

**Efecto de la hidrólisis ácida en la medición de
grasa cruda en leche y cocoa en polvo,
chocolate instantáneo y alimento para camarón**

Pablo Vaca Díez Cuellar

Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano

Honduras

Octubre, 2014

ZAMORANO
CARRERA DE AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

Efecto de la hidrólisis ácida en la medición de grasa cruda en leche y cocoa en polvo, chocolate instantáneo y alimento para camarón

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniero en Agroindustria Alimentaria en el
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Pablo Vaca Díez Cuellar

Zamorano, Honduras

Octubre, 2014

Efecto de la hidrólisis ácida en la medición de grasa cruda en leche y cocoa en polvo chocolate instantáneo y alimento para camarón

Presentado por:

Pablo Vaca Diez Cuellar

Aprobado:

Juan Antonio Ruano, D.Sc.
Asesor Principal

Luis Fernando Osorio, Ph.D.
Director
Departamento de Agroindustria
Alimentaria

Jorge Alfredo Cardona, Ph.D.
Asesor

Raúl H. Zelaya, Ph.D.
Decano Académico

Efecto de la hidrólisis ácida en la medición de grasa cruda en leche y cocoa en polvo, chocolate instantáneo y alimento para camarón

Pablo Vaca Díez Cuellar

Resumen. El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de la hidrólisis ácida usando el SoxCap™ 2047 en la medición de grasa cruda utilizando el Soxtec™ 2050. Se utilizó un modelo experimental de diseño completamente al azar (DCA) con un arreglo factorial de 2 (matrices) × 2 (nivel de hidrólisis) en dos etapas: i) la primera en base al método AOAC 2003.06 para el alimento de camarón y la leche en polvo referencia AOCS, ii) la segunda en base al método AOAC 963.15 para chocolate instantáneo comercial y chocolate en polvo referencia AOCS. La cantidad de grasa de las cuatro matrices alimenticias fue determinada con y sin hidrólisis ácida. Los resultados se analizaron en el paquete estadístico SAS®9.2 mediante una Prueba T. Las diferencias en la medición de grasa cruda en base al método AOAC 2003.06 fueron estadísticamente significativas ($P < 0.05$) con y sin hidrólisis ácida. En leche en polvo AOCS la diferencia fue de 23.3%, y de 2.1% para alimento de camarón. Con respecto al método AOAC 963.15 el uso de la hidrólisis ácida en la medición de grasa cruda en chocolate instantáneo no fue significativa ($P > 0.05$) y en cocoa en polvo AOCS fue significativa ($P < 0.05$), las diferencias fueron de 0.13% y 0.02%, respectivamente. Para investigaciones futuras se recomienda evaluar el efecto de la presencia y procesamiento de los carbohidratos y proteínas en el alimento para determinar la necesidad o no de utilizar hidrólisis ácida.

Palabras Clave: Exactitud, grasa total, prueba t, soxcap 2047,soxtec 2050

Abstract. The objective of the study was to evaluate the effect of acid hydrolysis using the SoxCap™ 2047 over total fat measurement using Soxtec 2050. A completely random design (CRD) with a 2 (matrix) × 2 (hydrolysis level) factorial arrangement where we had two different groups: i) the first using AOAC 2003.06 method used on powder milk AOCS reference and shrimp feed ii) the second according to the AOAC 963.15 was used for instant chocolate and AOCS reference chocolate. The fat content was determined on the four food matrices with and without the use of acid hydrolysis. The results were analyzed using the statistical package SAS®9.2 with a T TEST. The difference in the total fat measurement using the AOAC 2003.06 method was significant ($P < 0.05$) with and without hydrolysis. In powder milk AOCS reference the difference was 23.3%, in shrimp feed the difference was 2.1%. The difference in the total fat measurement according to the AOAC 963.15 method between with and without hydrolysis in instant chocolate was 0.13% which was not significant ($P > 0.05$) in AOCS chocolate the difference was 0.02% which was significant ($P < 0.05$). On future investigations it is recommended to evaluate the effect that the presence of carbohydrates and protein have over the need of using acid hydrolysis in the fat measurement procedure.

Key words: Accuracy, soxcap 2047, soxtec 2050, total fat, t test

CONTENIDO

Portadilla.....	i
Página de firmas.....	ii
Resumen.....	iii
Contenido.....	iv
Índice de cuadros, figuras y anexos.....	v
1 INTRODUCCIÓN.....	1
2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	3
3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	7
4 CONCLUSIONES.....	11
5 RECOMENDACIONES.....	12
6 LITERATURA CITADA.....	13
7 ANEXOS.....	15

INDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Cuadros	Página
1. DCA con arreglo factorial de 2 x 2 para AOAC 2003.06.....	3
2. DCA con arreglo factorial de 2 x 2 para AOAC 963.16.....	3
3. Diferencia entre la medición con hidrólisis y sin hidrólisis y precisión.....	8
4. Exactitud conforme a certificado de referencia AOCS.....	8
5. Diferencia entre la medición con hidrólisis y sin hidrólisis y precisión.....	9
6. Exactitud conforme a certificado de referencia AOCS.....	10

Anexos	Página
1. Comparación entre el porcentaje por método y valor esperado en alimento para camarón.....	15
2. Comparación entre el porcentaje por método y valor esperado de leche en polvo AOCS.....	15
3. Comparación entre el porcentaje por método y valor esperado en chocolate comercial.....	16
4. Comparación entre el porcentaje por método y valor esperado en chocolate AOCS.....	16
5. Certificado de AOCS para chocolate en polvo.....	17
6. Certificado de AOCS para leche en polvo.....	18

1. INTRODUCCIÓN

El Laboratorio de Análisis de Alimentos Zamorano (LAAZ) es una unidad dentro del departamento de Agroindustria Alimentaria, que presta servicios como etiquetado nutricional, determinación de fecha de vencimiento, análisis de color, textura y viscosidad, calidad de aceites para consumo humano y biodiesel, análisis de vitaminas y azúcares entre otros. Con el objetivo de ampliar la cartera de servicios y mejorar la exactitud se adquirió el SoxCap™ 2047 de FOSS. La instalación y verificación de este equipo de acuerdo a la Norma ISO 17025 fueron implementadas en abril del 2014. La hidrólisis ácida le permite al laboratorio ampliar los métodos para realizar mediciones de grasa cruda con una mayor exactitud y precisión, de acuerdo a la matriz.

