

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROALIMENTARIAS
ESCUELA DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Proyecto presentado a la Escuela de Tecnología de Alimentos para optar por el grado de
Licenciatura en Ingeniería de Alimentos:

**Validación de un método de determinación de grasa basado en un sistema
automatizado de extracción continua para su uso en un alimento frito y evaluación
de su eficiencia**

Elaborada por
Roberto Calvo Flores
A91191

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio
San José, Costa Rica

2020

Proyecto de graduación presentado a la Escuela de Tecnología de Alimentos como requisito parcial para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería de Alimentos.

Elaborado por:

Roberto Calvo Flores

Aprobado por:

PhD. Jessie Usaga Barrientos

Presidenta del Tribunal

Lic. Carolina Cortés Herrera

Directora del Proyecto

Lic. Graciela Artavia González

Asesora del Proyecto

MSc. Hermes Alvarado Montero

Asesor del Proyecto

Lic. Eduardo Thompson Vicente

Profesor Designado

Agradecimientos

Agradezco mucho a mi familia, especialmente mis padres, por todo el apoyo que me han dado durante todos estos años de estudio. También agradezco a los miembros del comité asesor: Nadia Jiménez, Graciela Artavia y Carolina Cortés. Siempre me ayudaron muchísimo a lo largo del proceso. También agradezco a Hermes Alvarado.

Muchas gracias también al personal del laboratorio de química del CITA que me ayudaron en lo que necesité y siempre contestaron mis preguntas. Gracias a Ximena Abrahams por ayudarme con los chips de papaya.

También quiero mencionar mi agradecimiento a todos los profesores y el personal de la Escuela de Tecnología de Alimentos y del CITA que siempre me trataron bien y me ayudaron en lo que necesité.

Contenido	
Tribunal examinador.....	2
Agradecimientos.....	3
Índice de cuadros.....	6
Índice de figuras.....	8
Resumen.....	9
1. Justificación.....	10
2. Objetivos.....	12
2.1. Objetivo general.....	12
2.2. Objetivos específicos.....	12
3. Marco teórico.....	13
4. Materiales y métodos.....	18
4.1. Localización.....	18
4.2. Materias primas.....	18
4.3. Equipos.....	19
4.4. Metodología.....	21
4.4.1. Objetivo 1 Optimización de las condiciones del análisis automatizado de grasa.....	21
4.4.2. Objetivo 2. Determinación de los parámetros de desempeño.....	24
4.4.2.1. Robustez.....	24
4.4.2.2. Precisión.....	24
4.4.2.3. Veracidad.....	25
4.4.2.4. Ámbito de trabajo.....	26
4.4.2.5. Incertidumbre.....	26
4.4.2.6. Comparación entre ambos métodos.....	26
4.4.3. Objetivo 3 Comparación de la eficiencia de los dos métodos.....	27
5. Resultados y discusión.....	28
5.1. Objetivo 1: Optimización de las condiciones del análisis automatizado de grasa (masa de muestra, volumen de disolvente y números de ciclos de extracción) en función del sesgo relativo en valor de grasa obtenido respecto al valor real en una muestra de referencia.....	28
5.2. Objetivo 2: Determinación de los parámetros de desempeño (veracidad, precisión, ámbito de trabajo, robustez e incertidumbre) de la medición automatizada de grasa en las condiciones optimizadas.....	33
5.2.1. Veracidad.....	33

5.2.2.	Ámbito de trabajo y comparación de métodos	34
5.2.3.	Precisión	36
5.2.4.	Robustez	39
5.2.5.	Efecto del secado de la muestra.....	42
5.2.6.	Incertidumbre.....	44
5.3.	Objetivo 3: <i>Comparar la eficiencia del método automatizado en relación con el método oficial, tomando en cuenta consumo de disolvente, energía y tiempo de análisis.</i>	45
5.3.1.	Tiempo de análisis	45
5.3.2.	Consumo de energía	46
5.3.3.	Consumo de agua	48
5.3.4.	Recuperación de disolvente	48
6.	Conclusiones	50
7.	Recomendaciones.....	51
8.	Bibliografía.....	51
9.	Anexos	

Índice de cuadros

Cuadro I. Variables independientes y niveles empleados para la optimización de las condiciones del método automatizado.....	22
Cuadro II. Diseño central compuesto rotacional con tres parámetros, $\alpha=1,6818$ y cuatro repeticiones del valor central para la determinación de las condiciones óptimas del método.....	23
Cuadro III: Resumen de las variables que se midieron para calcular la eficiencia.....	27
Cuadro IV. Resultados de la medición de grasa en diferentes condiciones de análisis y resultados usados para el análisis de superficie de respuesta.....	29
Cuadro V. Resultados del modelo de la superficie de respuesta. Con un $R^2=0,53271$. Los factores resaltados tienen efecto significativo.....	30
Cuadro VI. Resultados del modelo de la superficie de respuesta. Con un $R^2=0,40046$	31
Cuadro VII. Resultados de la estimación de la veracidad.....	34
Cuadro VIII. Valores promedio e intervalos de confianza ($\alpha=0,05$) de las muestras con diferente contenido de grasa.....	35
Cuadro IX. Determinación de la repetibilidad con datos de un mismo día, secando una de las muestras y la otra no.....	36
Cuadro X. Análisis de la reproducibilidad del método automatizado con la muestra C de chips de papaya a lo largo de 4 días en dos semanas diferentes.....	37
Cuadro XI. Coeficiente de Horwitz cuando se compara cada posición del equipo automatizado.....	38
Cuadro XII. Resultados de la determinación de grasa obtenidos en los puntos axiales en los que se variaba la masa de la muestra.....	39
Cuadro XIII. Análisis de variancia comparando los resultados de la determinación de grasa en los puntos axiales cambiando la masa de la muestra. Con $\alpha=0,05$	39
Cuadro XIV. Resultados de la determinación de grasa obtenidos en los puntos axiales en los que se variaba el volumen de disolvente.....	40
Cuadro XV. Análisis de variancia comparando los resultados de la determinación de grasa en los puntos axiales cambiando el volumen de disolvente. Con $\alpha=0,05$	40

Cuadro XVI. Resultados obtenidos de la determinación de grasa en los puntos axiales en los que se variaba el tiempo de extracción.....	41
Cuadro XVII. Análisis de variancia comparando los resultados de la determinación de grasa en los puntos axiales con 20 y 240 minutos de extracción. Con $\alpha=0,05$	41
Cuadro XVIII. Análisis de variancia comparando los resultados de la determinación de grasa de un punto axial (240 min) con el punto central (130 min).....	41
Cuadro XIX. Análisis de variancia comparando los resultados de la determinación de grasa de un punto axial (20 min) con el punto central (130 min)	42
Cuadro XX. Resultados obtenidos de la determinación de grasa. Secando y sin secar la muestra D de chips de papaya.	43
Cuadro XXI. Cálculos del análisis de varianza con los datos del cuadro XX. Con $\alpha=0,05$	43
Cuadro XXII. Amperaje del equipo automatizado en las diferentes etapas del proceso.....	46
Cuadro XXIII. Valores de flujo del agua de refrigeración.....	48

Índice de figuras

Figura 1. Diagrama del equipo de Soxhlet tradicional.....	14
Figura 2. Diagrama y funcionamiento del equipo.....	20
Figura 3. Valores experimentales contra valores predichos por el modelo.....	32
Figura 4. Valores promedio e intervalos de confianza ($\alpha=0,05$) de las muestras con diferente contenido de grasa.....	35
Figura 5. Valores promedio e intervalos de confianza, tomando en cuenta los distintos espacios del equipo.....	38
Figura 6. Diagrama de cola de pez con los factores que contribuyen a la incertidumbre del método de análisis de grasa.....	44

Resumen

Calvo Flores, Roberto

Validación de un método de determinación de grasa basado en un sistema automatizado de extracción continua para su uso en un alimento frito y evaluación de su eficiencia

Tesis Ingeniería de Alimentos-San José, C.R.:

R. Calvo F. 2020

68h. 0il. - 25 refs

Se validó un equipo automatizado de análisis de grasa en el laboratorio de química del CITA comparándolo con el método oficial.

Se hizo un análisis de superficie de respuesta para optimizar las condiciones de análisis. Con las condiciones de mejores resultados de esta parte se hicieron una serie de análisis para determinar los parámetros de desempeño (veracidad, repetibilidad, reproducibilidad, robustez, ámbito de trabajo e incertidumbre). Finalmente se midió el consumo de electricidad, agua y tiempo en ambos métodos de análisis para comparar su eficiencia.

No se consiguió encontrar una combinación de condiciones óptimas para el análisis de grasa. El equipo automatizado permite determinar el contenido de grasa en los alimentos de forma más eficiente que el método tradicional ya que es más rápido y consume menos disolvente.

Palabras clave: Validación, Soxhlet, determinación de grasa, frituras.

Escuela de Tecnología de Alimentos, Facultad de Ciencias Agroalimentarias.

1. Justificación

Los *snacks* fritos son alimentos altamente consumidos por la población, principalmente por su sabor y porque provocan placer al comerlos. Los alimentos fritos suelen ser altos en contenido de aceite. Los aceites y grasas son necesarios para la vida, pero su consumo en exceso puede provocar enfermedades cardiovasculares y obesidad (Martínez *et al.* 2002).

Un análisis cuantitativo de los lípidos en alimentos es importante para el etiquetado nutricional y para determinar si el alimento cumple con especificaciones de manufactura. Un análisis erróneo puede llegar a ser costoso y podría resultar en productos de calidad y funcionalidad indeseables (Min & Ellefson, 2010). También es necesario conocer el contenido de lípidos para cumplir con normativa o legislación, como por ejemplo el Reglamento de Sodas y Comedores Escolares que prohíbe la venta de alimentos preenvasados con un contenido de grasa total mayor a 10% en escuelas y colegios de Costa Rica (MEP-S, 2012).

Además, la cantidad de lípidos de un alimento puede contribuir a su deterioro ya que pueden sufrir de oxidación o hidrólisis, los cuales provocan una alteración en el sabor y rechazo por parte de los consumidores (Badui-Dergal, 2006). Un método de análisis rápido y confiable es necesario para el aseguramiento de la calidad de este tipo de alimentos.

El método de Soxhlet para la determinación de grasa cruda en granos y derivados (AOAC 920.85) es bastante utilizado ya que es fácil de hacer y es confiable, pero toma mucho tiempo y consume una gran cantidad de energía, así como de disolventes. Existen equipos automatizados, por ejemplo el Soxtec Avanti fabricado por FOSS Analytical o un equipo similar fabricado por Büchi, que hacen lo mismo que el método tradicional, pero en un tiempo menor y con menos intervención humana.

En este proyecto se pretende validar el método de determinación de grasa con equipo automatizado marca Foss modelo Soxtec Avanti 2050, en comparación con el método oficial (AOAC 920.85), considerando las ventajas que representa contar con un método más rápido y eficiente para determinar el contenido graso en los alimentos fritos. Inicialmente se realizará la optimización de las condiciones del análisis al hacer variar los

parámetros: masa de muestra, volumen de disolvente, y ciclos de extracción, para posteriormente determinar los parámetros de desempeño, mencionados anteriormente, del método optimizado. Además, se va a evaluar la eficiencia del nuevo método en comparación con el de Soxhlet, tomando en cuenta el costo total, el tiempo y el consumo energético.

2. Objetivos

2.1. Objetivo general

Validar un método automatizado de determinación de grasa en un alimento frito y evaluar sus parámetros de desempeño y eficiencia en comparación con el método oficial (AOAC 920.85 Soxhlet).

2.2. Objetivos específicos

- 2.2.1. Optimizar las condiciones del análisis automatizado de grasa (masa de muestra, volumen de disolvente y número de ciclos de extracción) en función del error del porcentaje de grasa respecto al valor real en una muestra de referencia.
- 2.2.2. Determinar los parámetros de desempeño (veracidad, precisión, ámbito de trabajo, robustez e incertidumbre) de la medición automatizada de grasa en las condiciones optimizadas.
- 2.2.3. Comparar la eficiencia del método automatizado en relación con el método oficial, tomando en cuenta consumo de disolvente, energía y tiempo de análisis.

3. Marco teórico

Existe una amplia variedad de métodos para determinar la cantidad de lípidos presente en un alimento. Algunos métodos están basados en extraer los lípidos con un disolvente, evaporar el disolvente y luego pesar los lípidos directamente.

Las principales diferencias entre estos métodos son el tipo de disolventes utilizado para la extracción y si los métodos son continuos, semicontinuos y discontinuos. También existen métodos instrumentales o indirectos en los cuales se mide alguna propiedad física que es proporcional a la cantidad de lípidos.

El método Soxhlet para la determinación de grasa cruda en granos y derivados (AOAC 920.85) es uno de los más aplicados en esa y otra clase de alimentos; que consiste en extraer todos los lípidos de la muestra usando un disolvente como el hexano, éter etílico o éter de petróleo. En la Figura 1 se puede observar un diagrama del equipo de Soxhlet tradicional, donde el disolvente se evapora y luego se condensa de forma que cae en el frasco donde está la muestra. Ahí se va acumulando el disolvente hasta que llega hasta un nivel máximo en el que un sifón vacía el frasco y el disolvente, y junto con los lípidos extraídos pasa al depósito de disolvente donde se está calentando para volverse a evaporar y continuar con otro ciclo. Se hacen suficientes ciclos para asegurar que se ha extraído la totalidad de los lípidos presentes en el alimento; alrededor de 20 ciclos son necesarios con una duración de 4 horas o más. Una vez que ha terminado la etapa de extracción, se recoge el extracto en un balón pre-pesado y se evapora el disolvente en un evaporador rotatorio, se pesa la cantidad de lípidos extraída y se calcula el porcentaje de lípidos en la muestra (Fereidoon y Wanasundara 2008; Luque de Castro y Priego-Capote 2010; Luque-García *et al.* 2002; Min y Ellefson 2010).

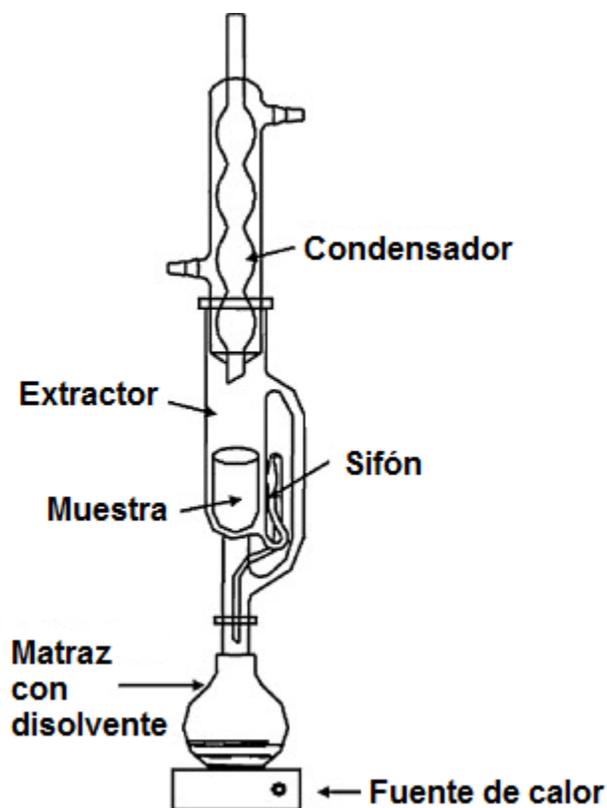


Figura 1. Diagrama del equipo de Soxhlet tradicional. (Luque de Castro y Priego-Capote 2010)

Al basarse el método de Soxhlet en un proceso de extracción sólido-líquido, existen diferentes factores que permiten determinar su eficacia y eficiencia como método de análisis. Entre los factores más importantes están:

- a) *Volumen de disolvente*, entre más disolvente se utilice para una cantidad determinada de muestra, mayor será la capacidad de extracción de los lípidos contenidos en ella. (Min y Ellefson 2010; Luque de Castro and Priego-Capote 2010)
- b) *Número de ciclos*, al ser una extracción múltiple, en vez de una simple, el número de ciclos de extracción influye en la cantidad de lípidos extraídos; el número de ciclos se relaciona directamente con el tiempo de extracción y por eso es una de las variables que se optimiza. (Min y Ellefson 2010; Luque de Castro and Priego-Capote 2010)
- c) *Masa de la muestra*, este factor influye porque con una menor cantidad de muestra es más fácil lograr extraer la totalidad del contenido de grasa de la misma, sin embargo

debe ser una cantidad suficiente para asegurar que el valor obtenido sea representativo del analito (Min y Ellefson 2010; Luque de Castro and Priego-Capote 2010).

