metanólico (KOH) al 40 %

Disolver 40 g de hidróxido de potasio en 60 cm<sup>3</sup> de metanol.

#### 7.1.2.1.7 Solución estándar

Solución estándar de 1 fenilaza - 2 naftol (sudán I).

#### 7.1.2.1.8 Solución extractora

Hexano - acetona - alcohol etílico absoluto - tolueno (10:7:6:7).

#### 7.1.2.1.9 Solución madre 1,0 mM

Recristalizar el estándar de alcohol absoluto caliente. Secar los cristales a masa (peso) constante en estufa al vacío a 343 K (70 °C). Disolver 0,124 g en 500 cm<sup>3</sup> de la solución 1:1 de acetona - isopropanol.

#### 7.1.2.1.10 Solución de trabajo 0,04 mM

Diluir 20 cm<sup>3</sup> de la solución madre en 500 cm<sup>3</sup> de solución 1:1 de acetona - isopropanol. Almacenar en la oscuridad.

#### 7.1.2.1.11 Solución de sulfato de sodio (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) al 10 %

Disolver 10 g de sulfato de sodio anhidro en 100 cm<sup>3</sup> de metanol.

NOTA- Cuando se mencione o se indique agua, ésta debe ser destilada o desmineralizada.

#### 7.1.2.1.12 Sulfato de sodio anhidro

#### 7.1.2.2 Material

- Algodón o lana de vidrio
- Matraces volumétricos
- Pipetas

- Tamiz (malla número 0.425 (No. 40), de acuerdo a lo establecido en la norma mexicana NMX-B-231 (véase 2 Referencias).
- Varilla de vidrio
- Refrigerante

#### 7.1.3 Aparatos

- Aparato para filtración al vacío
- Balanza analítica con exactitud de 0,01 g
- Columna cromatográfica.- columna cromatográfica de 20 mm de diámetro interno por 30 cm de largo, la cual tenga sellado en el fondo un tubo de 10 cm de largo por 2 mm de diámetro interno, con el objeto de que entre en el cuello de un matraz volumétrico de 25 cm<sup>3</sup>.
- Parrilla calefactora

#### 7.1.4 Acondicionamiento y preparación de la muestra

Moler la muestra para que pase el tamiz 0.425 (No. 40), de acuerdo a lo establecido en la norma mexicana NMX-B-231 (véase 2 Referencias). Determinar la masa (peso) de 2 g de harina de alfalfa dentro de un matraz volumétrico de 100 cm<sup>3</sup> para refuljo. Agregar con una pipeta 30 cm<sup>3</sup> de solución extractora al matraz y agitar durante 1 min.

NOTA- Para muestras de baja humedad: (no secada al aire), agregar 1,0 cm<sup>3</sup> de agua por cada 2 g de muestra al matraz. Tapar y agitar durante 1 min. Para muestras de alta humedad (secada al aire), omitir la adición del agua.

#### 7.1.5 Procedimiento

##### 7.1.5.1 Saponificación

Existen dos tipos de saponificación-extracción (en caliente y en frío), se puede utilizar cualquiera de las dos saponificaciones obteniéndose el mismo resultado.

a) Saponificación en caliente

Una vez acondicionada y preparada la muestra indicada en el inciso 7.1.4, agregar con pipeta 2 cm<sup>3</sup> de hidróxido de potasio metanólico (KOH) al 40 % al matraz para reflujo de 100 cm<sup>3</sup>. Agitar durante 1 min y poner el matraz en un baño de agua a 329 K (56°C) durante 20 min.

Conectar el refrigerante o enfriar el cuello del matraz para evitar evaporaciones del disolvente. Enfriar la muestra y reposar en la oscuridad por 1 h. Posteriormente agregar con pipeta 30 cm<sup>3</sup> de hexano al matraz volumétrico. Agitar durante 1 min. Aforar con la solución de sulfato de sodio al 10 % y agitar vigorosamente durante 1 min. Reposar en la oscuridad durante 1 h antes de su cromatografía. De la fase superior se toma una alícuota de 50 cm<sup>3</sup> con la cual se debe llevar a cabo la cromatografía.

b) Saponificación en frío

Agregar con pipeta 2 cm<sup>3</sup> de hidróxido de potasio metanólico (KOH) al 40 % al matraz volumétrico para reflujo de 100 cm<sup>3</sup>. Agitar durante 1 min. Reposar esta mezcla en la oscuridad toda la noche, aproximadamente 16 h. Agregar con una pipeta 30 cm<sup>3</sup> de hexano al matraz. Agitar durante 1 min. Aforar con la solución de sulfato de sodio al 10 % y agitar vigorosamente durante 1 min. Reposar en la oscuridad durante 1 h antes de su cromatografía. De la fase superior tomar una alícuota de 50 cm<sup>3</sup> con la cual se debe llevar a cabo la cromatografía.

### 7.1.5.2 Cromatografía

Colocar la columna sobre el filtrador, tapar el fondo de la columna con algodón o lana de vidrio y adicionar una capa de aproximadamente 12 cm, del adsorbente I, hacer vacío y agregar más adsorbente I para dar una capa de 7 cm, emparejar la superficie de la columna usando una varilla de vidrio con un extremo aplanado; agregar sobre el adsorbente una capa de 2 cm de sulfato de sodio anhidro y presionar fuertemente.

La muestra problema debe ser la fase superior de las extracciones en frío o en caliente.