La hidrólisis ácida produce ruptura en los enlaces de carbohidratos y proteínas, siendo estos los materiales que encapsulan la grasa después de pasar por procesos de calor, presión o una combinación de ambas. Los productos de la hidrólisis ácida no alteran el contenido de grasa. El resultado de esto es la exposición de la grasa del alimento al solvente orgánico usado para extraerlo. (Pasto y Johnson 1981; Caglieri y Macaño 2010; M. Rodríguez *et al.* 2010)

En la medición de grasa no solo se toma en cuenta factores físicos como la reducción del tamaño de partícula sino también la estructura intermolecular de la matriz de los alimentos. Una parte de los lípidos presentes en los lácteos, panes, harinas y productos animales están ligados a proteínas y carbohidratos y una extracción directa con solventes no polares es ineficiente, estos alimentos necesitan una hidrólisis ácida previa al análisis (Nielsen 2003). Las cuatro matrices elegidas en el estudio (leche y cocoa en polvo, chocolate instantáneo y alimento para camarón) presentan un alto contenido de proteína, carbohidrato o una combinación.

Algunas interacciones propias del procesamiento de los alimentos producen enlaces que dificultan la medición de grasa. La gelatinización del almidón produce enlaces intermoleculares entre los carbohidratos y triglicéridos (Pomeraz y Melcan 1978, Halverson y Alstin 1981). La gelatinización se da en productos extruidos, generalmente en las partes superficiales que son las que están expuestas a la fricción de la salida. En estudios realizados por otros autores de los pellets extruidos se logró extraer aproximadamente el doble más de grasa después de utilizar la hidrólisis ácida (Limsuwan y Lovell 2011).

La cocoa en polvo y el chocolate instantáneo vienen del mismo fruto. Ambos son parte de la torta de cacao que queda como los sólidos desgrasados del proceso de prensado donde

se divide en dos grupos: la manteca de cacao y los sólidos desgrasados de cacao. El cacao molido y pulverizado, convertido en polvo es la cocoa en polvo la cual es conocida por su sabor amargo. La preparación y mezcla con otros ingredientes principalmente azúcar lleva al chocolate instantáneo, por lo que en teoría ambos tienen la misma matriz a nivel amilosa-grasa, complejo que encapsula la grasa ya que el azúcar al ser un disacárido (sacarosa) no tiene la capacidad de aumentar este complejo en el chocolate instantáneo (Torres-Moreno 2014).

La leche en polvo es producida por secadores spray, durante este proceso la leche es atomizada a altas presiones y tiene contacto con corrientes de aire caliente. En este proceso la interface aire/agua de gotas atomizadas es dominada en su cobertura por el componente con mayor actividad en la superficie en este caso la proteína (Millqvist-Fureby *et al.* 2001). Lo que obtenemos de esto es una corteza alrededor de toda la materia seca y también de la grasa que queda atrapada en ella, creando así un encapsulamiento de la grasa.

Los objetivos de este estudio fueron los siguientes:

- Evaluar el efecto de hidrólisis ácida en la medición de grasa cruda en leche en polvo y alimento para camarón (AOAC 2003.06).
- Evaluar el efecto de hidrólisis ácida en la medición de grasa cruda en cocoa en polvo y chocolate instantáneo (AOAC 963.15).
- Determinar la veracidad de los métodos AOAC 2003.06 y 963.15

2. MATERIALES Y METODOS

Localización. Los análisis de grasa cruda con y sin hidrólisis ácida se realizaron en el laboratorio de Análisis de Alimentos Zamorano (LAAZ), localizado en el Valle del Yeguaré, departamento Francisco Morazán, 32km al este de Tegucigalpa, Honduras.

Materiales y Equipos.

- Leche en polvo referencia AOCS
- Cocoa en polvo referencia AOCS
- Alimento para camarón Alcon Cargill
- Chocolate instantáneo Jöllsöm
- Ácido Clorhídrico 12N
- Eter de Petrolero (40°C-60°C)
- Hexano (40°C)
- Cristalería de laboratorio
- Algodón desgrasado
- Balanza analítica (± 0.0001 g)
- Campana de gas
- SoxCap™ 2047
- Soxtec™ 2050
- Horno 105°C
- Horno 60°C

Diseño Experimental. Se usó el Diseño Completamente al Azar (DCA), con un arreglo factorial de 2 (matrices) x 2 (niveles de hidrólisis). Este diseño se repitió para el método AOAC 2003.06 y el método AOAC 963.15 con y sin hidrólisis ácida en ambos métodos (Cuadro 1 y 2). Se realizaron 3 repeticiones por tratamiento, obteniendo un total de 24 unidades experimentales.

Cuadro 1. DCA con arreglo factorial de 2 x 2 para AOAC 2003.06

Método	Matriz	
	Pellet de Camarón	Leche en polvo AOCS
Con Hidrólisis Ácida	TRT 1	TRT 3
Sin Hidrólisis Ácida	TRT 2	TRT 4

Cuadro 2. DCA con arreglo factorial de 2 x 2 para AOAC 963.15

Método	Matriz	
	Cocoa en polvo AOCS	Chocolate instantáneo
Con Hidrólisis Ácida	TRT 5	TRT 7
Sin Hidrólisis Ácida	TRT 6	TRT 8

Análisis Preliminar. Previo a las mediciones de grasa cruda con y sin hidrólisis ácida se realizaron pruebas preliminares como entrenamiento en el laboratorio. En estas pruebas se realizaron mediciones de grasa cruda con hidrólisis ácida en queso en polvo. En los análisis preliminares se obtuvieron coeficientes de variación superiores al 10%. El requisito para empezar a trabajar en la tesis era obtener un coeficiente de variación menor al 5%, algo obtenido después de 2 semanas de entrenamiento. El análisis preliminar se realizó exclusivamente en mediciones de grasa cruda con hidrólisis ácida.