- d) *Tipo de disolvente*, diferentes tipos de disolvente tienen distintas características como la capacidad de disolver lípidos, polaridad, la incapacidad de disolver otro tipo de sustancias, volatilidad, inflamabilidad y precio. Los más usados en análisis de grasas son éter de petróleo y éter etílico, aunque también se utilizan hexano y pentano. (Min y Ellefson 2010). Este factor no fue evaluado en el presente proyecto, únicamente se utilizó éter de petróleo en todas las pruebas.

Entre las ventajas de este método oficial se puede mencionar que es fácil de aplicar, no depende de la matriz, la extracción es eficaz porque se pone en contacto la muestra constantemente con disolvente nuevo y a una temperatura relativamente alta, esto hace que se desplace el equilibrio de la transferencia de masa (Luque de Castro y García-Ayuso 1998; Luque de Castro y Priego-Capote 2010). Entre las desventajas está que consume mucho disolvente, toma mucho tiempo y tiene un alto consumo energético.

Los disolventes pueden causar daños ambientales; por ejemplo, algunos disolventes como benceno y cloroformo son tóxicos y carcinogénicos, mientras que otros compuestos orgánicos volátiles pueden generar *smog* fotoquímico y otros impactos negativos al medio ambiente (Clark y Tavener 2007). En los últimos tiempos existe el interés de disminuir el impacto ambiental de las actividades humanas, por lo que es muy deseable buscar alternativas para usar menos disolventes orgánicos y menos energía al realizar pruebas de laboratorio (Virot *et al.* 2008).

Se han propuesto diferentes modificaciones al método tradicional para solventar sus desventajas, por ejemplo, hidrolizar con ácido la matriz para que los lípidos no estén ligados a proteínas o carbohidratos y se extraigan correctamente lo cual es necesario en diferentes tipos de muestra. En alimentos fritos, los lípidos presentes provienen casi todos del aceite de fritura, por lo que en su mayoría serán lípidos no polares que son extraídos eficientemente por el método de Soxhlet. Además, como el aceite es añadido al alimento y no viene integrado en sus tejidos, como sería el caso de la carne, no es necesario hacer una hidrólisis previa a la extracción de Soxhlet. Otra modificación es hacer el proceso a altas presiones para que el disolvente penetre mejor en la matriz y tenga una mayor temperatura,

de forma que la extracción sea más rápida. Otra opción es el uso de microondas o ultrasonido para acelerar la etapa de extracción.

Aparte de las modificaciones al método de Soxhlet tradicional ya mencionadas, existen equipos comerciales para la determinación de grasa que aceleran el proceso de extracción. La principal diferencia de su funcionamiento en relación con el método tradicional es que la máquina está programada para hacer todo el análisis de forma automática en el mismo equipo sin que sea necesaria la intervención humana. Esto es una ventaja ya que permite que los analistas se ocupen en otras labores. También el equipo se puede dejar trabajando durante la noche sabiendo que se apagará cuando haya terminado (FOSS Analytical 2005; Luque de Castro y Priego-Capote 2010). Este proyecto se realizó con un equipo automático de este tipo cuya información se detalla en la sección 4.3. Además de la automatización, el funcionamiento de este equipo se diferencia del Soxhlet en que la muestra se sumerge en el disolvente caliente para una extracción más eficiente y rápida. También el equipo está diseñado para recuperar la mayor parte del disolvente, lo que permite disminuir su consumo. La recuperación de disolvente también es posible en el Soxhlet tradicional, pero no se hace de forma automática.

Cuando se implementa un nuevo método de análisis es necesario validarlo para tener evidencia objetiva de que es adecuado para el uso que se le va a dar. Según Thompson *et al* (2002), la validación establece protocolos para asegurar que el método se desempeñe adecuadamente a lo largo de las concentraciones del analito y los materiales de ensayo en los que se aplica. Para la validación de un nuevo método hay que considerar los parámetros de desempeño como son la selectividad, especificidad, veracidad, precisión (incluye repetibilidad y reproducibilidad), ámbito de aplicación o de trabajo, linealidad o calibración, límite de cuantificación, límite de detección y robustez (Huber 2010; Murillo Ramírez 2003; Pérez Grana 2014; Thomson, Ellison, & Wood 2002; Zarpelon *et al.* 2016). A continuación, se describen los parámetros de desempeño:

1. *Selectividad y especificidad*: se refieren a que el análisis detecta únicamente al analito y no otros compuestos que pueden estar presentes en la muestra (Huber 2010), para este proyecto estos parámetros no son tan importantes porque el método determina lípidos

totales y cualquier biomolécula que sea extraída por el disolvente se cuenta como lípidos totales.

2. *Veracidad*: la veracidad o exactitud significa la medida en que los resultados de las pruebas concuerdan con el valor real (Huber 2010),
3. *Precisión*: se refiere al grado de dispersión entre diferentes mediciones de diferentes muestreos de una misma muestra (Huber 2010); la precisión incluye la repetibilidad, que es la variación del resultado de un análisis realizado varias veces en poco tiempo con las mismas condiciones: día, analista, equipo; y la reproducibilidad, que se refiere a la variación de los resultados en diferentes momentos, equipos y analistas.
4. *Linealidad*: se refiere a que el resultado del análisis debe ser proporcional a la concentración del analito (Huber 2010).
5. *Rango o ámbito de trabajo*: se refiere al intervalo de concentraciones en el cual el análisis tiene valores aceptables de precisión, exactitud y linealidad (Huber 2010),
6. *Límites de detección y de cuantificación*: son respectivamente la cantidad más pequeña de analito que se puede encontrar usando el método de análisis y la menor cantidad cuyo valor pueda ser determinado con exactitud. (Huber 2010)
7. *Robustez*: se refiere a la capacidad del método de análisis para mantener el resultado con variaciones pequeñas de las condiciones del proceso e indica la confiabilidad del método en el uso cotidiano (Huber 2010)
8. *Incertidumbre*: Toda medición es en realidad una estimación de la magnitud real de lo que se está midiendo y el valor debe reportarse con su respectiva incertidumbre. Es el rango en el que se tiene certeza de que está el valor real de lo que se está midiendo. (Taylor & Kuyatt 1994; Calderón Jiménez 2013)

4. Materiales y métodos

4.1. Localización

El desarrollo de este proyecto se llevó a cabo en la sede Rodrigo Facio de la Universidad de Costa Rica, en San Pedro de Montes de Oca, San José. Los análisis químicos se realizaron en el Laboratorio de Química del Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CITA).

4.2. Materias primas

Para el desarrollo del proyecto se utilizó dos materias primas diferentes.

(a) Para la optimización del método de determinación de grasa (objetivo 1) se analizó una muestra de referencia usada para control de calidad (Fapas QC material T2475QC, ver ficha técnica en el anexo 1) que consiste en una galleta que tiene valores conocidos de humedad y grasa total, con sus respectivos intervalos de confianza. Esta muestra se usó también en la determinación de la robustez y veracidad del método.

(b) Para el objetivo 2, donde se determinan los demás parámetros de desempeño, se utilizó muestras de chips de papaya cuyo valor de grasas fueron obtenidos mediante análisis con el método oficial en un ámbito entre 20% a 50% de grasa. Esos chips provienen de un diseño experimental del proyecto de graduación de la estudiante Mariana Brenes (Brenes 2017). Entre los chips de papaya se escogieron tres muestras que tuvieron el porcentaje de grasa más alto (41% de grasa), el más bajo (25%) y un valor intermedio (32%). Esto con el objetivo de validar el método automatizado en un amplio rango de contenido de grasa en alimentos fritos. Las variaciones obtenidas en el contenido de grasa de los chips de papaya (de 25 a 41%) se deben a que fueron procesadas bajo condiciones de temperatura, tiempo de fritura y velocidad de centrifugación diferentes y estos factores tienen una gran influencia sobre la absorción de grasa en los alimentos fritos. Estas muestras se emplearon en la determinación de la precisión (repetibilidad y reproducibilidad), ámbito de trabajo e incertidumbre.

La razón por la cual se utilizó ambos materiales se debe a que para la optimización se requiere un material de referencia cuyo valor de grasa está declarado, ya que se basa en

el parámetro de veracidad. Mientras que para la determinación de los otros parámetros de desempeño (precisión, ámbito de trabajo, e incertidumbre), no es de interés evaluar la veracidad, de ahí que se usa un material de menor costo económico, donde no se requiere conocer el "valor verdadero de grasa", sino que el método se replique en el tiempo.

Tanto los chips de papaya como el material de referencia son matrices equivalentes con un contenido de grasa similar, por lo tanto, no es requerido volver a optimizar el método con los chips de papaya. Por otra parte, estos chips son un ejemplo de las muestras en las que se va a usar el método automatizado rutinariamente en el laboratorio y hay muestras disponibles que cubren un amplio rango de contenidos de grasa. Se usaron cuatro diferentes tandas de chips de papaya (A, B, C, y D) cada una con distintas condiciones de proceso y por lo tanto distinto contenido de grasa.

4.3. Equipos

En el laboratorio de química del CITA se cuenta con dos equipos automatizados de determinación de grasa, el que se usó en el proyecto es el de marca Soxtec Avanti modelo 2050. Este equipo tiene capacidad para analizar seis muestras de entre 0,5 g y 1,0 g simultáneamente. En el equipo se programa el tiempo de extracción, luego la máquina pasa automáticamente a un enjuague de la muestra y posteriormente se evapora el disolvente y se deja el extracto.

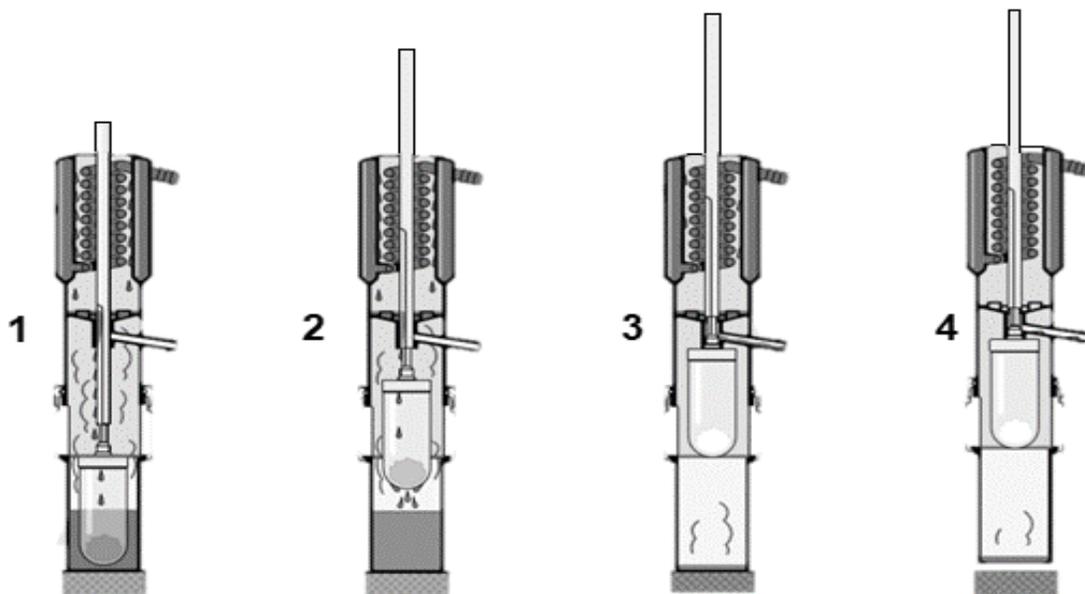


Figura 2. Diagrama y funcionamiento del equipo. (1) Remojo, (2) Extracción, (3) Recuperación del disolvente y (4) Secado. (FOSS Analytical 2005)

La muestra se extrae por un tiempo definido que es el que se varía en el diseño experimental de la optimización de las condiciones. Durante la etapa de remojo la muestra está sumergida dentro del disolvente (1 en la figura) aquí el disolvente se evapora y entra al condensador (1) y vuelve al frasco de abajo de forma que la muestra se mantiene siempre en contacto con disolvente en ebullición. En la etapa de extracción (2) se suben las muestras y el disolvente condensado pasa a través de ellas para terminar de disolver cualquier resto que haya podido quedar en la muestra. Finalmente, en la etapa de secado se hace pasar el disolvente condensado al tanque de recuperación (3) de forma que el extracto de lípidos se seca. Después de esto se pasan los frascos a una estufa y, una vez que se han enfriado, se pesan para calcular el porcentaje de grasa.

4.4. Metodología

4.4.1. Objetivo 1 Optimización de las condiciones del análisis automatizado de grasa

Para escoger las condiciones óptimas de extracción se consideran tres variables que son a) masa de la muestra, b) volumen de disolvente y c) tiempo de extracción. Los ámbitos de las variables se obtuvieron de las notas de aplicación del proveedor del equipo. Para el desarrollo de este objetivo, se utilizó un material de referencia (descrito en la sección 4.2) con un contenido conocido de grasa y se tomó como punto óptimo la combinación de condiciones que permita minimizar el sesgo del valor obtenido de grasa respecto al valor real en la muestra de referencia.

Para esto se hace un diseño experimental de superficie de respuesta con un diseño central compuesto rotacional. Los factores por optimizar son el número de ciclos (tiempo), volumen de disolvente y masa de la muestra. Para este diseño experimental se usó un valor central y ocho (2^3) puntos de base factorial y seis puntos axiales, además se llevó a cabo cuatro repeticiones del valor central lo cual da un total de 18 experimentos que se detallan en el Cuadro I y el Cuadro II.

Si se hacen seis en vez de cuatro repeticiones en el punto central, el diseño tendrá una precisión uniforme. Eso significa que la precisión de la estimación de la variable respuesta, será la misma en valores de los factores cercanos al valor central de la superficie de respuesta. Esta característica, aunque es deseable, no es tan importante como la rotabilidad y podría no valer la pena hacer el número de repeticiones necesario para conseguir que la superficie de respuesta tenga precisión uniforme (Kutner *et al.* 2005). En este proyecto se hicieron seis repeticiones en el punto central.

Cuadro I. Variables independientes y niveles empleados para la optimización de las condiciones del método automatizado.

Factores	Niveles Codificados				
	-1,682	-1	0	1	1,682
	Niveles nominales				
Masa de la muestra (g)	0,5000	0,6013	0,7500	0,8987	1,0000
Volumen de disolvente (mL)	50	60	75	90	100
Tiempo de análisis (min)	20	64	130	195	240

Cuadro II. Diseño central compuesto rotacional con tres parámetros, $\alpha=1,6818$ y cuatro repeticiones del valor central para la determinación de las condiciones óptimas del método.