### 7.1.5.3 Separación de xantofilas, pigmentos monohidroxi (MHP) y pigmentos dihidroxi (DHP)

NOTA- Las xantofilas y los pigmentos dihidroxi permanecen en la columna después de la elusión de los carotenos.

- MHP

Colocar bajo la columna en el filtrado un matraz volumétrico de 25 cm<sup>3</sup>, adicionar sobre la columna 5 cm<sup>3</sup> de la muestra problema (fase superior) en la columna. Agregar el eluyente (a) y aplicar vacío.

La banda de MHP (zeaxantina, criptoxantina) y algunos mono o diésteres bajan la columna más rápidamente que otras bandas. Cuando la elusión de los MHP ha terminado, poner el matraz en la oscuridad y dejar que adquiera la temperatura ambiente antes de aforar con el eluyente de MHP, determinar la densidad óptica (D.O.).

- DHP(luteína, zeaxantina y sus isómeros)

Proceder como se describe en MHP para eluir los DHP (luteína, zeaxantina y sus isómeros), usando el eluyente para DHP para eluir la siguiente banda, colectando el eluido en un matraz volumétrico de 25 cm<sup>3</sup> o 50 cm<sup>3</sup>. La vioxantina, neoxantina y otros pigmentos polioxi (POP) permanecen en la columna.

Cuando la elusión de los DHP ha terminado, poner el matraz en la oscuridad y dejar que adquiera la temperatura ambiente antes de aforar con el eluyente de DHP a 25 cm<sup>3</sup> o 50 cm<sup>3</sup> y determinar la densidad óptica.

NOTA- Las bandas se eluyen en un volumen final menor de 25 cm<sup>3</sup>, posteriormente se aforan con el eluyente específico a un volumen de 25 cm<sup>3</sup> a 50 cm<sup>3</sup>.

#### 7.1.5.4 Xantofilas totales

Si se desea determinar el valor para las xantofilas totales, debe tomarse una nueva alícuota de 5 cm<sup>3</sup> de la capa superior del extracto de la muestra problema, colocarlos sobre una capa de 7 cm de adsorbente II, eluir los carotenos con solución hexano-acetona (90:10) y las xantofilas totales con solución hexano-acetona-metanol (80:10:10).

Medir la densidad óptica (D.O.) rápidamente para evitar isomerizaciones y pérdidas por auto-oxidación.

Antes de llevar a cabo la medición de la densidad óptica, se debe calibrar el espectrofotómetro corriendo las soluciones estándar de trabajo a intervalos de 1 nm entre 469 nm y 479 nm. Cuando el aparato muestra el máximo de absorbancia a 474 nm con una abertura de diafragma de 0,03 mm; las lecturas de absorbancia de las soluciones de trabajo deben ser 0,561 con una longitud de onda 474 nm y 0,460 con una longitud de onda de a 436 nm. Si hay derivaciones deben corregirse los cálculos de acuerdo a la siguiente ecuación:

7.1.5.5 Primero calibrar el espectrofotómetro corriendo las soluciones estándar de trabajo a intervalos de 1 nm entre 469 nm y 479 nm. Si el valor máximo de absorción de la solución estándar no es a 474 nm hay que recalibrar el aparato. Cuando el aparato muestra el máximo de adsorción a 474 nm y con una abertura de diafragma de 0,03 mm; las lecturas de adsorbancia de las soluciones de trabajo deben ser 0,561 de longitud de onda (474 nm) y 0,460 de longitud de onda (436 nm). Si hay desviaciones corregir los cálculos de acuerdo a la ecuación siguiente:

NOTA- Si el aparato no tiene diafragma controlable se supone que la solución de trabajo del colorante tiene una D.O. equivalente a 2,38 mg de xantofilas por 1 000 cm<sup>3</sup> a una longitud de onda de 474 nm .

$$XT \text{ (mg/kg)} = \frac{A \times D \times F \times 1\ 000}{W \times 236 \times b} \times F.D.$$

en donde:

236 es la absortivancia específica de la trans-luteína, 1/g;  
1 000 es el factor de transformación de g/kg a mg/kg;  
A es la adsorbancia a 474 nm;  
b indica la longitud de la celda en cm;  
D es la fase orgánica superior, 50 cm<sup>3</sup> ;  
F es el factor de corrección 0,561 (absorbancia sudán I a 474 nm);  
W es la masa de la muestra en g;  
F.D. es el factor de dilución;  
XT indican las xantofilas totales en mg/kg.

## 8 MARCADO Y ETIQUETADO

Para efecto de marcado y etiquetado del producto objeto de esta norma, consultar la norma mexicana NMX-Y-143 (véase 2 Referencias).

**NMX-Y-305-1997-SCFI**  
**11/11**

## **9 BIBLIOGRAFÍA**

- NOM-008-SCFI-1993 Sistema General de Unidades de Medida.
- NMX-Y-305-1988 Alimentos para animales - Harina de alfalfa - Especificaciones.
- NMX-Z-013/01-1977 Guía para la redacción, estructuración y presentación de las normas mexicanas.

## **10 CONCORDANCIA CON NORMAS INTERNACIONALES**

Esta norma no concuerda con ninguna norma internacional, por no existir referencia en el momento de su elaboración.

**MÉXICO, D.F. A**

**LA DIRECTORA GENERAL DE NORMAS.**

**CARMEN QUINTANILLA MADERO.**