Análisis de grasa cruda (AOAC 963.15) con hidrólisis ácida (FOSS Application Note 3144 Rev.5) para chocolate instantáneo y cocoa AOCS. En la preparación de la muestra se homogenizó el polvo y se secaron las tasas con 5 perlas de ebullición a 105°C por 30 min. En el pesado se agregó 1g de dióxido de silicio por dedal, se pesaron 2 g ± 0.0001 de muestra. La muestra en el dedal fue secada a 105°C por 2 horas. Las tasas son pesadas después de los 30 min de secado y 30 min de enfriamiento. En la etapa de hidrólisis ácida colocamos 900 ml de ácido clorhídrico a 4N luego colocamos los dedales y encendimos la temperatura al nivel 9 cuando empezó la ebullición se cronometra el tiempo de 1 hora. Luego de esto se expulsó el ácido clorhídrico activando el mando de “Waste removal” se llenó y vació hasta el límite establecido por el equipo con agua 5 veces el llenado se realizó activando el mando de “Rinse wáter”. Los dedales fueron secados a 60°C por 8 horas. En la extracción se colocaron los dedales en el Soxtec 2050, luego las tasas. Se introdujeron 80 ml de Éter de Petrolero 40-60°C por cada tasa. El proceso de extracción conto con 20 min de inmersión, 30 min de extracción, 10 min de secado y 5 min de enfriamiento para un total de 1 hora y 5 min. La temperatura de extracción fue de 135°C. Se retiraron las tasas y fueron colocadas en el horno a 105°C por 30 min y luego enfriadas por 30 min. Se pesaron las tasas con una variación de ± 0.0001 g. Se repitió para las matrices chocolate comercial y chocolate AOCS. Para obtener la cantidad de grasa cruda se realizó el cálculo de acuerdo a la ecuación 1. La ecuación se basa en restar el peso de la taza inicial con la taza final que contiene la grasa (el diferencial es el contenido de grasa), esta se divide por el peso de la muestra y el resultado es multiplicado por cien obteniendo un porcentaje. Cada repetición cuenta con un duplicado.

$$\text{Grasa cruda}\% = \frac{\text{Peso taza vacía} - \text{Peso taza con grasa}}{\text{Peso de muestra}} \times 100 \quad [1]$$

Análisis de grasa cruda (AOAC 963.15) sin hidrólisis ácida para chocolate instantáneo y cocoa AOCS. En la preparación de la muestra se homogenizó el polvo y se secaron las tasas con 5 perlas de ebullición a 105°C por 30 min. En el pesado se agregó 1g de dióxido de silicio por dedal, se pesaron 2 g ± 0.0001 de muestra. La muestra en el dedal fue secada a 105°C por 2 horas. Las tasas son pesadas después de los 30 min de secado y 30 min de enfriamiento. En la extracción se colocaron los dedales en el Soxtec 2050, luego las tasas. Se introdujeron 80 ml de Éter de Petrolero 40-60°C por cada tasa. El proceso de extracción conto con 20 min de inmersión, 30 min de extracción, 10 min de secado y 5 min de enfriamiento para un total de 1 hora y 5 min. La temperatura de extracción

fue de 135°C. Se retiraron las tasas y fueron colocadas en el horno a 105°C por 30 min y luego enfriadas por 30 min. Se pesaron las tasas con una variación de ± 0.0001 g. Se repitió para las matrices chocolate comercial y chocolate AOCS. Para obtener la cantidad de grasa cruda se realizó el cálculo de acuerdo a la ecuación 1. Cada repetición cuenta con un duplicado.

Análisis de grasa cruda (AOAC 2003.06) con hidrólisis ácida (FOSS Application Sub Note 3141) para leche en polvo AOCS y alimento para camarón. En la preparación de la muestra se homogenizo el polvo y se secaron las tasas con 5 perlas de ebullición a 105°C por 30 min. En el pesado se agregó 1g de dióxido de silicio por dedal, se pesó 1 gramo ± 0.0001 g para leche en polvo y 3 g ± 0.0001 g en alimento para camarón. La muestra en el dedal fue secada a 105°C por 2 horas. Las tasas son pesadas después de los 30 min de secado y 30 min de enfriamiento. En la etapa de hidrólisis ácida colocamos 900 ml de ácido clorhídrico a 4N luego colocamos los dedales y encendimos la temperatura al nivel 9 cuando empezó la ebullición se cronometra el tiempo de 1 hora. Luego de esto se expulsó el ácido clorhídrico activando el mando de “Waste removal” se llenó y vació hasta el límite establecido por el equipo con agua 5 veces el llenado se realizó activando el mando de “Rinse wáter”. Los dedales fueron secados a 60°C por 8 horas. En la extracción se colocaron los dedales en el Soxtec 2050, luego las tasas. Se introdujeron 80 ml de Éter de Petrolero 40-60°C por cada tasa. El proceso de extracción conto con 20 min de inmersión, 40 min de extracción, 10 min de secado y 5 min de enfriamiento para un total de 1 hora y 5 min. La temperatura de extracción fue de 155°C. Se retiraron las tasas y fueron colocadas en el horno a 105°C por 30 min y luego enfriadas por 30 min. Se pesaron las tasas con una variación de ± 0.0001 g. Se repitió para las matrices leche en polvo y alimento para camarón. Para obtener la cantidad de grasa cruda se realizó el cálculo de acuerdo a la ecuación 1. Cada repetición cuenta con un duplicado.

Análisis de grasa cruda (AOAC 2003.06) sin hidrólisis ácida para leche en polvo AOCS y alimento para camarón. En la preparación de la muestra se homogenizo el polvo y se secaron las tasas con 5 perlas de ebullición a 105°C por 30 min. En el pesado se agregó 1g de dióxido de silicio por dedal, se pesó 1 g ± 0.0001 g para leche en polvo y 3 g ± 0.0001 g para alimento para camarón. La muestra en el dedal fue secada a 105°C por 2 horas. Las tasas son pesadas después de los 30 min de secado y 30 min de enfriamiento. En la extracción se colocaron los dedales en el Soxtec 2050, luego las tasas. Se introdujeron 80 ml de Éter de Petrolero 40-60°C por cada tasa. El proceso de extracción conto con 20 min de inmersión, 40 min de extracción, 10 min de secado y 5 min de enfriamiento para un total de 1 hora y 5 min. La temperatura de extracción fue de 155°C. Se retiraron las tasas y fueron colocadas en el horno a 105°C por 30 min y luego enfriadas por 30 min. Se pesaron las tasas con una variación de ± 0.0001 g. Se repitió para las matrices leche en polvo y alimento para camarón. Para obtener la cantidad de grasa cruda se realizó el cálculo de acuerdo a la ecuación 1. Cada repetición cuenta con un duplicado.

Análisis estadístico. Se usó el programa “Statistical Analysis System 9.2® ” (SAS), se realizó una prueba t para un diseño completo al azar con arreglo factorial de 2×2 y un nivel de significancia de $P < 0.05$. Se separaron los resultados por matriz.