Prueba	Masa de la muestra (g)	Volumen de disolvente (mL)	Tiempo (min)
1	0,60	60	64
2	0,90	60	64
3	0,60	90	64
4	0,60	60	195
5	0,90	90	64
6	0,90	60	195
7	0,60	90	195
8	0,90	90	195
9	1,00	75	130
10	0,50	75	130
11	0,75	100	130
12	0,75	50	130
13	0,75	75	240
14	0,75	75	20
15	0,75	75	130
16	0,75	75	130
17	0,75	75	130
18	0,75	75	130

Al usar un alfa de 1,6818 se asegura que el diseño es rotable y se puede escoger un valor óptimo en toda la superficie del diseño experimental, de no ser así sólo podría escogerse el mejor valor en los 18 medidos (Kutner *et al.*, 2005). La variable respuesta es el sesgo relativo (Ecuación 1) en el contenido de grasa con relación al valor de referencia:

$$Sesgo\ relativo = \frac{m_{grasa\ extraída} - m_{grasa\ real}}{m_{grasa\ real}} \quad (\text{Ecuación 1})$$

Con las condiciones de extracción con las que se consiga minimizar el sesgo en el contenido de grasa, se establece el punto óptimo del análisis automatizado. Las condiciones de masa, tiempo y volumen de disolvente determinadas en esta parte se usan en el resto de las mediciones con el equipo automatizado. El análisis estadístico de esta parte se realizó con el programa Statistica 7.0.

4.4.2. Objetivo 2. Determinación de los parámetros de desempeño

4.4.2.1. Robustez

Para calcular la robustez hay que medir cuánto cambia la variable respuesta al cambiar las condiciones de análisis. Se cambia una variable y se dejan las demás iguales y se calcula cuánto cambia el resultado. En este proyecto se usaron las variaciones respecto al punto central definidas en los puntos axiales para ver cuánto cambiaba el contenido de grasa resultante. Se considera que el método es robusto si esta variación es menor que la de la repetibilidad (Zarpelon *et al.* 2016). Se hizo un análisis de variancia comparando el nivel alto con el bajo para cada uno de los tres parámetros (masa, volumen y tiempo) en los puntos axiales. Con ese análisis se determinó si había diferencias significativas entre los resultados variando estos factores.

4.4.2.2. Precisión

La precisión se relaciona con la medida en que los resultados de un análisis varían entre sí. Se compone de repetibilidad y reproducibilidad. La repetibilidad (r) es la variación en un mismo día y con un mismo analista, mientras que la reproducibilidad (R) es la variación que hay entre diferentes analistas y días. Para determinar la repetibilidad se mide la grasa de los análisis de chips de papaya descritos en 3.2 con las condiciones óptimas determinadas previamente. Para la reproducibilidad se hace lo mismo, pero con dos diferentes analistas o en diferentes fechas. Aquí hay que establecer si, en relación con la desviación estándar, las repeticiones caen dentro de los límites de aceptabilidad de Horwitz y el criterio de la razón de HorRat en el nivel del analito determinado, en este caso la grasa. El coeficiente de HorRat sirve para ver si una serie de mediciones están dentro de un rango considerado adecuado al tomar en cuenta la concentración del analito.

En las ecuaciones de abajo el RSDr obtenido es la desviación estándar relativa obtenida de los experimentos (Rivera-Orozco & Rodríguez-Báez, 2010; Horwitz, 1982; Wolf *et al.*, 2003).

$$\text{Coeficiente de } HorRat = \frac{RSDr_{obtenido}}{RSDr_{calculado}} \quad (\text{Ecuación 2})$$

debe estar entre valores 0,5 a 2, donde $RSD_{repetibilidad} = RSDr = C^{-0,15}$ y $RSD_{Reproducibilidad} = RSDR = 2C^{-0,15}$ y C se define como la fracción de masa.

La desviación estándar (sr) se calcula con la ecuación 3

$$sr = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (\text{Ecuación 3})$$

Donde n es el número de muestras, x_i es cada valor de porcentaje de grasa y \bar{x} es el promedio de los valores medidos. La desviación estándar se multiplica por 2,8 y de esta forma se estima la repetibilidad y la reproducibilidad respectivamente.

4.4.2.3. Veracidad

Los resultados del diseño experimental también se utilizaron para determinar la veracidad de la medición. Para esto se usó una muestra de referencia para control de calidad Fapas QC material T25141QC, que consiste en una galleta (biscuit) de trigo. El análisis es veraz si el resultado obtenido es igual al valor real, o sea el de la muestra de referencia. Esto se comprueba comparando con análisis de variancia o prueba t de Student. La veracidad se calcula con la ecuación 4.

$$\frac{x(\text{valor experimental})}{x_{teórico}} \times 100\% \quad (\text{Ecuación 4})$$

Con x el valor experimental y \bar{X} el valor teórico, que en este caso sería el del material de referencia. Esta parte se calculó a partir de tres repeticiones en el punto óptimo calculado previamente, dichas repeticiones fueron llevadas a cabo por un solo analista. Con los mismos datos experimentales se puede calcular el sesgo relativo del método con la ecuación 5.

$$\frac{x_{teórico} - x_{experimental}}{x_{teórico}} \times 100\% \quad (\text{Ecuación 5})$$

4.4.2.4. Ámbito de trabajo

En esta parte se usaron cuatro muestras de chips de papaya (A, B, C y D) con porcentajes de grasa entre 20% y 50% de grasa, las cuales son las que se describen en la sección 3.2. Se calculó la grasa con el método tradicional y con el automatizado. Ambos resultados se compararon entre sí usando la prueba t de Student (usando Excel) buscando que no hubiese diferencias significativas con un $\alpha=0,05$. En cada muestra y cada método se corrió al menos tres repeticiones.

4.4.2.5. Incertidumbre

Para la estimación de la incertidumbre se debe tomar en cuenta todos los diferentes factores que afectan el resultado final. En el caso de la determinación de grasa por el método automatizado hay que tomar en cuenta la incertidumbre de la medición de masa de la muestra y la de la masa de los lípidos extraídos. Además, se debe considerar la incertidumbre debida a la repetibilidad. Para calcular la incertidumbre combinada se calcula la raíz cuadrada de la suma de los cuadrados de estas fuentes de incertidumbre. Los datos necesarios para este cálculo provienen de las determinaciones de grasa realizadas para uno de los objetivos anteriores.

4.4.2.6. Comparación entre ambos métodos

Se compara el porcentaje de grasa medido con el método automatizado y el tradicional. Se realizó al menos siete repeticiones del análisis con ambos métodos. Para el automatizado, se usó el punto óptimo determinado en la sección 3.4 de cada uno en los chips de papaya usados y se compararon entre sí usando la prueba t de Student. La hipótesis nula es que no hay diferencias significativas entre el porcentaje de grasa obtenido con ambos métodos a un $\alpha=0,05$.

4.4.3. Objetivo 3 Comparación de la eficiencia de los dos métodos

Se comparó la eficiencia entre el método tradicional y el automatizado. Como parámetros de eficiencia se definió el tiempo de análisis, el gasto de consumibles como el disolvente y el costo total asociado al análisis.

Para este objetivo se midieron las variables mencionadas a lo largo del desarrollo del proyecto. Al finalizar se obtuvo un valor promedio con todas las repeticiones realizadas, tanto para el método nuevo, como el tradicional y se compararon por medio de prueba t de Student para determinar si hay diferencias significativas. Los resultados del método tradicional se determinaron según lo descrito en las secciones 3.5.4 y 3.5.6, mientras que los del método automatizado se registraron de los resultados de las pruebas realizadas con el punto óptimo determinado en la sección 3.4.

Para el consumo de electricidad se tomó en cuenta lo que gasta el equipo automatizado. Se necesitó medir la potencia eléctrica, eso se hace midiendo la intensidad de corriente con un amperímetro y multiplicándolo por el voltaje de la máquina. Luego se multiplica la potencia eléctrica (medida en Watt) por el tiempo que está encendida y esto da como resultado un valor en unidades de energía (J o kWh). En una ecuación sería:

$$P (Watt) = V(Voltios) \times I(amperios) \text{ (Ecuación 6)}$$

En el caso del agua de enfriamiento, se pensó en calcular el gasto energético midiendo la temperatura antes y después de enfriar. Esa diferencia se multiplicaría por el calor específico del agua y el flujo másico del agua. Sin embargo, esto no se hizo porque la cantidad adicional de energía requerida para enfriar el agua es muy pequeña en comparación con la cantidad de electricidad necesaria para calentar el equipo. En el cuadro III se resumen las variables que se midieron para calcular la eficiencia.

Cuadro III: Resumen de las variables que se midieron para calcular la eficiencia.

Parámetro de eficiencia	Modo de determinación
Consumo disolvente	Volumen de disolvente (ml o L)
Consumo energético	Medición de la potencia y multiplicación por el tiempo para obtener kWh o J

Tiempo de analista	Tiempo que el analista destina a la determinación de grasa (h)
---------------------------	--

5. Resultados y discusión

5.1. Objetivo 1: Optimización de las condiciones del análisis automatizado de grasa (masa de muestra, volumen de disolvente y números de ciclos de extracción) en función del sesgo relativo en valor de grasa obtenido respecto al valor real en una muestra de referencia.

Se hizo un diseño central compuesto de superficie de respuesta buscando encontrar una combinación de condiciones que proporcionara un valor de porcentaje de grasa con una diferencia mínima (sesgo menor) con respecto al valor real. El valor definido como real respecto al cual se calculó la diferencia proviene de la ficha técnica del material de referencia utilizado para esta parte que corresponde $(19,94 \pm 0,90)$ g/100g. En el cuadro IV se muestran las condiciones de análisis y los resultados obtenidos. Dos de las mediciones del punto central (15 y 19 en el cuadro IV) dieron resultados erróneos por lo que se eliminaron. Para compensar eso se hicieron dos repeticiones más del punto central.

Cuadro IV. Resultados de la medición de grasa en diferentes condiciones de análisis y resultados usados para el análisis de superficie de respuesta. El valor sombreado es el que se escogió para el resto del proyecto.

Prueba	Masa de la muestra (g)	Volumen de disolvente (mL)	Tiempo (min)	Contenido de grasa (g/100 g)	Sesgo relativo
1	0,5975	60	64	17,55	10,79
2	0,9001	60	64	18,24	6,39
3	0,5995	90	64	19,49	2,46
4	0,6047	60	195	19,07	4,37
5	0,8952	90	64	18,25	8,55
6	0,8999	60	195	19,02	4,60
7	0,6020	90	195	19,07	8,49
8	0,9002	90	195	18,65	6,47
9	1,0120	75	130	18,58	8,80
10	0,5026	75	130	18,18	6,72
11	0,7477	100	130	18,02	5,93
12	0,7491	50	130	18,52	9,64
13	0,7583	75	240	17,54	12,05
14	0,7508	75	20	17,96	12,05
15	0,7614	75	130	19,51	5,75
16	0,7548	75	130	18,79	7,23
17	0,7548	75	130	18,76	7,03
18	0,7998	75	130	18,40	4,93
19	0,7591	75	130	17,52	10,79
20	0,7483	75	130	18,79	6,39

Al hacer el análisis estadístico usando el programa Statistica 7.0, el resultado fue que el modelo no fue significativo ($p > 0.05$). Por esta razón no fue posible obtener un punto de condiciones que diera un resultado óptimo. En ese tipo de análisis se busca hacer un

modelo con el que se pueda predecir con cierta confianza los resultados obtenidos. Este tipo de modelo incluye el efecto de cada uno de los tres parámetros evaluados, de cada parámetro al cuadrado y de las interacciones entre los parámetros. Los resultados se presentan en el cuadro V.

Cuadro V. Resultados del modelo de la superficie de respuesta. Con un $R^2=0,53271$. Los factores resaltados tienen efecto significativo.

	Efecto	Error estándar	Probabilidad
Promedio/Interc.	6,375827	0,543737	0,001333
(1) Masa (L)	0,043551	0,294701	0,891890
Masa(Q)	-0,081146	0,306215	0,808176
(2)Volumen (L)	-0,167666	0,294701	0,609206
Volumen (Q)	-0,072837	0,306215	0,827308
(3)Tiempo (L)	-0,617758	0,294701	0,127022
Tiempo (Q)*	1,435667	0,306215	0,018343
Masa por volumen*	1,520297	0,385046	0,028976
Masa por tiempo	-0,435887	0,385046	0,339922
Volumen por tiempo	1,029101	0,385046	0,075518

El diseño central compuesto genera una función polinómica de segundo orden que aproxima la superficie de respuesta (Kutner *et al.* 2005). Los valores de la columna de efecto son los pesos que tiene cada factor en la conformación de la superficie. El coeficiente de determinación (r^2) de este modelo es muy bajo (un valor de 0,53) y eso significa que solo el 53% de la variación de los resultados puede ser explicada con el modelo; lo cual indica que no tiene un buen ajuste.

La tercera columna indica la probabilidad que existe de obtener estos resultados si cada factor no tuviera efectos significativos en el modelo. Si este valor es menor a 0,05, es posible eliminar los factores que no tienen un efecto significativo en el modelo, con el fin de simplificarlo. Sin embargo, cuando se hace esto con estos resultados, se aumenta el error que pueda haber y como se ve en el cuadro VI de abajo, el r^2 disminuyó a 0,40046.

Cuadro VI. Resultados del modelo ajustado de la superficie de respuesta con un $R^2=0,40046$

	Efecto	Error estándar	Probabilidad
Promedio/Interc.	6,238768	0,340522	0,000355
Tiempo (Q)*	2,924662	0,589802	0,015746
Masa por volumen*	3,040593	0,770091	0,028976

En la figura 3 están representados los valores predichos por el modelo (línea recta) respecto a los valores observados (puntos del gráfico). Como ya se vio, de acuerdo con el coeficiente de determinación, el ajuste de este modelo no es bueno. Esto se puede ver claramente en la figura 3 ya que no coinciden los puntos con la línea.

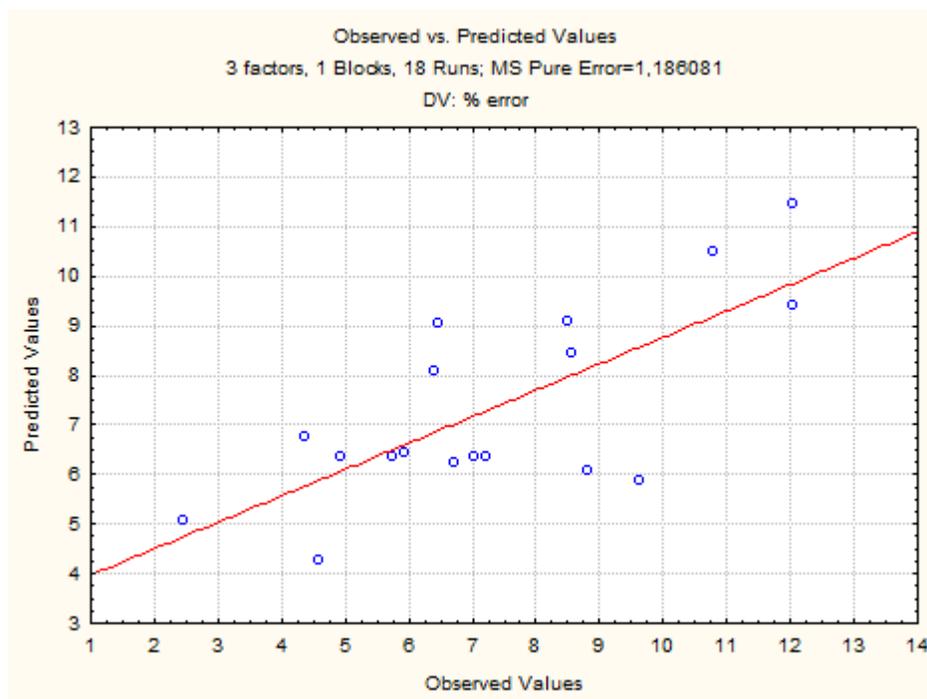


Figura 3. Valores experimentales contra valores predichos por el modelo.

A causa de todo lo mencionado anteriormente, no fue posible usar los datos del diseño experimental para optimizar las condiciones del análisis de grasa. Debido a esto, se usaron las condiciones que dieron un valor más cercano al contenido real de grasa que corresponde a 19,94 g/100 g con un intervalo entre 19,04 y 20,83 g/100 g. Estas condiciones fueron 0,60 g de muestra, 64 minutos de extracción y 90 mL de disolvente (están sombreadas en el cuadro IV). El sesgo relativo en estas condiciones fue de 2,46%.