Veracidad. La precisión de los métodos será medido con la desviación estándar y el porcentaje de coeficiente de variación. Para las matrices con certificado de referencia AOCS realizamos una prueba t en Excel para comprobar si estadísticamente los valores obtenidos eran iguales a los del certificado de referencia AOCS y se utilizó la ecuación 2. para obtener el porcentaje de exactitud. La ecuación se basa en restar el valor de referencia con el valor obtenido, la diferencia se divide por el valor de referencia para ser multiplicada por cien y ese resultado restarlo a cien. La combinación de ambos indicadores nos demostró la veracidad de los métodos AOAC 2003.06 y 963.15.

$$Exactitud\% = 100 - \left[\frac{(valor\ de\ referencia - valor\ obtenido)}{valor\ de\ referencia} \times 100 \right] \quad [2]$$

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Chocolate instantáneo (AOAC 963.15 (FOSS Application Note 3144 Rev.5). La extracción realizada con hidrólisis ácida resultó en una media de 2.76% de grasa, desviación de 0.13 y coeficiente de variación de 4.87%. La extracción realizada sin hidrólisis resultó en una media de 2.63% de grasa, desviación estándar de 0.03 y coeficiente de variación de 1.14%. (Cuadro 3) Con una $p > 0.05$, que nos indicó que no fue significativa la diferencia entre los métodos. Al no ser significativa la diferencia, podemos concluir que obtendremos el mismo resultado usando o no hidrólisis ácida en la medición de grasa cruda en chocolate instantáneo. En la composición de los carbohidratos tenemos en su mayoría azúcares, no así almidón por lo cual no tiene la presencia de amilosa la cual en su forma helicoidal envuelve la grasa y no permite su solubilización en el solvente orgánico utilizado en el Soxtec (Torres-Moreno 2014). Esto nos indicó que hipotéticamente existe la presencia de carbohidratos con bajo contenido de amilosa por lo que el complejo lípidos-amilosa no se crea y la hidrólisis ácida no tiene que desintegrar, por ello las mediciones tanto de con como sin hidrólisis ácida presentaron datos estadísticamente iguales. En la obtención de grasa cruda en una galleta de cacao se obtuvo el mismo porcentaje que el valor de referencia utilizando el soxhlet automatizado sin utilizar hidrólisis ácida (Shin *et al.* 2012). Al igual que en este estudio, el citado no necesita de la hidrólisis ácida para obtener el dato correcto.

Cocoa en polvo AOCS (AOAC 963.15 (FOSS Application Note 3144 Rev.5). La extracción realizada con hidrólisis ácida dejó una media de 11.72 % de grasa, desviación de 0.02 y coeficiente de variación de 0.05%. La extracción realizada sin hidrólisis dejó una media de 11.74% de grasa, desviación estándar de 0.01 y coeficiente de variación de 0.05% (Cuadro 3). Se obtuvo una $p > 0.05$, que nos indicó que no fue significativa la diferencia entre los métodos. En cocoa en polvo tuvimos una matriz a nivel de lípido-amilosa idéntica que en el chocolate instantáneo, la diferencia principal entre estas matrices fue la cantidad de azúcares agregadas en el chocolate instantáneo. En esta matriz los datos fueron muy similares con una desviación de 0.02% entre ambas medias, aunque no fueron estadísticamente iguales. Al igual que en la matriz de chocolate instantáneo y en el estudio de Shin 2012 no fue necesaria la hidrólisis ácida para obtener el dato correcto. En esta matriz el porcentaje de grasa cruda fue superior sin hidrólisis ácida que con hidrólisis ácida, esta diferencia probablemente se le atribuye se atribuyó al error humano pues la hidrólisis ácida posee pasos adicionales que aumentan la manipulación de la muestra con pinzas y algodones que podrían causar errores en el proceso. Según Oxford instruments (2008), el secado de muestras, hidrólisis ácida y extracción por solventes requiere de habilidades de laboratorio de un experto. El gran número de fases en el proceso de extracción está propenso a errores de parte del operador creando variaciones inter-laboratorio.

Precisión. En ambas matrices en base al método AOAC 963.15 obtuvimos resultados precisos, ya que los datos de desviación estándar están igual o menores a 0.13. El error experimental de este estudio fue aceptable ya que ni uno de los tratamientos obtuvo un porcentaje de coeficiente de variación mayor al 5% límite establecido por la Norma ISO 17025 del LAAZ, lo que indica el dominio técnico de este método.

Cuadro 3. Diferencia entre la medición con hidrólisis y sin hidrólisis y precisión

Matriz	% grasa cruda esperada§	Con hidrólisis ácida			Sin hidrólisis ácida			Valor P
		Media de grasa cruda	Desv. Estándar	Coef. Var.	Media de grasa cruda	Desv. Estándar	Coef. Var.	
Chocolate instantáneo	2.87	2.76	0.13	4.87	2.63	0.03	1.14	0.2327
Cocoa en polvo AOCS	11.91	11.72	0.01	0.05	11.74	0.01	0.05	0.0132

§ Datos cedidos por la empresa y AOCS

Exactitud. La cocoa en polvo AOCS, fue la referencia de este método, donde su media de 11.72% de grasa con hidrólisis como su media de 11.74% de grasa sin hidrólisis estuvieron ambas acertadas dentro de la desviación aceptada de 11.91% (± 0.43) expresada por el certificado AOCS. Esto demostró que no solo fue preciso el método AOAC 963.15 sino también exacto, con un porcentaje de exactitud de 98.4% con hidrólisis ácida y 98.5% sin hidrólisis ácida.

Veracidad. Tanto los datos de precisión como de exactitud comprobaron la veracidad de los resultados obtenidos. En ambas formas se obtuvo un valor preciso y exacto, aunque la diferencia fue significativa. La hidrólisis ácida no fue necesaria para obtener un dato veraz.

Cuadro 4. Exactitud conforme a certificado de referencia AOCS

Matriz	Método	Material de referencia		Dato obtenido		Veracidad	
		Valor	Desviación aceptada	Valor	Desviación	t_{exp}	t_{tab}
Cocoa en polvo AOCS	Con hidrólisis	11.91	0.43	11.72	0.01	0.44	2.02
Cocoa en polvo AOCS	Sin hidrólisis	11.91	0.43	11.74	0.01	0.42	2.02

Alimento para camarón (AOAC 2003.06 FOSS Application Sub Note 3141). La extracción realizada con hidrólisis ácida mostro una media de 5.91% de grasa, desviación de 0.08 y coeficiente de variación de 1.35%. La extracción realizada sin hidrólisis deajo una media de 3.81% de grasa, desviación estándar de 0.14 y coeficiente de variación de 3.78%. (Cuadro 5) Con un valor $p < 0.05$, que nos indicó que fue significativa la diferencia entre los métodos. Los lípidos y la amilosa forman compuestos donde los lípidos se

colocan en la parte interior de la forma helicoidal de la amilosa (Kulwinder y Narpinder 2000). La presencia de amilosa en los ingredientes (maíz y soya) del alimento para camarón nos indicó que en la pelletización se dieron las condiciones necesarias de calor y tiempo para formar compuestos lípido-amilosa dando lugar a la insolubilidad de los lípidos en el solvente orgánico. A mayor temperatura y humedad la gelatinización aumenta, creando así una mayor cantidad de asociaciones grasa-amilosa (Limsuwan y Lovell 2011). En caso de contar con un alimento con un proceso de mayor temperatura y humedad las diferencias podrían ser mayores a las obtenidas en este estudio.

Leche en polvo AOCS (AOAC 2003.06 FOSS Application Sub Note 3141). La extracción realizada con hidrólisis ácida dejó una media de 25.42% de grasa, desviación de 0.42 y coeficiente de variación de 1.64%. La extracción realizada sin hidrólisis dejó una media de 2.11% de grasa, desviación estándar de 0.04 y coeficiente de variación de 1.80%. (Cuadro 5) con una $p < 0.05$, que indicó que fue significativa la diferencia entre los métodos. La superficie de la partícula de leche en polvo está generalmente dominada por proteína, mientras que la grasa está generalmente encapsulada dentro de la proteína (Millqvist-Fureby *et al.* 2001). El encapsulamiento no deja que se contacte la grasa con el solvente orgánico por ello la gran diferencia de 22.3% de grasa entre métodos indica que la hidrólisis ácida fue necesaria en la extracción de grasa cruda, el encapsulamiento de las grasas de leche en polvo en este estudio fue de 91.6%. En una comparación de métodos, el método con la hidrólisis ácida previa dio los resultados de grasa tanto para leche como para queso en polvo más exactos y con menor variación (Aued-Pimentel *et al.* 2010). Al igual que este estudio, el resultado más exacto fue dado por el método que contaba con la hidrólisis ácida previa.

Precisión. En ambas matrices en base al método AOAC 2003.06 obtuvimos resultados precisos, ya que los datos de desviación estándar están igual o menores a 0.42. El error con el que se manejó la tesis fue aceptable, ni uno de los tratamientos tuvo un porcentaje de coeficiente de variación mayor a 5% límite establecido por la ISO 17025 del LAAZ.

Cuadro 5. Diferencia entre la medición con hidrólisis y sin hidrólisis y precisión

Matriz	Con hidrólisis				Sin hidrólisis			Valor P
	% grasa cruda esperada§	Media de % grasa cruda	Desv. Estándar	Coef. Var.	Media de %grasa cruda	Desv. Estándar	Coef. Var.	
Alimento para camarón	6	5.91	0.08	1.35	3.81	0.14	3.78	0.002
Leche en polvo AOCS	25.59	25.42	0.42	1.64	2.11	0.04	1.80	<0.001

§ Datos cedidos por empresa y AOCS

Exactitud. La leche en polvo AOCS, fue la referencia de este método, donde la media de 25.42% de grasa con hidrólisis estuvo acertada dentro de la desviación aceptada de 25.59 (± 0.96) expresada por el certificado AOCS. La media sin hidrólisis ácida de 2.11% de grasa no estuvo acertada dentro de la desviación aceptada de 25.59 (± 0.96). Esto demostró que no solo fue preciso el método AOAC 963.15 sino también exacto, con un porcentaje de exactitud de 99.9% con hidrólisis ácida.

Veracidad. Tanto los datos de precisión como de exactitud comprobaron la veracidad de los resultados obtenidos con hidrólisis ácida. Con hidrólisis ácida se obtuvo un valor preciso y exacto mientras que sin hidrólisis ácida obtuvimos un valor preciso pero no exacto con apenas un 8.2% de exactitud. La hidrólisis ácida fue necesaria en leche en polvo para obtener un dato veraz.

Cuadro 6. Exactitud conforme a certificado de referencia AOCS

Matriz	Método	Material de referencia		Dato obtenido		Veracidad	
		Valor	Desviación aceptada	Valor	Desviación	t_{exp}	t_{tab}
Leche en polvo AOCS	Con hidrólisis	25.59	0.96	25.42	0.42	0.17	2.02
Leche en polvo AOCS	Sin hidrólisis	25.59	0.96	2.11	0.04	23.92	2.02

4. CONCLUSIONES

- Existió diferencia en la medición de grasa cruda con el uso de hidrólisis ácida en la leche en polvo de referencia AOCS y alimento para camarón.
- Existió diferencia en la medición de grasa cruda sin el uso de hidrólisis ácida en la cocoa en polvo de referencia AOCS.
- No existió diferencia en la medición de grasa cruda con el uso de hidrólisis ácida en el chocolate instantáneo.
- Los datos obtenidos en base al método AOAC 2003.06 con hidrólisis ácida y 963.15 con y sin hidrólisis ácida fueron veraces.
- El SoxCap 2047 TM ha demostrado ser un instrumento capaz de colaborar en la medición de grasa cruda de forma veraz en el LAAZ cuando solo el Soxtec 2050 TM no pueda extraer la grasa cruda en su totalidad.

5. RECOMENDACIONES

- Realizar un estudio en el efecto del contenido y procesamiento de carbohidratos en la matriz alimenticia para determinar la grasa cruda.
- Realizar un estudio en el efecto del contenido y procesamiento de proteínas en la matriz alimenticia para determinar la grasa cruda.
- Validar el método para leche en polvo y alimento para camarón en base al método AOAC 2003.06.
- No utilizar hidrólisis ácida en la medición de cocoa en polvo y chocolate instantáneo.

6. LITERATURA CITADA

A.O.A.C. (Association of Official Analytical Chemists). 2005. AOAC Official Method 2003.06 Crude Fat in Feeds, Cereal Grains, and Forages. Official Methods of Analysis of AOAC International 18th Edition 2005, 481 North Frederick Avenue, Maryland, USA. Capitulo 4, 42 p.