Una de las posibles razones por las cuales no se encontró un punto de inflexión en la superficie de respuesta es que, de existir un punto máximo o mínimo, este no está dentro del rango utilizado. Se usó un rango de masa de la muestra de entre 0,5 y 1,0 g. Para encontrar un punto óptimo, este debería estar dentro de este rango. Si este punto existe, pero es mayor a 1,0 g o está cercano a ese valor, no va a ser evidente con los datos utilizados. El rango tan pequeño que se usó hace que sea más difícil encontrar un punto de inflexión en él.

También se cometieron errores metodológicos que pueden ser la causa de que no se logró la optimización de las condiciones de análisis. Por ejemplo, la muestra que se utilizó para la optimización del modelo eran unas galletas de trigo por lo que era necesario

hacer una hidrólisis ácida previa para asegurarse de extraer la totalidad de los lípidos presentes en la misma (Min y Ellefson 2010). Este paso no se hizo en las pruebas usadas para hacer el modelo estadístico. Originalmente se planeó usar otro material de referencia que consistía en un *snack* frito de maíz. Ese material no era necesario hidrolizarlo ya que al ser frito la grasa se encuentra principalmente en la superficie y es fácil de extraer. Se cambió el material utilizado debido a que el proveedor dejó de ofrecer ese producto.

Según las notas de aplicación del proveedor del equipo (ASN 3171) y la literatura (Fereidoon y Wanasundara 2008), si la muestra tiene menos de 8-10% de humedad no hace falta secarla antes de la extracción con disolvente. Las muestras usadas tenían una baja humedad, por lo que no se secaron previamente. No obstante, el no hacer este paso puede afectar los resultados ya que diferentes muestras pudieron haber absorbido diferentes cantidades de agua del aire. Algunas muestras pasaron más tiempo en contacto con el aire y la humedad que otras, por lo que absorbieron más agua. Además, la humedad del aire varía día con día, lo cual es otra razón por la que la cantidad de agua no fue la misma en todas las muestras. Todo esto tiene como consecuencia el aumento en la variabilidad que existe entre las mediciones. Al ser la variabilidad demasiado alta, es imposible saber si las diferencias de las variables respuesta son debido a efectos de los factores o al azar. De esa forma no se puede hacer un buen modelo.

5.2. Objetivo 2: Determinación de los parámetros de desempeño (veracidad, precisión, ámbito de trabajo, robustez e incertidumbre) de la medición automatizada de grasa en las condiciones optimizadas.

5.2.1. Veracidad

La veracidad se refiere a qué tan cercano es el valor obtenido experimentalmente al valor real. Para medir este parámetro se midió la grasa del material de referencia tres veces adicionales en las condiciones escogidas previamente (0,6 g de muestra; 90 mL de disolvente; 64 min de extracción). Los resultados obtenidos se compararon con el valor indicado en la ficha técnica del material de referencia. Además, como no se hizo una hidrólisis ácida al material antes de extraer la grasa y no se extrajo la totalidad de los lípidos, se aplicó un factor de corrección asumiendo que se extrajo el 95% de toda la grasa

presente, esto obtenido de resultados previos realizados por el laboratorio. Estos resultados se presentan en el cuadro siguiente (Cuadro VII).

Cuadro VII. Resultados del cálculo de la veracidad

Réplica	Grasa (g/100 g)
1	19,45
2	18,71
3	17,53
4	19,49
Promedio	18,56
Valor real	19,94
Veracidad (%)	93,09
Veracidad corregida (%)	97,99
Sesgo relativo (%)	6,91
Sesgo relativo corregido (%)	2,01

Con los resultados del cuadro se puede ver que el porcentaje de grasa obtenido con estas condiciones es bastante cercano al valor real ya que el valor de la veracidad es del 93%. Sin embargo, también hay que notar que sí mejora el ajuste al aplicar el factor de corrección, lo que indica que es necesario hacer una hidrólisis previa a la extracción de grasa en este tipo muestra.

5.2.2. **Ámbito de trabajo y comparación de métodos**

Se determinó el ámbito de trabajo con cuatro muestras con diferentes niveles de grasa y se determinó si existían diferencias significativas entre el método tradicional y el automatizado, usando un intervalo de confianza calculado con la t de Student. Los resultados que se obtuvieron están el cuadro VIII y en la figura 4.

Cuadro VIII. Valores promedio de contenido de lípidos e intervalos de confianza ($\alpha=0,05$) de las muestras con diferente contenido de grasa.

Muestra	Grasa por Soxtec (g/100 g)	Grasa por Soxhlet (g/100 g)
A	15,54 ± 0,57	14,55 ± 0,48
B	9,78 ± 0,44	9,85 ± 0,11
C	9,56 ± 0,34	9,75 ± 0,34
D	25,81 ± 0,14	25,84 ± 1,11

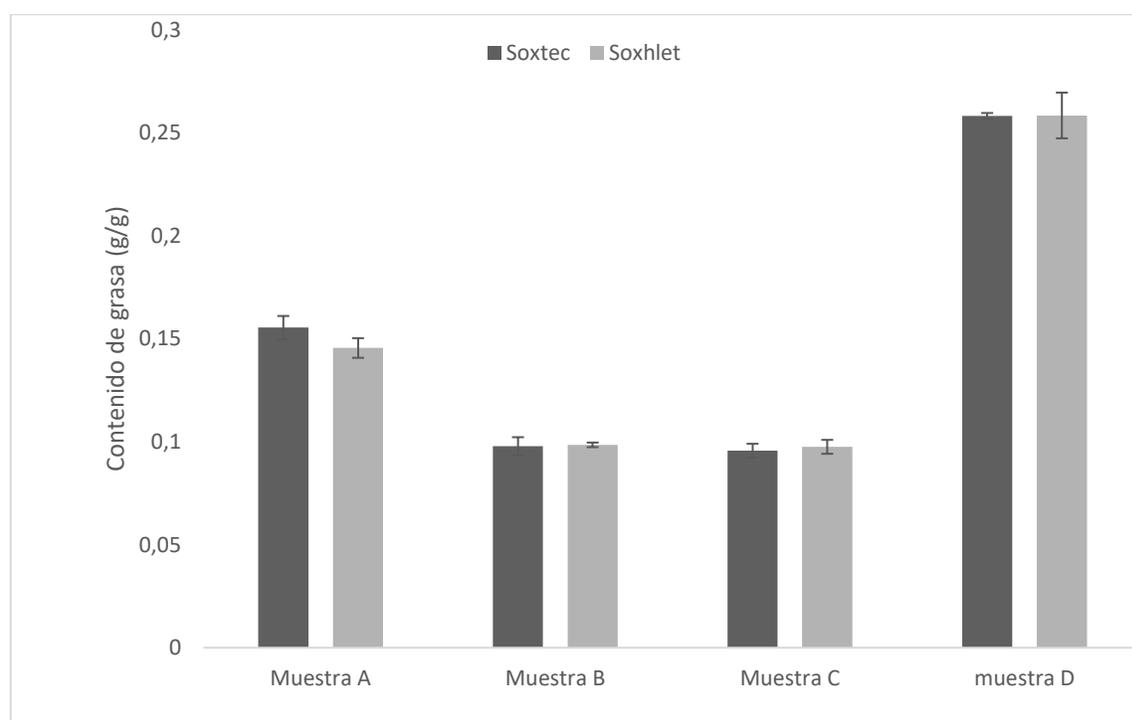


Figura 4. Valores promedio e intervalos de confianza ($\alpha=0,05$) de las muestras con diferente contenido de grasa.

De acuerdo con los valores mostrados en el cuadro VIII y la figura 4, se puede ver que no hay diferencias significativas ($p>0,05$) entre los resultados obtenidos con los dos métodos.

Con los datos obtenidos se puede concluir que el método automatizado proporciona resultados equivalentes al método tradicional de Soxhlet al menos en el rango que va de

10% a 25% de grasa en *snacks* fritos. Probablemente el ámbito de trabajo sea más amplio, pero no es posible asegurarlo con este conjunto de resultados.

5.2.3. Precisión

La precisión del uso del Soxtec se estimó mediante la repetibilidad y reproducibilidad en la ejecución del ensayo. Para la determinación de repetibilidad, se realizaron seis repeticiones de la extracción de grasa de la muestra D, evaluando el efecto del secado de esta previamente, con esto se calcula la desviación estándar y el coeficiente de HorRat como se observa en el cuadro IX. La razón HorRat obtenida se encuentra entre 0,5 y 2,0 para ambos casos, por lo que se concluye que con esta concentración de lípidos las variaciones observadas están dentro del rango de lo aceptable (Horwitz 1982; Rivera-Orozco y Rodríguez-Báez 2010; Wolf *et al.* 2003).

Cuadro IX. Cálculo de la repetibilidad con datos de un mismo día, secando una de las muestras y la otra no. Datos de la muestra C de chips de papaya

	Secando la muestra previamente (n=7)	Sin secar la muestra (n=7)
Desviación estándar	0,00459	0,003234
Promedio (g/100 g)	25,84	25,03
Desviación estándar relativa RSD	1,7759	1,2934
RSD calculado	1,225	1,231
HorRat	1,45	1,05

Se determinó la reproducibilidad analizando la muestra C, en cuatro días diferentes con un total de 42 repeticiones por semana durante dos semanas. Se calcula el promedio, la desviación estándar y la razón de HorRat como se observa en el cuadro X. En el cuadro se puede ver que en la segunda semana la reproducibilidad fue aceptable (HorRat entre 0,5-2,0). Además cuando se comparan todos los resultados de ambas semanas, la reproducibilidad no es buena ya que la razón de Horwitz es mayor a 2,0.

Cuadro X. Análisis de la reproducibilidad del método automatizado con la muestra C de chips de papaya a lo largo de 4 días en dos semanas diferentes.

	Semana I (n= 42)	Semana II (n= 42)	Todos los resultados (n=84)
Repeticiones			
Desviación estándar	0,01081	0,00439	0,00880
Promedio (g/100g)	9,56	10,16	9,85
Desviación estándar relativa RSD	11,3079	4,3216	8,9281
RSD calculado	2,844	2,819	2,831
HorRat	3,98	1,53	3,15

De acuerdo con los resultados de los cuadros IX y X, el método tiene una buena repetibilidad (razón de Horwitz entre 0,5 y 2,0), pero una baja reproducibilidad, de acuerdo con las condiciones de análisis usadas ya que el valor del coeficiente HorRat estuvo entre 0,5 y 2,0 únicamente en la segunda semana la reproducibilidad estuvo dentro del rango adecuado. Lo anterior puede haber sido a causa de que en la segunda semana el analista ya había mejorado la destreza en la preparación de las muestras y demás pasos del análisis, lo que posiblemente ayudó a tener una mejor precisión.

Otro aspecto que se observó en los resultados obtenidos fue que, si se comparan los resultados obtenidos en una misma posición del equipo a lo largo del tiempo, su variabilidad es menor en comparación con las diferencias de los resultados comparando una tanda con otra. Si se toman todas las mediciones de las dos semanas de la muestra 3 pero los bloques que se usan para comparar son los seis espacios del equipo, se ve que hay una menor diferencia dentro de cada bloque. En la figura 5 se puede ver cómo en ambas semanas el intervalo de confianza es más pequeño si se agrupan los datos de acuerdo con el espacio. Esto indica que hay menos variabilidad en cada bloque.

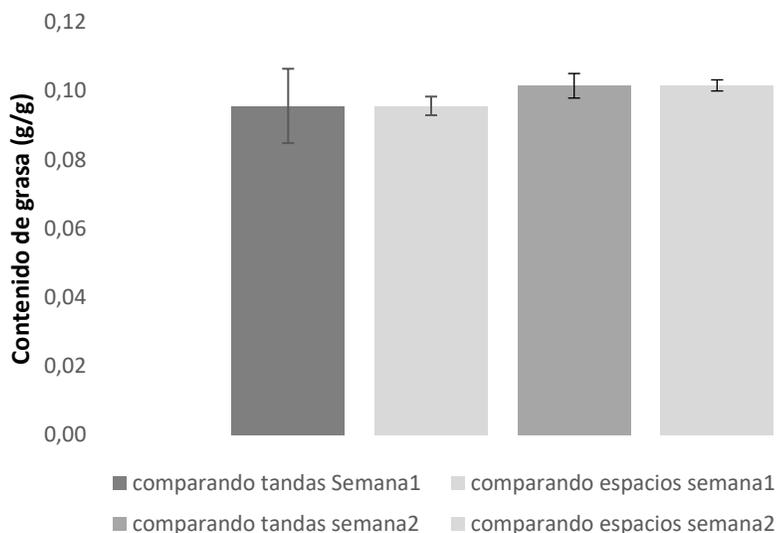


Figura 5. Valores promedio de grasa e intervalos de confianza, tomando en cuenta los distintos espacios del equipo

Lo anterior no tiene ningún efecto en el cálculo de la repetibilidad ni la reproducibilidad ya que esto se calculó usando cada dato individual, sin agruparlos en bloques. Si se calcula el coeficiente HorRat comparando los datos de cada espacio en diferentes días y semanas (Cuadro XI) se puede ver que estos son muy similares a los datos sin agrupar (cuadro X). Esto indica que ninguna de las seis posiciones del equipo da resultados más precisos que los demás.

Cuadro XI. Coeficiente de Horwitz cuando se compara cada posición del equipo automatizado con la muestra C de chips de papaya.

Posición en el equipo	Semana1	Semana 2	Ambas semanas
	HorRat	HorRat	HorRat
1	3,07	1,63	2,55
2	2,54	1,52	2,11
3	4,04	1,83	3,29
4	4,07	1,21	2,90
5	6,10	1,92	4,47
6	3,86	1,03	3,65

5.2.4. Robustez

Para calcular la robustez se compararon los resultados del análisis de grasa del material de referencia usando diferentes condiciones de masa de muestra, volumen de disolvente y tiempo de extracción. Se usaron los resultados obtenidos de la optimización de las condiciones de análisis (objetivo 1). Para hacer esta comparación se usaron las condiciones correspondientes a los puntos axiales del diseño experimental (con valores codificados de -1,682 y 1,682 para cada parámetro). Se usaron estos resultados porque se pensó que estos eran los que iban a dar una mayor diferencia entre sí. Cada par de condiciones se comparó usando el análisis de variancia como se detalla en los cuadros de a continuación.

5.2.4.1 Masa

Se hizo un ANDEVA comparando los resultados con 0,5 g de muestra con los de 1,0 g como se observa en el Cuadro XII, en ambos casos con 75 mL de disolvente y 130 minutos de extracción.

Cuadro XII. Resultados de la determinación de grasa obtenidos en los puntos axiales en los que se variaba la masa de la muestra del material de referencia.

Réplica	Masa de muestra (0,5 g)	Masa de muestra (1,0 g)
	Grasa (g/100 g)	
1	18,59	18,13
2	18,76	18,44
3	18,31	17,78
4	18,60	18,16
5	18,64	18,68
6	18,57	17,92
Promedio	18,58	18,18

Cuadro XIII. Análisis de variancia comparando los resultados de la determinación de grasa en los puntos axiales cambiando la masa de la muestra del material de referencia. Con $\alpha=0,05$.

Origen de variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	Valor P	F crítico ($\alpha=0,05$)
Entre grupos	$4,669 \times 10^{-5}$	1	$4,67 \times 10^{-5}$	7,1462	0,0234	4,9646

Dentro de los grupos	$6,534 \times 10^{-5}$	10	$6,53 \times 10^{-6}$			
Total	$1,120 \times 10^{-4}$	11				

Se puede ver en el cuadro XIII que sí hay diferencias significativas ($p < 0,05$) entre el resultado del análisis de grasa si se cambia la masa de la muestra. Esto significa que no hay que cambiar la masa de la muestra porque de lo contrario puede obtenerse un resultado equivocado. La masa que dio los mejores resultados entre estas dos es la de 0,5 g. La masa con la que se obtuvieron mejores resultados fue de 0,6 g pero con condiciones diferentes de tiempo de extracción y volumen de disolvente. Cuando se usó una mayor masa de muestra es posible que no se lograran extraer todos los lípidos por lo que el porcentaje obtenido fue menor.

5.2.4.2. Volumen

Se hizo un ANDEVA comparando los resultados con 50 mL de disolvente con los de 100mL como se observa en el Cuadro XIV, en ambos casos con 0,75 g de muestra y 130 minutos de extracción.

Cuadro XIV. Resultados de la determinación de grasa del material de referencia obtenidos en los puntos axiales en los que se variaba el volumen de disolvente.

Réplica	Volumen de disolvente (50 mL)	Volumen de disolvente (100 mL)
	Grasa (g/100 g)	
1	19,30	18,35
2	18,40	17,59
3	18,65	17,79
4	18,61	17,88
5	17,35	18,43
6	18,83	18,07
Promedio	18,52	18,02

Cuadro XV. Análisis de variancia comparando los resultados de la determinación de grasa del material de referencia en los puntos axiales cambiando el volumen de disolvente. Con $\alpha = 0,05$

Origen de variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	Valor P	F crítico ($\alpha = 0,05$)
Entre grupos	$7,634 \times 10^{-05}$	1	$7,63 \times 10^{-05}$	2,8751	0,1208	4,9646
Dentro de los grupos	$2,655 \times 10^{-04}$	10	$2,66 \times 10^{-05}$			
Total	$3,418 \times 10^{-04}$	11				

De acuerdo con el cuadro XV, si se cambia el volumen de disolvente no hay cambios en el resultado ya que se logra extraer la misma cantidad de grasa de la muestra. En otras palabras, el método es robusto en cuanto a variaciones del volumen de disolvente.

5.2.4.3 Tiempo de extracción

Se hizo un ANDEVA comparando los resultados con 20 minutos de extracción con los de 240 minutos (4 h) como se observa en el Cuadro XVI, en ambos casos con 75 mL de disolvente y 0,75 g de muestra.

Cuadro XVI. Resultados obtenidos de la determinación de grasa en los puntos axiales en los que se variaba el tiempo de extracción.

	Tiempo de extracción (20 min)	Tiempo de extracción (240 min)
	Grasa (g/100 g)	
1	17,92	17,83
2	17,27	17,96
3	18,19	17,12
4	16,92	17,22
5	20,09	17,19
6	17,40	17,91
Promedio	17,96	17,54

Cuadro XVII. Análisis de variancia comparando los resultados de la determinación de grasa en los puntos axiales con 20 y 240 minutos de extracción. Con $\alpha=0,05$

Origen de variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	Valor P	F crítico ($\alpha=0,05$)
Entre grupos	$5,462 \times 10^{-05}$	1	$5,46 \times 10^{-05}$	0,7533	0,4058	4,9646
Dentro de los grupos	$7,251 \times 10^{-04}$	10	$7,25 \times 10^{-05}$			
Total	$7,797 \times 10^{-04}$	11				

Cuadro XVIII. Análisis de variancia comparando los resultados de la determinación de grasa de un punto axial (240 min) con el punto central (130 min).

Origen de variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	Valor P	F crítico ($\alpha=0,05$)
Entre grupos	$6,355 \times 10^{-04}$	1	$6,36 \times 10^{-04}$	27,4854	0,00001	4,1960
Dentro de los grupos	$6,474 \times 10^{-04}$	28	$2,31 \times 10^{-05}$			
Total	$1,283 \times 10^{-03}$	29				

Cuadro XIX. Análisis de variancia comparando los resultados de la determinación de grasa de un punto axial (20 min) con el punto central (130 min).

Origen de variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	Valor P	F crítico ($\alpha=0,05$)
Entre grupos	$2,516 \times 10^{-04}$	1	$2,52 \times 10^{-04}$	5,8064	0,0228	4,1960
Dentro de los grupos	$1,213 \times 10^{-03}$	28	$4,33 \times 10^{-05}$			
Total	$1,465 \times 10^{-03}$	29				

Como se puede ver en el cuadro XVII, no se hallaron diferencias significativas en la cantidad de lípidos que se extrajo durante 20 min o 240 min. De aquí se podría pensar que el tiempo no tiene efectos en la cantidad extraída. Sin embargo, cuando se compararon estos valores con el punto central, sí se encontraron diferencias (cuadros XVIII y XIX). Esto indica que el efecto del tiempo de extracción no es lineal y probablemente sea cuadrático, lo cual coincide con lo obtenido en el modelo de optimización (cuadros V y VI).

De acuerdo con todo lo anterior, no vale la pena extraer durante cuatro horas ya que se obtiene el mismo resultado que si solamente se extrae durante 20 minutos. Igualmente sería recomendable hacer más experimentos para comprobar si este resultado se mantiene; y no apresurarse a sacar conclusiones. Esto porque como se ha mencionado varias veces, hubo una gran variabilidad entre los distintos resultados y no se pudo hacer un modelo representativo.

5.2.5. Efecto del secado de la muestra

Una de las razones por las cuales existieron algunos errores en las determinaciones de grasa, es que por error no se midió la humedad ni se deshidrataron las muestras antes de hacer la extracción con disolvente. Por esta razón, se hizo una comparación del resultado del porcentaje de grasa en una misma muestra, secando unas muestras y poniendo a extraer directamente las otras sin secar previamente. Los resultados se pueden ver en el cuadro XX. Se compararon los resultados usando el análisis de variancia que se encuentra en el cuadro XXI.

Cuadro XX. Resultados obtenidos de la determinación de grasa. Secando y sin secar la muestra D de chips de papaya.

Réplica	Secando (% en base húmeda)	Sin secar
	Grasa (g/100 g)	
1	25,06	24,96
2	25,68	25,12
3	25,97	24,96
4	25,93	24,82
5	25,92	24,72
6	26,46	25,63
Promedio	25,84	25,03

Cuadro XXI. Cálculos del análisis de varianza con los datos del cuadro XX. Con $\alpha=0,05$

Origen de variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	Valor P	F crítico ($\alpha=0,05$)
Entre grupos	$1,938 \times 10^{-4}$	1	$1,94 \times 10^{-4}$	12,2923	0,0057	4,9646
Dentro de los grupos	$1,577 \times 10^{-4}$	10	$1,58 \times 10^{-5}$			
Total	$3,515 \times 10^{-4}$	11				

Como se puede ver en el cuadro XXI, sí hay diferencias significativas entre ambos grupos de datos ($p < 0.05$). Esto confirma que sí fue un error no haber hecho el secado previo a la extracción ya que esto sí tiene un efecto en el resultado. Esta diferencia puede explicarse analizando que las muestras en polvo absorben la humedad del aire. Esa agua luego es pesada como si fuera parte del sustrato de la muestra, lo que causa que una misma cantidad de grasa represente un porcentaje menor de lo pesado. No todas las muestras estuvieron en contacto con el aire por la misma cantidad de tiempo y la humedad del aire es muy variable. Por lo anterior, se puede ver que no tomar en cuenta este factor provoca una mayor variabilidad en los resultados de este análisis.

Al observar los cuadros XX y XXI se puede ver como el resultado obtenido en una misma muestra y con las mismas condiciones es significativamente diferente si una de las dos se seca previamente y la otra no. En las notas de aplicación del equipo dice que, si la muestra tiene un porcentaje de agua menor a 10%, no es necesario secarla antes del análisis de grasa. De acuerdo con esto no habría habido que secar ninguna de las muestras por tener

una baja humedad, pero como se puede ver en los resultados, sí hubo un efecto de no hacerlo. Es recomendable hacerlo para eliminar el efecto de diferencias en el manejo.

5.2.6. Incertidumbre

Se tomó en cuenta diferentes factores que contribuyen a la incertidumbre de una medición. En el caso de los métodos gravimétricos, como la determinación de grasa, los únicos factores que contribuyen a la incertidumbre son los asociados a la medición de la masa. En otras palabras, la incertidumbre de la balanza analítica, que se puede obtener del certificado de calibración (Ver Anexo 8). Además de la incertidumbre asociada a la repetibilidad y reproducibilidad de las mediciones.

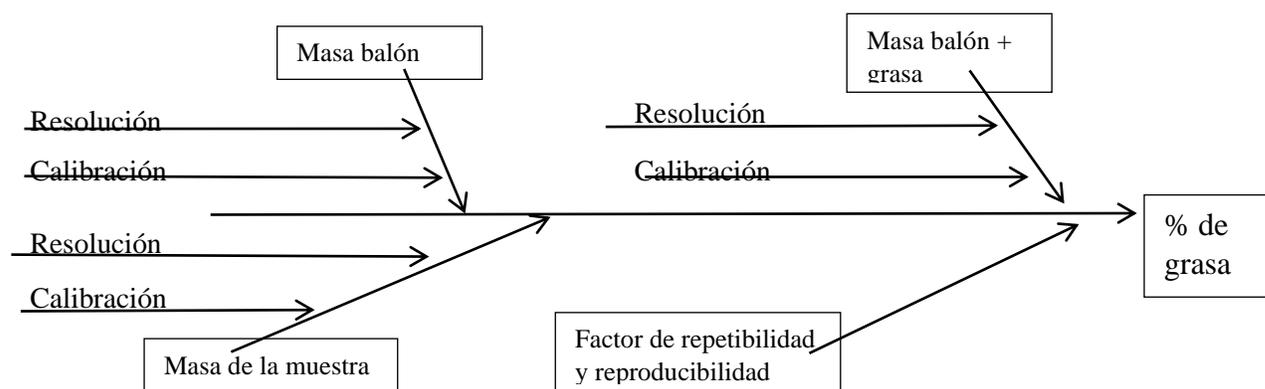


Figura 6. Diagrama de cola de pez con los factores que contribuyen a la incertidumbre del método de análisis de grasa.

Para calcular la incertidumbre, usando todos los factores que están en el diagrama de la figura 6, se calcula con la siguiente ecuación

$$\frac{u_{total}}{\%grasa} = \sqrt{\left(\frac{u_{m.muestra}}{m_{muestra}}\right)^2 + \left(\frac{u_{m.balón}}{m_{balón}}\right)^2 + \left(\frac{u_{m.balón+grasa}}{m_{balón+grasa}}\right)^2 + \left(\frac{u_{rep}}{\%grasa}\right)^2} \quad (\text{Ecuación 6})$$

La incertidumbre de cada valor de masa es

$$u_m = \sqrt{u_{linealidad}^2 + u_{repetibilidad}^2} = \sqrt{0,00017^2 + 0,00048^2} = 0,00018$$

Y la incertidumbre de la repetibilidad es

$$u_{rep} = \frac{\text{desviación estándar}}{\sqrt{n}} = \frac{0,3839}{\sqrt{6}} = 0,1567$$

Sustituyendo en la ecuación de arriba, queda así:

$$\frac{u_{total}}{10,15\%} = \sqrt{\left(\frac{0,00018 \text{ g}}{0,6013 \text{ g}}\right)^2 + \left(\frac{0,00018 \text{ g}}{45,0453 \text{ g}}\right)^2 + \left(\frac{0,00018 \text{ g}}{45,1103 \text{ g}}\right)^2 + \left(\frac{0,1567}{10,15}\right)^2} = 0,0154$$

$$u_{total} = 10,15 \times 0,0154 = 0,157$$

Entonces con un $k=2$ y 95% de confianza queda una incertidumbre de:

$$U = 0,157 \times 2 = 0,31$$

Entonces la incertidumbre quedaría $10,15 \pm 0,31$ o, generalizando la incertidumbre representa un 3% del valor del mesurando. Esto significa que el valor real del porcentaje de grasa está un tres por ciento arriba o abajo del valor obtenido.

5.3. Objetivo 3: *Comparar la eficiencia del método automatizado en relación con el método oficial, tomando en cuenta consumo de disolvente, energía y tiempo de análisis.*

5.3.1. Tiempo de análisis

La principal diferencia en cuanto a la eficiencia de los dos métodos es que el equipo automatizado pasa mucho menos tiempo en operación que el método de Soxhlet. En el equipo Soxhlet el periodo de extracción se extiende por ocho horas. En el método automatizado se puede variar el tiempo del análisis. En este proyecto solamente se cambió el tiempo de extracción. Las demás etapas tardan 31 minutos, por lo que el tiempo total de análisis de las repeticiones de la superficie de respuesta va de 51 min a 271 min. Esto es una ventaja muy grande porque aun usando el tiempo máximo el análisis toma la mitad del tiempo. Eso permite que se haga un mayor número de análisis en un mismo día. Además, de que si el equipo pasa menos tiempo encendido se usará menos agua y también menos energía. Estos dos factores se analizan en más detalle a continuación.

Otra ventaja de un menor tiempo de análisis es que se aprovecha mejor el recurso humano. Cuando cualquiera de los dos equipos está en extracción, los analistas pueden dedicarse a otras labores. Para comparar los dos métodos de análisis hay que tomar en

consideración el tiempo empleado en la preparación de las muestras y en el pesado de los lípidos extraídos al final. Además de la recuperación del disolvente. La mayor diferencia que se encontró en cuanto a tiempo de analista es en la recuperación del disolvente al final del proceso. En el caso del Soxtec la recuperación la hace el equipo automáticamente, mientras que en el método de Soxhlet es necesario hacerlo manualmente y hacer un paso adicional, que es el secado en el rotavapor. La preparación de la muestra y el equipo toma el mismo tiempo para ambos métodos (Quirós & Calderón, 2019).

5.3.2. Consumo de energía

Para medir el consumo eléctrico se usó un multímetro para medir la intensidad de corriente eléctrica (amperaje) usada por el equipo durante el análisis. En el equipo automatizado este valor osciló entre 0 y 10 A. Este valor cambia mucho porque el equipo tiene varias resistencias eléctricas que encienden y apagan para mantener una temperatura constante. Se calculó un promedio de los valores de amperaje en las diferentes etapas.

Cuadro XXII. Amperaje del equipo automatizado en las diferentes etapas del proceso

Etapa del análisis	Intensidad de corriente (A)	Voltaje (V)	Potencia (W)	Tiempo (min)
Enjuague o remojo	4,4	115	506	5 (inicio) y 20 enjuague
Extracción	3,1	115	356	Entre 20 y 240
Recuperación de disolvente	2,2	115	253	10 y 1 de secado

Midiendo el consumo en el Soxhlet tradicional se determinó el amperaje cuando había tres muestras conectadas al mismo tiempo. La medición no osciló tanto como la del equipo automatizado y claramente se podía ver cómo cada una de las tres resistencias consumía 1,9 A mientras estaba encendida. Las resistencias se encienden cuando la temperatura baja y se vuelven a apagar cuando ésta sube, de forma que la temperatura permanece en un rango apropiado para la ebullición del éter de petróleo. Se midió qué porcentaje del tiempo estaba encendida cada resistencia y se calculó un promedio de la

corriente. Ese promedio fue de 0,95 A que con 115 V representa una potencia eléctrica de 108 W. Este valor es con tres muestras. Para compararlo mejor con el método automatizado se puede multiplicar por dos para tener un valor estimado aproximado de 216 W si se colocasen seis muestras.