A.O.A.C. (Association of Official Analytical Chemists). 2005. AOAC Official Method 963.15 Fat in Cacao Products. Soxhlet Extraction Method. Official Methods of Analysis of AOAC International 18th Edition 2005, 481 North Frederick Avenue, Maryland, USA. Capitulo 31, 10 p.

Aued-Pimentel S., M. Kus, E. Kumagai, V. Ruvieri y O. Zenebon. 2010. Comparison of gas chromatographic and gravimetric methods for quantization of total fat and fatty acids in foodstuffs. Instituto Adolfo Lutz. Scielo Quim Nova. Vol 33 (1). Sao Paulo-SP, Brasil.

Cagliari S., y H. Macaño. 2010. Estudio teórico de la Hidrólisis de Esteres Alifáticos y Aromáticos. Universidad Tecnologica Nacional. Scielo Vol. 21(4), 67-73 p.

Halverson H. y F. Alstin. 1981. Crude fat determination by combined acid hydrolysis and solvent extraction. Am. Lab. 12: 74-87 p.

Kulwinder K. y S. Narpinder. 2000. Amylose-lipid complex formation during cooking of rice flour. Guru Nanak Dev University, Amristar, India. Department of Food Science and Technology. Elsevier Food Chemistry Vol. 71 (4), 511-517 p.

Limsuwan T. y R.T. Lovell. 1984. Determination of Crude Fat in Fish Feeds, The Progressive Fish-Culturist, 46:3. 165-169 p.

Millqvist-Fureby A., U. Elofsson y B. Bergenståhl. 2001. Surface composition of spray dried milk protein stabilized emulsions in relation to pre-heat treatment of proteins. Colloids and Surfaces. Institute for surface chemistry, SE-114 86 Stockholm, Sweden. 47-58 p.

Nielsen S. 2003. Food Analysis. 3rd edition. Purdue University. Plenum Publishers, New York. 233 Spring Street, New York New York 10013

Oxford Instruments Magnetic Resonance. 2008. Consultado 08 septiembre 2014. Disponible en: <http://www.oxford-instruments.com/OxfordInstruments/media/industrial-analysis/magnetic-resonance-pdfs/Determination-of-Total-Fat-Content-in-Chocolate-and-other-Cocoa-Derivatives.pdf>

Pasto D. y C. Johnson. 1981. Determinacion de Estructuras Organicas. Editorial Reverté, S.A. Loreto 13-15, Barcelona. 489-490 p.

Pomeraz Y. y C.E. Melcan. 1978. Food analysis: theory and practice. AVI Publishing Co., Westport, CT.

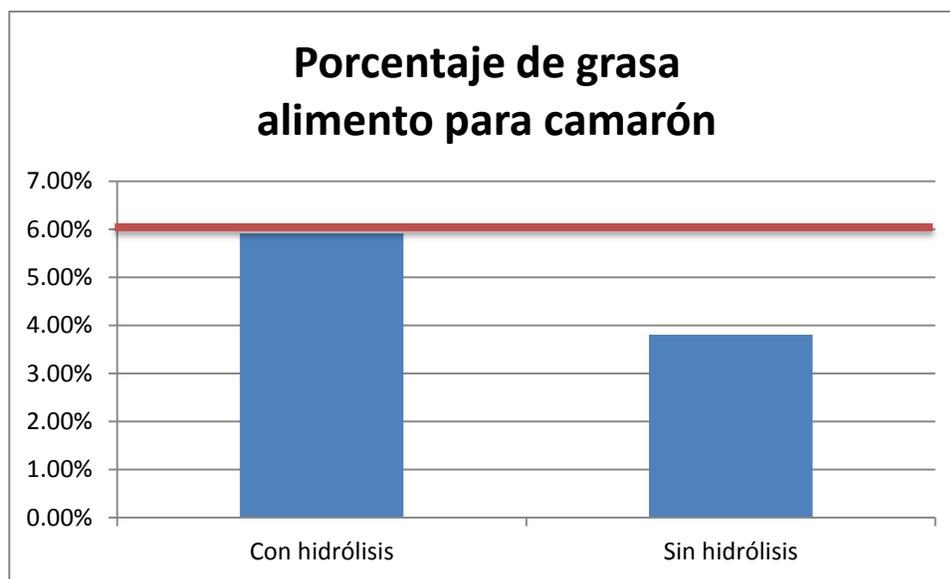
Rogriguez M., B. Lozano, y D. Villagomez. 2010. Propiedades superficiales de hidrolizados proteínicos de maíz, pescado y suero de bovino. Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec. Scielo Vol. 9(3), 243-245 p.

Shin J., Y. Hwang, O. Tu, H. Jo, J. Kim, Y. Chae, K. Rhu. y S. Park. 2012 Comparison of different methods to quantify fat classes in bakery products. Kyung Hee University. Elsevier Food Chemistry Vol 136. 703-709 p.

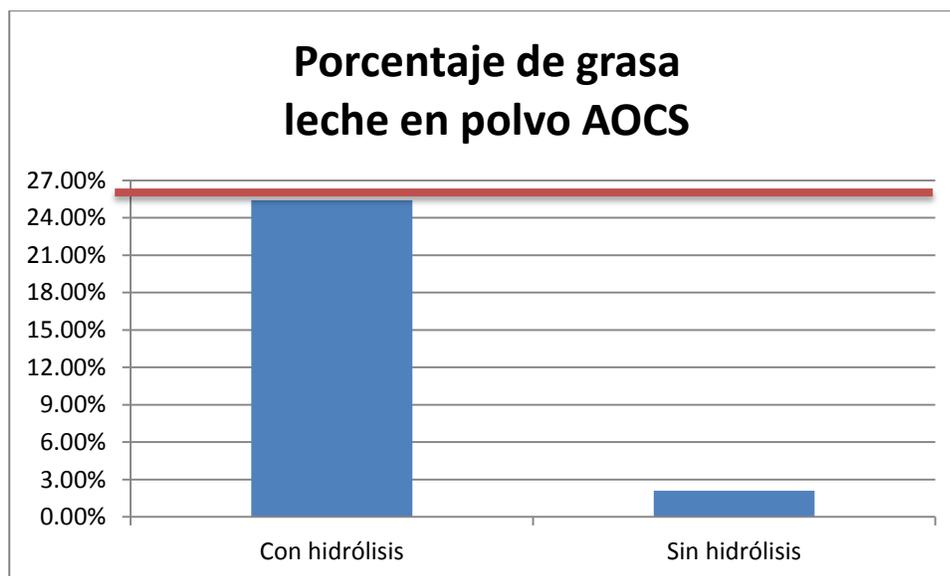
Torres-Moreno M., E. Torrecasana, J. Salas-Salvado y C. Blanch. 2014. Nutritional composition and fatty acids profile in cocoa beans and chocolates with different geographical origin and processing conditions. Central University of Catalonia, Spain. Elsevier Food Chemistry Vol 166. 125-132 p.