El equipo de Soxhlet se mantiene encendido 8 horas consumiendo 216 W, lo que da en total $6,22 \times 10^6$ J o 1,7 kWh. El equipo automatizado consume diferentes cantidades dependiendo de la etapa (cuadro XXII). Como la duración del inicio, el enjuague, el secado y la recuperación de disolvente no cambian, el consumo de estas partes se puede considerar como una constante. Se puede definir el consumo total del equipo como una ecuación de la forma $y = mx+b$ con ese valor como la constante b. La pendiente (m) es la potencia eléctrica en la etapa de la extracción que es la que tiene una duración variable (x)

Consumo eléctrico en el arranque, el enjuague, el secado y la recuperación de disolvente:

$$(25 \text{ min} \times \frac{60 \text{ s}}{\text{min}} \times 506 \frac{\text{J}}{\text{s}}) + (11 \text{ min} \times \frac{60 \text{ s}}{\text{min}} \times 253 \frac{\text{J}}{\text{s}}) = 9,26 \times 10^5 \text{ J}$$

Con lo cual queda la ecuación:

$$\text{Consumo} = 356,5 \frac{\text{J}}{\text{s}} \times T_{\text{extracción}} + 9,26 \times 10^5 \text{ J}$$

Entonces si se extrae por 64 minutos el consumo será

$$\text{Consumo} = 356,5 \frac{\text{J}}{\text{s}} \times 60 \frac{\text{s}}{\text{min}} \times 64 \text{ min} + 9,26 \times 10^5 \text{ J} = 2,29 \times 10^6 \text{ J}$$

El consumo total del Soxhlet tradicional durante 8 horas es de

$$8 \text{ h} \times 3600 \frac{\text{s}}{\text{h}} \times 216 \frac{\text{J}}{\text{s}} = 6,22 \times 10^6 \text{ J}$$

Para calcular el tiempo de extracción necesario para que el consumo total de electricidad del equipo automatizado sea igual a ocho horas de Soxlet se iguala a ese consumo y se despeja T

$$T_{\text{extracción}} = \frac{6,22 \times 10^6 \text{ J} - 9,26 \times 10^5 \text{ J}}{356,5 \frac{\text{J}}{\text{s}}} = 14852 \text{ s} = 248 \text{ min} = 4 \text{ h } 8 \text{ min}$$

Esto significa que el equipo automatizado consume menos si se usa un tiempo de extracción menor a 4 horas.

5.3.3. Consumo de agua

Para medir el agua se colocó un medidor del flujo de agua en la entrada del equipo. Este valor oscilaba mucho por lo que para poder hacer cálculos se sacó un promedio de los valores intermedios de cada rango. Usar ese valor supone que el flujo variaba a una velocidad constante durante todo el proceso. Esto no fue así, sino que algunas veces aumentaba rápidamente e iba disminuyendo lentamente, otras veces permanecía constante en un valor y luego bajaba o subía y se mantenía constante en el nuevo valor. También es posible que haya diferencias en el consumo de agua comparando las distintas etapas de un mismo análisis. Pese a lo anterior, se considera que este promedio es una buena aproximación al verdadero valor del agua consumida para el análisis de grasa.

Cuadro XXIII. Valores de flujo del agua de refrigeración en el método automatizado.

Límite bajo (mL/s)	Límite alto (mL/s)	Punto medio (mL/s)
24	30	27
17	25	21
25	27	26
24	36	30
27	32	29,5
38	40	39
32	37	34,5
18	20	19
	Promedio general	28,25

En cuanto al consumo de agua, se puede decir que el consumo de ambos métodos estudiados es muy similar durante un mismo tiempo. Esto significa que el método automatizado, al hacer el análisis más rápidamente, consume menos agua.

5.3.4. Recuperación de disolvente

El equipo automatizado tiene una etapa de recuperación del disolvente en la que el disolvente condensado no vuelve a caer en la muestra ni el frasco donde está el extracto, sino que se recoge en otro recipiente. Se recuperó el $76 \pm 2\%$ del disolvente usado con el Soxtec, en las cinco mediciones que se hicieron.

Para recuperar el disolvente en el método de Soxhlet es necesario hacer pasos adicionales. Luego de terminar la extracción se coloca el balón con el disolvente en un

evaporador rotatorio hasta que se seque, y se recoge el disolvente en recipiente recolector. Otra opción más rápida es esperar a que esté a punto de completarse un ciclo y en ese momento quitar el balón y poner otro recipiente para recoger el disolvente. Si se hace esto hasta que el extracto quede con muy poco disolvente la etapa de secado en el rotavapor será más corta. Este dato sólo se midió una vez y se recuperó un 66,6% del disolvente utilizado. Sin embargo, ese valor podría ser más alto ya que debido a la falta de tiempo no se usó el evaporador rotatorio, sino que se pusieron los balones en la estufa hasta el día siguiente, lo que significa que se perdió una pequeña cantidad de disolvente que se hubiera podido recuperar en el rotavapor. Además, haría falta tener más repeticiones para tener más confianza en el resultado. También hay que tomar en cuenta que esta recuperación no se hace de manera automática, lo que significa que se necesita que un analista se encargue de esto. En otras palabras, se requiere de más mano de obra para recuperar el disolvente en el método tradicional.

Tomando en cuenta los resultados obtenidos, se puede decir que el método automatizado consume menos disolvente que el método tradicional. El porcentaje de disolvente recuperado es un poco más pequeño en el caso del Soxhlet y también se usa más cantidad total de disolvente. En el equipo automatizado se usan entre 60 y 100 mL de disolvente por cada muestra, mientras que en el tradicional se usaron aproximadamente 110 mL por cada muestra.

6. Conclusiones

- El diseño experimental para la optimización de las variables de extracción de grasa presentó un modelo que no tuvo un buen ajuste, por lo que no se pudo calcular un punto óptimo de variables, pero aun así los valores obtenidos presentan sesgos relativos que van desde el 2,46- 10,96, por lo que se escoge las condiciones con menor sesgo.
- La veracidad del método automatizado es buena ya que las recuperaciones obtenidas con el material de referencia fueron mayores al 90%.
- Los resultados obtenidos por el método automatizado son equivalentes a los obtenidos por el método oficial para el caso de *snacks* en el rango de (10-25) g/100g de grasa.
- Con el método automatizado se obtuvo un parámetro de repetibilidad aceptable (HorRat entre 0,5-2,0), sin embargo, la reproducibilidad tuvo mayor coeficiente de HorRat, producto de la estabilidad del material utilizado frente a la humedad.
- Variando las diferentes condiciones de tiempo de extracción, volumen de disolvente y masa de la muestra se encontró una baja robustez, lo que indica que los cambios en las condiciones de análisis sí tuvieron un efecto en el valor del contenido de grasa.
- Uno de los parámetros en los que el método automatizado es más eficiente corresponde al tiempo de análisis ya que éste se reduce de ocho horas a cuatro horas aproximadamente.
- El equipo automático consume más electricidad en un mismo tiempo, comparado con el Soxhlet., sin embargo, al ser el tiempo de análisis menor en el automático, éste consumirá menos si su tiempo de extracción es menor a cuatro horas.
- En el equipo automatizado se recupera una mayor proporción del disolvente usado, además, no se necesitan pasos extra para hacerlo, por lo que representa una ventaja en inversión de recurso humano.

7. Recomendaciones

- Repetir la optimización de las condiciones de análisis para encontrar un punto óptimo, utilizando un material de referencia que no requiera etapa de hidrólisis.
- Secar siempre las muestras antes del análisis de grasa.
- Siempre hacer pasos previos en la preparación de las muestras, por ejemplo, hidrolizar aquellas que son de trigo.
- Ampliar estudio del ámbito de trabajo, incrementando el número de experimentos con diferentes contenidos de grasa para tener certeza del campo de aplicación.

8. Bibliografía

AOAC 2005 Official methods of analysis 18a ed. Method 920.85. Maryland, Association of Official Analytical Chemists.

- Badui Dergal, Salvador. 2006. *Química de los alimentos*. 4th ed. México: Pearson Educación.
- Brenes, Mariana. 2017. "Evaluación Sobre Efecto Del Grado de Madurez Y Las Condiciones de Proceso Para La Obtención de Un Snack de Papaya (Carica Papaya L.) Híbrido Pococí Mediante Fritura Al Vacío." Universidad de Costa Rica.
- Calderón Jiménez, Bryan. 2013. "Estimación de La Incertidumbre En Mediciones Químicas: Un Ejemplo Práctico Y Simple." *Revista Ingeniería-UCR* 23 (1): 123–35. <https://doi.org/10.15517/ring.v23i1.8188>.
- Clark, James H., and Stewart J. Tavener. 2007. "Alternative Solvents: Shades of Green." *Organic Process Research & Development* 11 (1): 149–55. <https://doi.org/10.1021/op060160g>.
- Fereidoon, Shahidi, and P.K.J.P.D Wanasundara. 2008. "Extraction and Analysis of Lipids." In *Food Lipids*. Food Science and Technology. CRC Press.
- FOSS Analytical. 2005. "Soxtec Brochure: A Soxtec for Every Need." [http://iris.fishersci.ca/LitRepo.nsf/0/A61CC8143B181D478525763100539056/\\$file/Soxtec%20Brochure.pdf](http://iris.fishersci.ca/LitRepo.nsf/0/A61CC8143B181D478525763100539056/$file/Soxtec%20Brochure.pdf).
- Horwitz, William. 1982. "Evaluation of Analytical Methods Used for Regulation of Foods and Drugs." *Analytical Chemistry* 54 (1): 67–76. <https://doi.org/10.1021/ac00238a002>.
- Huber, Ludwig. 2010. *Validation of Analytical Methods*. Agilent Technologies.
- Kutner, Michael, Christopher J. Nachtsheim, John Neter, and William Li. 2005. *Applied Linear Statistical Models*. 5th ed. McGraw-Hill/Irwin.
- Luque de Castro, M. D., and L. E. García-Ayuso. 1998. "Soxhlet Extraction of Solid Materials: An Outdated Technique with a Promising Innovative Future." *Analytica Chimica Acta* 369: 1–10.
- Luque de Castro, M. D., and F. Priego-Capote. 2010. "Soxhlet Extraction: Past and Present Panacea." *Journal of Chromatography A* 1217: 2383–89.
- Luque-García, J. L., J. Velasco, M. C. Dobarganes, and M. D. Luque de Castro. 2002. "Fast Quality Monitoring of Oil from Prefried and Fried Foods by Focused Microwave-Assisted Soxhlet Extraction." *Food Chemistry* 76: 241–48.

- Martínez, José Alfredo, María Jesús Moreno-Aliaga, Iva Marques-Lopes, and Amelia Martí. 2002. "Causas de Obesidad." *Anales Del Sistema Sanitario de Navarra* 25 (Supl. 1): 17–27.
- Min, David B., and Wayne C. Ellefson. 2010. "Fat Analysis." In *Food Analysis*, 117–32. Boston, MA: Springer US.
- Ministerio de Educación, and Ministerio de Salud. 2012. *Reglamento Para El Funcionamiento Y Administración Del Servicio de Soda En Los Centros Educativos Públicos. Decreto Ejecutivo 36910*.
- Murillo Ramírez, Silvia. 2003. "Validación Del Método Para Determinación de Humedad Por Termobalanza En Leche En Polvo, Arroz Tostado Y Galletas María." Universidad de Costa Rica.
- Pérez Grana, R. 2014. "Validación in-house y determinación de grasa por gravimetría en conservas de raciones de combate del Ejército de Tierra." *Sanidad Militar* 70: 88–94.
- Rivera-Orozco, Carlos, and María del Rosario Rodríguez-Báez. 2010. "Uso de La Ecuación de Horwitz En Laboratorios de Ensayos NMX-EC-17025-IMNC-2006." *Centro Nacional de Metrología*, no. México.
- Quirós, Silvia y Calderón, Eduardo. 2019. Comunicación personal. Laboratorio de Química del CITA, UCR.
- Taylor, Barry N., and Chris E. Kuyatt. 1994. "Guidelines for Evaluating and Expressing the Uncertainty of NIST Measurements Results." *NIST Technical Note* 1297.
- Thomson, Michael, Stephen L. R. Ellison, and Roger Wood. 2002. "Harmonized Guidelines for Single-Laboratory Validation of Methods of Analysis (IUPAC Technical Report)." *Pure Applied Chemistry* 74 (5): 835–55.
- Virost, Matthieu, Valérie Tomao, Christian Ginies, Franco Visinoni, and Farid Chemat. 2008. "Green Procedure with a Green Solvent for Fats and Oils Determination: Microwave-Integrated Soxhlet Using Limonene Followed by Microwave Clevenger Distillation." *Journal of Chromatography A* 1196–1197: 147–52.
- Wolf, Wayne R., Denis E. LaCroix, Ritu Goel, and Manpreet Kaur. 2003. "Total Fat Analysis in Milk- and Soy-Based Infant Formula Powder by Supercritical Fluid Extraction." *Journal of American Oil Chemists' Society* 80 (9): 853–57.

Zarpon, Jaqueline, Luciano Molognoni, Andressa C. Valesse, Deise H. B. Ribeiro, and Heitor Daguer. 2016. "Validation of an Automated Method for the Analysis of Fat Content of Dulce de Leche." *Journal of Food Composition and Analysis* 48: 1–7.

9. Anexos

Anexo 1. Ficha técnica del material referencia utilizado



Fera
Sand Hutton
York, YO41 1LZ
Tel: +44 (0)1904 462100 Fax: +44 (0)1904 500440
info@fapas.com www.fapas.com

FAPAS QC MATERIAL DATA SHEET	T2475QC
Matrix	Biscuit (Cookie)
Weight / Volume of Contents	150 g

Analyte	Assigned Value, x_d	Range for $ z \leq 2$	Units	No. of data points producing x_d
Moisture @ 105°C	3.34	2.50 – 4.17	g/100g	57
Moisture @ 130°C	3.67	2.75 – 4.59	g/100g	14
Ash	1.44	1.33 – 1.55	g/100g	64
Total Fat	19.94	19.04 – 20.83	g/100g	48
Nitrogen	1.09	1.01 – 1.18	g/100g	60
Total Dietary Fibre by AOAC	4.32	3.15 – 5.50	g/100g	47

This data sheet is applicable until	03 Dec 2018
Recommended Storage on receipt	Ambient

Notes
<ul style="list-style-type: none"> • Mix the QC material thoroughly before taking a representative analytical sample. • The assigned value has been derived from the consensus of laboratories taking part in proficiency test, using a variety of methods. This is not a certified reference value. • The Range for $z \leq 2$ is the concentration range within the limits of ± 2 z-scores. The assigned value and its range have been established from the proficiency test data and are suitable for use by laboratories as a fit-for-purpose quality control measure. • Stability of the QC material has been established as sufficient for the scope of the proficiency test from previous experience, expert advice and published literature. FAPAS advises that the QC material is analysed within the recommended date. FAPAS QC materials are intended to be used as single-analysis samples. • Full details on the proficiency test procedure used to characterise this QC material are available in the Protocol, Part 1 - Common Principles, freely available to download from the FAPAS website. • You may use any method of analysis you wish.

Anexo 2. Resultados para el objetivo 1

Cuadro A1. Resultados con 0,6013 g de muestra, 60 mL de disolvente y 64 minutos de extracción.

Muestra	Cápsula vacía (+- 0,0001g)	Cápsula+muestra (+- 0,0001g)	masa de muestra (+- 0,0001g)	Frasco+extra			Porcentaje de grasa
				Frasco vacío (+-0,0001g)	cto (+- 0,0001g)	masa de grasa (g)	
1	6,8503	7,4451	0,5948	46,2191	46,3229	0,1038	17,45%
2	7,8490	8,4575	0,6085	45,9094	46,0182	0,1088	17,88%
3	6,8591	7,4525	0,5934	46,3560	46,4531	0,0971	16,36%
4	6,8504	7,4432	0,5928	43,8203	43,9256	0,1053	17,76%
5	11,3572	11,9577	0,6005	45,9118	46,0180	0,1062	17,69%
6	6,7577	7,3528	0,5951	42,9303	43,0384	0,1081	18,17%
			0,5975			0,1049	17,55%

Cuadro A2. Resultados con 0,8987 g de muestra, 60 mL de disolvente y 64 minutos de extracción.

Muestra	Cápsula vacía (+- 0,0001g)	Cápsula+muestra (+- 0,0001g)	masa de muestra (+- 0,0001g)	Frasco+extra			Porcentaje de grasa
				Frasco vacío (+-0,0001g)	cto (+- 0,0001g)	masa de grasa (g)	
1	6,8754	7,7704	0,8950	45,9168	46,0812	0,1644	18,37%
2	11,5402	12,4419	0,9017	43,8293	43,9914	0,1621	17,98%
3	11,5008	12,3993	0,8985	45,0025	45,1688	0,1663	18,51%
4	6,8104	7,7184	0,9080	45,0199	45,1821	0,1622	17,86%
5	6,8521	7,7504	0,8983	44,7457	44,9118	0,1661	18,49%
6	6,6318	7,5311	0,8993	43,6544	43,8181	0,1637	18,20%
			0,9001			0,1641	18,24%

Cuadro A3. Resultados con 0,6013 g de muestra, 90 mL de disolvente y 64 minutos de extracción.

Muestra	Cápsula vacía (+- 0,0001g)	Cápsula+muestra (+- 0,0001g)	masa de muestra (+- 0,0001g)	Frasco+extra			Porcentaje de grasa
				Frasco vacío (+-0,0001g)	cto (+- 0,0001g)	masa de grasa (g)	
1	13,3475	13,9385	0,5910	46,0670	46,1822	0,1152	19,49%
2	8,1840	8,7849	0,6009	44,9687	45,0902	0,1215	20,22%
3	11,7141	12,3121	0,5980	45,8116	45,9286	0,1170	19,57%
4	10,7039	11,3058	0,6019	45,5830	45,6990	0,1160	19,27%
5	6,7696	7,3768	0,6072	45,6846	45,8028	0,1182	19,47%
6	8,7237	9,3214	0,5977	46,3421	46,4552	0,1131	18,92%
			0,5995			0,1168	19,49%

Cuadro A4. Resultados con 0,6013 g de muestra, 60 mL de disolvente y 195 minutos de extracción.

Muestra	Cápsula vacía (+- 0,0001g)	Cápsula+muestra (+- 0,0001g)	masa de muestra (+- 0,0001g)	Frasco+extra			Porcentaje de grasa
				Frasco vacío (+-0,0001g)	cto (+- 0,0001g)	masa de grasa (g)	
1	7,1076	7,7061	0,5985	44,0484	44,1745	0,1261	21,07%
2	11,0888	11,6914	0,6026	43,5252	43,6366	0,1114	18,49%
3	11,8157	12,4385	0,6228	43,5041	43,6198	0,1157	18,58%
4	12,6995	13,3032	0,6037	46,1356	46,2443	0,1087	18,01%
5	10,9191	11,5213	0,6022	42,6139	42,7300	0,1161	19,28%
6	11,8669	12,465	0,5981	45,4757	45,5892	0,1135	18,98%
			0,6047			0,1153	19,07%

Cuadro A5. Resultados con 0,8987 g de muestra, 90 mL de disolvente y 64 minutos de extracción.

Muestra	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Frasco vacío (+-0,0001g)	Frasco+extracto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	Porcentaje de grasa
1	7,0378	7,9349	0,8971	45,6886	45,8498	0,1612	17,97%
2	8,6671	9,5643	0,8972	45,9062	46,0675	0,1613	17,98%
3	11,6219	12,5069	0,8850	45,8562	46,0197	0,1635	18,47%
4	11,4982	12,3854	0,8872	43,8173	43,9805	0,1632	18,39%
5	7,0735	7,9648	0,8913	45,4004	45,5618	0,1614	18,11%
6	6,7904	7,7035	0,9131	45,8176	45,9870	0,1694	18,55%
			0,8952			0,1633	18,25%

Cuadro A6. Resultados con 0,8987 g de muestra, 60 mL de disolvente y 195 minutos de extracción.

Muestra	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Frasco vacío (+-0,0001g)	Frasco+extracto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	Porcentaje de grasa
1	6,8280	7,7235	0,8955	45,4384	45,6073	0,1689	18,86%
2	11,5704	12,4687	0,8983	45,6783	45,8491	0,1708	19,01%
3	6,8692	7,7747	0,9055	46,3356	46,5079	0,1723	19,03%
4	6,6168	7,5119	0,8951	46,0177	46,1886	0,1709	19,09%
5	6,8535	7,7626	0,9091	45,7886	45,9627	0,1741	19,15%
6	11,5274	12,4232	0,8958	45,2096	45,3797	0,1701	18,99%
			0,8999			0,1712	19,02%

Cuadro A7. Resultados con 0,6013 g de muestra, 90 mL de disolvente y 195 minutos de extracción.

Muestra	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Frasco vacío (+-0,0001g)	Frasco+extracto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	Porcentaje de grasa
1	6,8249	7,4234	0,5985	45,8519	45,9635	0,1116	18,65%
2	7,7377	8,3419	0,6042	45,5236	45,6387	0,1151	19,05%
3	12,5036	13,1038	0,6002	43,8203	43,9375	0,1172	19,53%
4	10,8823	11,4837	0,6014	46,1349	46,2455	0,1106	18,39%
5	6,8484	7,4540	0,6056	44,6273	44,7461	0,1188	19,62%
6	6,7858	7,3881	0,6023	44,9812	45,0967	0,1155	19,18%
			0,6020			0,1148	19,07%

Cuadro A8. Resultados con 0,8987 g de muestra, 60 mL de disolvente y 195 minutos de extracción.

Muestra	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Frasco vacío (+-0,0001g)	Frasco+extracto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	Porcentaje de grasa
1	11,6818	12,5739	0,8921	44,0310	44,1949	0,1639	18,37%
2	13,2956	14,1926	0,8970	45,9048	46,0718	0,1670	18,62%
3	10,7225	11,6245	0,9020	45,8054	45,9771	0,1717	19,04%
4	8,7178	9,6117	0,8939	44,7495	44,9173	0,1678	18,77%
5	6,7938	7,6978	0,9040	45,7348	45,9014	0,1666	18,43%
6	8,1638	9,0760	0,9122	43,8172	43,9875	0,1703	18,67%
			0,9002			0,1679	18,65%

Cuadro A9. Resultados con 1 g de muestra, 75 mL de disolvente y 130 minutos de extracción.

Muestra	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Frasco vacío (+-0,0001g)	Frasco+extracto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	Porcentaje de grasa
1	11,5483	12,5335	0,9852	44,9792	45,1623	0,1831	18,59%
2	8,6328	9,6439	1,0111	44,7539	44,9436	0,1897	18,76%
3	11,5901	12,5463	0,9562	44,6306	44,8057	0,1751	18,31%
4	11,5875	12,5911	1,0036	46,1352	46,3219	0,1867	18,60%
5	12,5789	13,6481	1,0692	44,0318	44,2311	0,1993	18,64%
6	9,6528	10,6994	1,0466	45,7154	45,9098	0,1944	18,57%
			1,0120			0,1881	18,58%

Cuadro A10. Resultados con 0,5 g de muestra, 75 mL de disolvente y 130 minutos de extracción.

Muestra	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Frasco vacío (+-0,0001g)	Frasco+extracto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	Porcentaje de grasa
1	6,7414	7,2477	0,5063	42,9475	43,0393	0,0918	18,13%
2	6,8496	7,3534	0,5038	44,0374	44,1303	0,0929	18,44%
3	6,8509	7,3465	0,4956	45,6166	45,7047	0,0881	17,78%
4	7,8525	8,3491	0,4966	45,4053	45,4955	0,0902	18,16%
5	6,8503	7,3606	0,5103	45,4404	45,5357	0,0953	18,68%
6	11,3447	11,8480	0,5033	45,7183	45,8085	0,0902	17,92%
						0,0914	18,18%
						0,5026	

Cuadro A11. Resultados con 0,75 g de muestra, 100 mL de disolvente y 130 minutos de extracción.

Muestra	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Frasco vacío (+-0,0001g)	Frasco+extracto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	Porcentaje de grasa
1	6,8625	7,6107	0,7482	44,8393	44,9766	0,1373	18,35%
2	6,8539	7,6044	0,7505	45,8133	45,9453	0,1320	17,59%
3	7,8585	8,6099	0,7514	45,6919	45,8256	0,1337	17,79%
4	6,7455	7,4966	0,7511	43,6577	43,7920	0,1343	17,88%
5	11,3108	12,0619	0,7511	45,0020	45,1404	0,1384	18,43%
6	6,8791	7,6129	0,7338	44,6265	44,7591	0,1326	18,07%
						0,1347	18,02%
						0,7477	

Cuadro A12. Resultados con 0,75 g de muestra, 50 mL de disolvente y 130 minutos de extracción.

Muestra	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Frasco vacío (+-0,0001g)	Frasco+extracto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	Porcentaje de grasa
1	6,8333	7,5893	0,7560	46,2261	46,3720	0,1459	19,30%
2	12,4957	13,1322	0,6365	46,0645	46,1816	0,1171	18,40%
3	10,8910	11,6399	0,7489	45,6815	45,8212	0,1397	18,65%
4	11,0152	11,7831	0,7679	46,1780	46,3209	0,1429	18,61%
5	6,8064	7,6498	0,8434	45,7865	45,9328	0,1463	17,35%
6	9,3987	10,1406	0,7419	45,2065	45,3462	0,1397	18,83%
						0,1386	18,52%
						0,7491	

Cuadro A13. Resultados con 0,75 g de muestra, 75 mL de disolvente y 240 minutos de extracción.

Muestra	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Frasco vacío (+-0,0001g)	Frasco+extracto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	Porcentaje de grasa
1	7,6823	8,4483	0,7660	44,6278	44,7644	0,1366	17,83%
2	6,9793	7,7189	0,7396	44,7550	44,8878	0,1328	17,96%
3	7,1067	7,8525	0,7458	45,8610	45,9887	0,1277	17,12%
4	12,5455	13,3169	0,7714	43,8173	43,9501	0,1328	17,22%
5	10,8900	11,6761	0,7861	45,6276	45,7627	0,1351	17,19%
6	7,0445	7,7856	0,7411	45,7201	45,8528	0,1327	17,91%
						0,1330	17,54%
						0,7583	

Cuadro A14. Resultados con 0,75 g de muestra, 75 mL de disolvente y 20 minutos de extracción.

Muestra	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Frasco vacío (+-0,0001g)	Frasco+extracto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	Porcentaje de grasa
1	6,6171	7,3621	0,7450	45,4786	45,6121	0,1335	17,92%
2	6,8594	7,6064	0,7470	45,5444	45,6734	0,1290	17,27%
3	6,8223	7,5718	0,7495	45,8021	45,9384	0,1363	18,19%
4	11,5163	12,2627	0,7464	46,1461	46,2724	0,1263	16,92%
5	6,8036	7,5568	0,7532	45,9041	46,0554	0,1513	20,09%
6	11,5674	12,3308	0,7634	45,8765	46,0093	0,1328	17,40%
						0,1349	17,96%
						0,7508	

Cuadro A15. Resultados con 0,75 g de muestra, 75 mL de disolvente y 130 minutos de extracción.

Muestra	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Frasco vacío (+-0,0001g)	Frasco+extracto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	Porcentaje de grasa
1	11,0256	11,7936	0,7680	46,3374	46,4919	0,1545	20,12%
2	7,0835	7,8311	0,7476	45,9077	46,0505	0,1428	19,10%
3	12,7415	13,4932	0,7517	45,8082	45,9577	0,1495	19,89%
4	10,9887	11,7577	0,7690	43,7796	43,9273	0,1477	19,21%
5	11,4730	12,2331	0,7601	45,4015	45,5503	0,1488	19,58%
6	6,5836	7,3556	0,7720	45,8177	45,9656	0,1479	19,16%
			0,7614			0,1485	19,51%

Cuadro A16. Resultados con 0,75 g de muestra, 75 mL de disolvente y 130 minutos de extracción.

Muestra	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Frasco vacío (+-0,0001g)	Frasco+extracto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	Porcentaje de grasa
1	8,1711	8,9206	0,7495	45,9023	46,0472	0,1449	19,33%
2	10,8552	11,5969	0,7417	45,7904	45,9294	0,1390	18,74%
3	12,7658	13,5350	0,7692	44,0923	44,2377	0,1454	18,90%
4	11,4323	12,1829	0,7506	45,5331	45,6679	0,1348	17,96%
5	6,7558	7,4851	0,7293	45,6930	45,8289	0,1359	18,63%
6	11,3713	12,1599	0,7886	45,4285	45,5798	0,1513	19,19%
			0,7548			0,1419	18,79%

Cuadro A17. Resultados con 0,75 g de muestra, 75 mL de disolvente y 130 minutos de extracción.

Muestra	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Frasco vacío (+-0,0001g)	Frasco+extracto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	Porcentaje de grasa
1	11,0249	11,782	0,7571	45,8072	45,9419	0,1347	17,79%
2	9,4298	10,1743	0,7445	43,6513	43,7927	0,1414	18,99%
3	12,5137	13,2711	0,7574	45,0008	45,1420	0,1412	18,64%
4	12,6420	13,3872	0,7452	44,7417	44,8803	0,1386	18,60%
5	10,8645	11,6155	0,7510	45,4754	45,6261	0,1507	20,07%
6	6,8247	7,4757	0,6510	45,9082	46,0284	0,1202	18,46%
			0,7344			0,1378	18,76%

Cuadro A18. Resultados con 0,75 g de muestra, 75 mL de disolvente y 130 minutos de extracción.

Muestra	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Frasco vacío (+-0,0001g)	Frasco+extracto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	Porcentaje de grasa
1	6,8093	7,5546	0,7453	45,4383	45,5746	0,1363	18,29%
2	12,4855	13,5317	1,0462	45,6788	45,8718	0,1930	18,45%
3	10,9027	11,6599	0,7572	46,3439	46,4782	0,1343	17,74%
4	6,8445	7,5998	0,7553	46,0120	46,1539	0,1419	18,79%
5	7,7241	8,4733	0,7492	45,7897	45,9290	0,1393	18,59%
6	6,8064	7,5521	0,7457	45,2062	45,3447	0,1385	18,57%
			0,7998			0,1472	18,40%

Cuadro A19. Resultados con 0,75 g de muestra, 75 mL de disolvente y 130 minutos de extracción.

Muestra	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Frasco vacío (+-0,0001g)	Frasco+extracto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	Porcentaje de grasa
1	6,5517	7,3157	0,7640	45,7182	45,8560	0,1378	18,04%
2	6,7404	7,4949	0,7545	45,5339	45,6536	0,1197	15,86%
3	7,7135	8,4907	0,7772	45,6308	45,7753	0,1445	18,59%
4	12,6715	13,4263	0,7548	46,1844	46,3193	0,1349	17,87%
5	6,7068	7,4616	0,7548	45,9121	46,0551	0,1430	18,95%
6	8,9382	9,6873	0,7491	45,9379	46,0563	0,1184	15,81%
			0,7591			0,1331	17,52%

Cuadro A20. Resultados con 0,75 g de muestra, 75 mL de disolvente y 130 minutos de extracción.

Muestra	Cápsula vacía (+0,0001g)	Cápsula+mue stra (+- 0,0001g)	masa de muestra (+- 0,0001g)	Frasco vacío (+0,0001g)	Frasco+extrac to (+0,0001g)	masa de grasa (g)	Porcentaje de grasa
1	6,5332	7,2822	0,7490	43,8635	44,0055	0,1420	18,96%
2	6,7215	7,4667	0,7452	45,6811	45,8192	0,1381	18,53%
3	12,6520	13,4130	0,7610	45,7745	45,9189	0,1444	18,98%
4	6,7024	7,4556	0,7532	45,8418	45,9852	0,1434	19,04%
5	7,6681	8,4011	0,7330	44,6204	44,7586	0,1382	18,85%
6	8,8930	9,6411	0,7481	43,5261	43,6637	0,1376	18,39%
			0,7483			0,1406	18,79%

Anexo 3. Repticiones del punto óptimo para calcular la veracidad con el material de referencia

Cuadro A21. Resultados con 0,6013 g de muestra, 90 mL de disolvente y 64 minutos de extracción para calcular veracidad.