7. ANEXOS

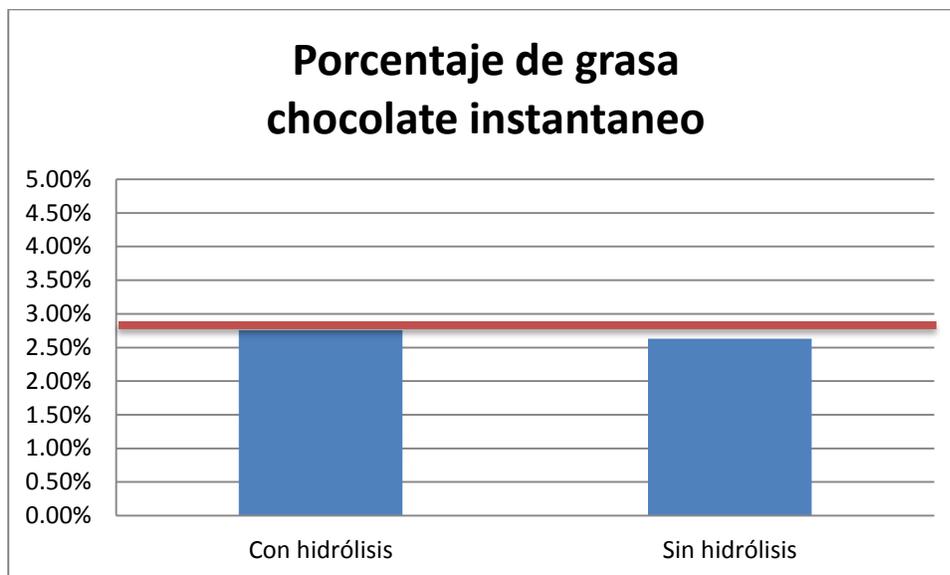
Anexo 1. Comparación entre el porcentaje por método y valor esperado en alimento para camarón.



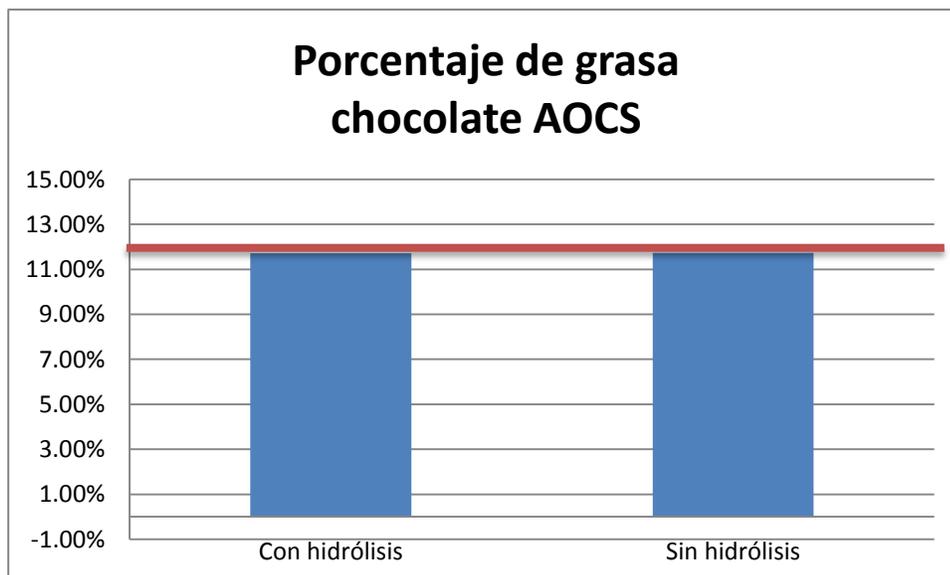
Anexo 2. Comparación entre el porcentaje por método y valor esperado de leche en polvo AOCS.



Anexo 3. Comparación entre el porcentaje por método y valor esperado en chocolate comercial.



Anexo 4. Comparación entre el porcentaje por método y valor esperado en chocolate AOCS.



Anexo 5. Certificado AOCs para chocolate en polvo.



LABORATORY PROFICIENCY PROGRAM
NUTRITIONAL LABELING
2013-2014

P O Box 17190, Urbana, IL 61803-7190 USA
phone: +1 217- 359-2344; fax: +1 217- 351-8091
email: technical@aocs.org; web: www.aocs.org

DATA ENTRY REPORT SAMPLE 4

Analyst	08:0	10:0	12:0	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3	18:1 trans	18:2+18:3 trans	Fat	Polyun- saturated	Saturated	trans	Total Protein
2269	.00	.00	.00	.10	26.30	.30	34.20	33.30	3.70	.30	.10	.10	11.10	.40	6.60	.00	24.20
2274	.00	.00	.00	.10	25.90	.30	34.30	33.50	3.60	.20	.10	.00	12.30	.50	7.30	.00	24.30
2284	.00	.00	.00	.10	25.80	.20	34.60	34.20	3.20	.20	.00	.00	10.50	.30	6.20	.00	24.20
2287	.00	.10 *	.00	.20	25.80	.00	33.20	33.90	4.00	.30	.30 *	.20 *	12.50	.50	7.60	.10 *	25.30
2475	.00	.00	.00	.20	25.70	.30	34.50	33.60	3.70	.20	.10	.00	12.10	.50	7.10	.00	24.70
2490	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	11.80	.50	7.00	.00	24.90
2524	.00	.00	.00	.10	26.30	.30	34.60	33.50	3.40	.20	.00	.00	13.70	.40	7.50	.00	23.30
2566	.00	.00	.00	.10	26.00	.30	34.30	33.60	3.60	.20	.10	.00	12.10	.50	7.20	.00	****
2569	.10 *	.00	.00	.10	25.90	.30	34.50	33.20	3.90	.20	.00	.00	11.60	.50	6.90	.00	24.70
2586	.00	.00	.00	.00	25.50	.30	34.00	33.60	3.70	.30	.00	.00	12.10	.50	7.20	.00	23.70
2615	.00	.00	.00	.00	25.60	.00	35.30	34.50	3.50	.00	.00	.00	12.80	.40	7.60	.00	24.40
2619	.00	.00	.00	.20	26.20	.30	34.20	33.50	3.60	.20	.00	.00	12.30	.50	7.30	.00	24.70
2625	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	10.60	****	****	****	24.10
2627	.00	.00	.00	.10	25.10	.20	37.00	32.60	3.00	.20	.00	.00	3.30 *	.10 *	2.10 *	.00	****
2631	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	11.60	****	****	****	23.20
2689	.00	.00	.00	.10	27.20	.00	32.60	33.70	4.20	.30	.20	.00	****	****	****	****	****
2701	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	13.20	****	****	****	****
2711	.00	.00	.00	.10	25.60	.30	34.30	33.80	3.70	.30	.10	.00	11.80	.50	7.10	.00	24.30
2723	.00	.00	.00	.10	25.20	.30	34.70	32.80	2.80	.00	.00	.00	12.10	4.40 *	7.70	.00	24.10
2765	.00	.00	.00	.10	24.80	1.40 *	34.30	31.80 *	2.50	1.20 *	1.30 *	1.50 *	8.80 *	.50	5.30 *	20 *	23.40
2827	.00	.00	.00	.20	29.40 *	.30	31.60	32.80	3.30	.20	.00	.00	10.20	.40	6.50	.00	24.50
Avg.	.00	.00	.00	.11	25.81	.23	34.25	33.51	3.49	.21	.05	.01	11.91	.46	7.12	.00	24.24
Std. Dev.	.00	.00	.00	.06	.56	.12	1.12	.50	.43	.09	.06	.03	.91	.06	.43	.00	58

PLEASE REPORT ALL RESULTS TO TWO DECIMAL PLACES

This report contains all of the criteria that will be used to determine the proficiency and ranking reports

The data contained herein are confidential and are provided for the use of participants only. The inclusion of data from other participants are for comparison purposes only.

Upon receipt of this report please appeal any information within 30 days

Monday, November 18, 2013

Page 1 of 1

Anexo 6. Certificado de AOCS para leche en polvo.

**LABORATORY PROFICIENCY PROGRAM
NUTRITIONAL LABELING
2010-2011**

P O Box 17190, Urbana, IL 61803-7190 USA
phone: +1 217-359-2344; fax: +1 217-351-8891
email: technical@aoacs.org; web: www.aoacs.org

AOCS
Since 1919
Your Global Fats and Oils Connection

DATA ENTRY REPORT SAMPLE 1

Analyst	08:0	10:0	12:0	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3	18:1 trans	18:2+18:3 trans	Fat	Polyun- saturated	Saturated	trans	Total Protein
1007	1.50	3.20	3.50	10.90	29.00	1.40	10.40	20.50	3.10	.50	3.70	.90	23.40	.90	14.90	1.00	24.60
1009	****	3.30	3.80	11.50	30.80	3.00	11.60	23.30	4.00	.50	2.60	1.10	24.50	1.10	14.70	.90	26.70 *
1027	.80	2.30	3.10	10.40	30.00	1.80	12.30	24.80	3.30	.80	.00	.40	28.10	1.20	17.10	.10	24.80
1057	1.40	2.90	3.30	11.10	28.50	2.40	10.40	22.00	3.00	.50	2.40	.90	28.30	1.00	16.60	.80	24.70
1058	1.30	3.00	3.40	11.10	29.70	1.50	10.90	22.30	3.10	.00	2.80	.90	28.40	1.10	16.50	1.00	****
1099	1.30	3.00	3.30	10.50	28.30	1.30	10.20	21.80	2.90	.50	2.70	.70	27.30	1.00	17.00	1.00	24.00
1113	.70	2.20	3.00	10.90	31.10	1.90	11.80	23.90	3.30	.50	2.80	.30	24.60	1.20	14.80	.80	24.30
1114	1.30	3.00	3.30	10.80	29.40	2.40	10.50	24.60	4.00	.60	3.60	.00	25.00	1.00	15.50	1.30	24.80
1150	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	24.60	1.00	16.80	.60	24.70
1153	****	1.40	3.40	13.00	35.00	.50	10.90	25.00	4.00	.60	3.20	.00	****	****	****	****	****
1167	1.10	2.80	3.40	11.20	30.70	1.40	11.50	25.80	4.00	.50	3.30	.90	23.60	1.20	15.50	1.00	25.10
1181	1.20	2.70	3.20	10.50	29.00	2.50	10.90	25.10	4.10	.50	2.90	.90	26.60	1.10	16.70	1.00	24.20
1182	1.00	2.60	3.30	11.40	32.30	1.90	12.00	22.40	3.40	.60	2.90	.00	28.30	1.20	19.10	.90	24.30
1189	****	2.40	3.00	11.40	34.30	2.30	12.80	25.80	3.70	****	2.20	****	18.50 *	****	****	****	24.50
1197	.90	2.60	3.30	11.50	33.20	1.30	12.70	21.50	2.60	.40	2.60	.90	25.70	.80	17.90	.90	****
1232	1.00	2.40	3.30	10.70	30.90	3.00	11.30	26.90	5.30 *	.70	1.70	1.00	.60 *	.10 *	.40 *	.00	24.70
1235	.50	1.50	2.40 *	10.00	32.80	2.10	13.70	28.40	3.00	.40	.00	.00	20.90	.80	13.50	.00	25.60
4937	1.20	3.30	4.20 *	14.30 *	35.50	1.90	11.00	21.60	3.40	.60	.00	.00	24.40	1.00	17.30	.00	24.20
5003	****	.00	.00	.20 *	10.60 *	.20	4.30 *	21.30	49.70 *	7.00 *	.00	.00	26.40	16.10 *	4.70 *	.00	23.80
5006	1.30	2.90	3.30	10.30	27.60	1.70	10.10	20.50	2.90	.50	2.20	.70	28.30	1.20	18.60	.90	24.60
5012	1.00	2.60	3.20	10.80	29.90	1.80	11.20	25.60	4.10	.60	2.30	.90	24.20	1.00	14.90	.70	24.10
Avg.	1.09	2.64	3.30	11.00	30.95	1.82	11.38	23.66	3.44	.55	2.20	.55	25.59	1.05	16.32	.68	24.53
Std. Dev.	.27	.53	.19	.66	2.32	.71	.98	2.25	.49	.10	1.22	.43	2.05	.13	1.50	.43	.44