Muestra	Cápsula			Frasco+extra			Porcentaje de grasa
	vacia (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Frasco vacío (+-0,0001g)	cto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	
1	11,7227	12,3299	0,6072	45,6447	45,7649	0,1202	19,80 %
2	11,2454	11,8429	0,5975	46,0594	46,1726	0,1132	18,95 %
3	11,6097	12,2144	0,6047	45,0063	45,1238	0,1175	19,43 %
4	10,9136	11,5123	0,5987	45,5321	45,6485	0,1164	19,44 %
5	8,4598	9,053	0,5932	45,9004	46,0177	0,1173	19,77 %
6	12,9128	13,5196	0,6068	46,1803	46,2975	0,1172	19,31 %
			0,6014			0,1170	19,45 %

Cuadro A22. Resultados con 0,6013 g de muestra, 90 mL de disolvente y 64 minutos de extracción para calcular veracidad.

Muestra	Cápsula			Frasco+extra			Porcentaje de grasa
	vacia (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Frasco vacío (+-0,0001g)	cto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	
1	11,2315	11,83	0,5985	46,2068	46,3197	0,1129	18,86 %
2	11,6207	12,2225	0,6018	45,8104	45,9227	0,1123	18,66 %
3	11,7331	12,3375	0,6044	45,4368	45,5471	0,1103	18,25 %
4	12,9246	13,5209	0,5963	42,6115	42,7259	0,1144	19,18 %
5	10,9046	11,5085	0,6039	44,6286	44,7417	0,1131	18,73 %
6	8,4978	9,0947	0,5969	45,7748	45,8856	0,1108	18,56 %
			0,6003			0,1123	18,71 %

Cuadro A23. Resultados con 0,6013 g de muestra, 90 mL de disolvente y 64 minutos de extracción para calcular veracidad.

Muestra	Cápsula			Frasco+extra			Porcentaje de grasa
	vacia (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Frasco vacío (+-0,0001g)	cto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	
1	6,9581	7,5536	0,5955	45,8384	45,9435	0,1051	17,65 %
2	6,8830	7,4824	0,5994	45,8097	45,9153	0,1056	17,62 %
3	11,5227	12,1295	0,6068	44,0997	44,2073	0,1076	17,73 %
4	6,9207	7,5229	0,6022	43,8623	43,9687	0,1064	17,67 %
5	6,9611	7,5677	0,6066	43,7803	43,8863	0,1060	17,47 %
6	6,9566	7,5527	0,5961	44,0472	44,1486	0,1014	17,01 %
			0,6011			0,1054	17,53 %

Anexo 4. Condiciones de proceso de los chips de papaya

Muestra	Temperatura (°C)	Tiempo de fritura (s)	Velocidad de centrifugación (RPM)
Alto contenido de grasa (A)	130	613	228
Bajo contenido de grasa (B)	100	720	302
Contenido de grasa intermedio (C)	108	827	375

Anexo 5. Mediciones para el objetivo 2 usando tres diferentes muestras de chips de papaya

Cuadro A24. Resultados de la repetición 1 de la muestra A de chips de papaya.

Muestra	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Frasco vacío (+-0,0001g)	Frasco+extra cto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	Porcentaje de grasa
1	8,9636	9,5619	0,5983	45,5351	45,6333	0,0982	16,41 %
2	8,3160	8,9132	0,5972	44,9751	45,0686	0,0935	15,66 %
3	6,6882	7,2859	0,5977	42,9746	43,0644	0,0898	15,02 %
4	6,7142	7,3163	0,6021	45,7359	45,8259	0,0900	14,95 %
5	11,9437	12,5418	0,5981	44,0993	44,1937	0,0944	15,78 %
6	11,6495	12,2501	0,6006	46,1823	46,2712	0,0889	14,80 %
			0,5990			0,0925	15,44 %

Cuadro A25. Resultados de la repetición 2 de la muestra A de chips de papaya.

Muestra	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Frasco vacío (+-0,0001g)	Frasco+extra cto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	Porcentaje de grasa
1	6,7216	7,2204	0,4988	44,6232	44,6956	0,0724	14,51 %
2	6,6785	7,2797	0,6012	43,5227	43,6183	0,0956	15,90 %
3	11,9387	12,5500	0,6113	45,7854	45,8805	0,0951	15,56 %
4	8,3245	8,9309	0,6064	45,7123	45,8025	0,0902	14,87 %
5	8,9472	9,5492	0,6020	46,0693	46,1562	0,0869	14,44 %
6	11,6142	12,2282	0,6140	45,9063	45,9954	0,0891	14,51 %
			0,5890			0,0882	14,97 %

Cuadro A26. Resultados de la repetición 3 de la muestra A de chips de papaya.

Muestra	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Frasco vacío (+-0,0001g)	Frasco+extra cto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	Porcentaje de grasa
1	10,6359	11,2386	0,6027	44,9888	45,0957	0,1069	17,74 %
2	7,1025	7,7070	0,6045	45,6801	45,7679	0,0878	14,52 %
3	11,5042	12,1074	0,6032	44,0462	44,1504	0,1042	17,27 %
4	10,2289	10,8320	0,6031	45,9065	45,9968	0,0903	14,97 %
5	11,8327	12,4376	0,6049	45,8157	45,9248	0,1091	18,04 %
6	6,6948	7,2861	0,5913	43,5182	43,6053	0,0871	14,73 %
			0,6016			0,0976	16,21 %

Cuadro A27. Resultados de la repetición 1 de la muestra B de chips de papaya.

Muestra	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Frasco vacío (+-0,0001g)	Frasco+extra cto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	Porcentaje de grasa
1	8,9636	9,5619	0,5983	45,5351	45,6333	0,0982	16,41 %
2	8,3160	8,9132	0,5972	44,9751	45,0686	0,0935	15,66 %
3	6,6882	7,2859	0,5977	42,9746	43,0644	0,0898	15,02 %
4	6,7142	7,3163	0,6021	45,7359	45,8259	0,0900	14,95 %
5	11,9437	12,5418	0,5981	44,0993	44,1937	0,0944	15,78 %
6	11,6495	12,2501	0,6006	46,1823	46,2712	0,0889	14,80 %
			0,5990			0,0925	15,44 %

Cuadro A28. Resultados de la repetición 2 de la muestra B de chips de papaya.

Muestra	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Frasco vacío (+-0,0001g)	Frasco+extra cto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	Porcentaje de grasa
1	6,7216	7,2204	0,4988	44,6232	44,6956	0,0724	14,51 %
2	6,6785	7,2797	0,6012	43,5227	43,6183	0,0956	15,90 %
3	11,9387	12,5500	0,6113	45,7854	45,8805	0,0951	15,56 %
4	8,3245	8,9309	0,6064	45,7123	45,8025	0,0902	14,87 %
5	8,9472	9,5492	0,6020	46,0693	46,1562	0,0869	14,44 %
6	11,6142	12,2282	0,6140	45,9063	45,9954	0,0891	14,51 %
			0,5890			0,0882	14,97 %

Cuadro A29. Resultados de la repetición 3 de la muestra B de chips de papaya.

Muestra	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Frasco+extra			Porcentaje de grasa
				Frasco vacío (+-0,0001g)	cto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	
1	10,6359	11,2386	0,6027	44,9888	45,0957	0,1069	17,74 %
2	7,1025	7,7070	0,6045	45,6801	45,7679	0,0878	14,52 %
3	11,5042	12,1074	0,6032	44,0462	44,1504	0,1042	17,27 %
4	10,2289	10,8320	0,6031	45,9065	45,9968	0,0903	14,97 %
5	11,8327	12,4376	0,6049	45,8157	45,9248	0,1091	18,04 %
6	6,6948	7,2861	0,5913	43,5182	43,6053	0,0871	14,73 %
				0,6016		0,0976	16,21 %

Cuadro A30. Resultados de la repetición 1 de la muestra C de chips de papaya.

Muestra	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Frasco+extra			Porcentaje de grasa
				Frasco vacío (+-0,0001g)	cto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	
1	6,5160	7,1163	0,6003	45,4355	45,4961	0,0606	10,09 %
2	6,8534	7,4636	0,6102	45,8320	45,8965	0,0645	10,57 %
3	12,0430	13,0059	0,9629	45,9283	46,0238	0,0955	9,92 %
4	10,8051	11,4187	0,6136	46,0127	46,0749	0,0622	10,14 %
5	6,7585	7,1607	0,4022	45,7770	45,8165	0,0395	9,82 %
6	13,3292	13,6193	0,2901	46,1829	46,2088	0,0259	8,93 %
				0,5799		0,0580	9,91 %

Cuadro A31. Resultados de la repetición 2 de la muestra C de chips de papaya.

Muestra	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Frasco+extra			Porcentaje de grasa
				Frasco vacío (+-0,0001g)	cto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	
1	12,0445	12,6522	0,6077	44,9988	45,0522	0,0534	8,79 %
2	6,8932	7,4980	0,6048	45,8180	45,8726	0,0546	9,03 %
3	6,7672	7,3612	0,5940	45,8127	45,8636	0,0509	8,57 %
4	10,8255	11,4258	0,6003	45,7089	45,7613	0,0524	8,73 %
5	6,5648	7,1605	0,5957	45,8627	45,9136	0,0509	8,54 %
6	11,5256	12,1187	0,5931	44,5136	44,5626	0,0490	8,26 %
				0,5993		0,0519	8,65 %

Cuadro A32. Resultados de la repetición 3 de la muestra C de chips de papaya.

Muestra	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Frasco+extra			Porcentaje de grasa
				Frasco vacío (+-0,0001g)	cto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	
1	6,8513	7,4656	0,6143	44,3785	44,4395	0,0610	9,93 %
2	6,9868	7,5812	0,5944	45,6089	45,6684	0,0595	10,01 %
3	11,7968	12,3937	0,5969	42,9640	43,0236	0,0596	9,98 %
4	10,8228	11,4289	0,6061	43,5071	43,5685	0,0614	10,13 %
5	10,9133	11,5143	0,6010	44,7347	44,7943	0,0596	9,92 %
6	6,9356	7,6406	0,7050	42,6087	42,6775	0,0688	9,76 %
				0,6196		0,0617	9,96 %

Cuadro A33. Resultados de la repetición 4 de la muestra C de chips de papaya.

Muestra	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Frasco+extra			Porcentaje de grasa
				Frasco vacío (+-0,0001g)	cto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	
1	12,8041	13,4045	0,6004	44,0979	44,1560	0,0581	9,68 %
2	10,7764	11,3753	0,5989	44,9754	45,0369	0,0615	10,27 %
3	12,7555	13,3584	0,6029	44,6138	44,6737	0,0599	9,94 %
4	6,9895	7,5839	0,5944	45,0089	45,0651	0,0562	9,45 %
5	12,0381	12,6325	0,5944	45,2034	45,2609	0,0575	9,67 %
6	6,9326	7,5325	0,5999	46,3360	46,3895	0,0535	8,92 %
				0,5985		0,0578	9,65 %

Cuadro A34. Resultados de la repetición 5 de la muestra C de chips de papaya.

Muestra	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Frasco+extra			Porcentaje de grasa
				Frasco vacío (+-0,0001g)	cto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	
1	11,9354	12,5361	0,6007	45,8466	45,9137	0,0671	11,17 %
2	12,8289	13,4253	0,5964	45,9203	45,9835	0,0632	10,60 %
3	10,9472	11,5453	0,5981	42,9628	43,0281	0,0653	10,92 %
4	11,2026	11,8083	0,6057	46,0009	46,0721	0,0712	11,75 %
5	6,9291	7,5272	0,5981	44,7285	44,8080	0,0795	13,29 %
6	7,5849	8,1840	0,5991	44,9851	45,0506	0,0655	10,93 %
				0,5997		0,0686	11,44 %

Cuadro A35. Resultados de la repetición 6 de la muestra C de chips de papaya.

Muestra	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Frasco+extra			Porcentaje de grasa
				Frasco vacío (+-0,0001g)	cto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	
1	6,7485	7,3522	0,6037	45,4378	45,4903	0,0525	8,70 %
2	6,8960	7,4983	0,6023	45,9048	45,9599	0,0551	9,15 %
3	10,8334	11,4375	0,6041	45,6574	45,7043	0,0469	7,76 %
4	10,9368	11,5375	0,6007	43,7804	43,8328	0,0524	8,72 %
5	10,9055	11,5078	0,6023	46,1400	46,1895	0,0495	8,22 %
6	11,6630	12,2634	0,6004	45,6859	45,7349	0,0490	8,16 %
				0,6023		0,0509	8,45 %

Cuadro A36. Resultados de la repetición 7 de la muestra C de chips de papaya.

Muestra	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Frasco+extra			Porcentaje de grasa
				Frasco vacío (+-0,0001g)	cto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	
1	6,9735	7,5760	0,6025	45,8379	45,8946	0,0567	9,41 %
2	6,9853	7,5878	0,6025	42,9285	42,9834	0,0549	9,11 %
3	7,2884	7,8946	0,6062	46,2226	46,2755	0,0529	8,73 %
4	6,9331	7,5400	0,6069	45,4352	45,4881	0,0529	8,72 %
5	6,9326	7,5325	0,5999	44,0217	44,0751	0,0534	8,90 %
6	10,8091	11,4144	0,6053	44,0508	44,1012	0,0504	8,33 %
				0,6039		0,0535	8,87 %

Cuadro A37. Resultados de la repetición 8 de la muestra C de chips de papaya.

Muestra	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Frasco+extra			Porcentaje de grasa
				Frasco vacío (+-0,0001g)	cto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	
1	6,8147	7,4168	0,6021	45,9064	45,9667	0,0603	10,01 %
2	7,3816	7,9836	0,6020	45,5806	45,6432	0,0626	10,40 %
3	11,8944	12,4899	0,5955	45,7004	45,7656	0,0652	10,95 %
4	7,8598	8,4541	0,5943	46,1345	46,1921	0,0576	9,69 %
5	11,1651	11,7611	0,5960	45,8932	45,9558	0,0626	10,50 %
6	6,7353	7,3344	0,5991	43,5135	43,5739	0,0604	10,08 %
				0,5982		0,0615	10,27 %

Cuadro A38. Resultados de la repetición 9 de la muestra C de chips de papaya.

Muestra	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Frasco+extra			Porcentaje de grasa
				Frasco vacío (+-0,0001g)	cto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	
1	7,8440	8,4500	0,6060	45,7695	45,8286	0,0591	9,75 %
2	11,1742	11,7751	0,6009	45,9274	45,9856	0,0582	9,69 %
3	11,8627	12,4674	0,6047	44,9818	45,0413	0,0595	9,84 %
4	7,3824	7,9831	0,6007	44,0294	44,0875	0,0581	9,67 %
5	6,7432	7,3422	0,5990	45,8557	45,9114	0,0557	9,30 %
6	6,7984	7,4952	0,6968	43,6496	43,7224	0,0728	10,45 %
				0,6180		0,0606	9,78 %

Cuadro A39. Resultados de la repetición 10 de la muestra C de chips de papaya.

Muestra	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Frasco+extra			Porcentaje de grasa
				Frasco vacío (+-0,0001g)	cto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	
1	7,8218	8,4283	0,6065	45,8303	45,8936	0,0633	10,44 %
2	11,8725	12,4758	0,6033	44,9885	45,0521	0,0636	10,54 %
3	6,8222	7,4198	0,5976	44,6103	44,6711	0,0608	10,17 %
4	6,8247	7,4237	0,5990	43,8563	43,9174	0,0611	10,20 %
5				43,5065	43,6189	0,1124	
6	7,3877	7,9852	0,5975	45,7309	45,7945	0,0636	10,64 %
0,6008				0,0708			10,40 %

Cuadro A40. Resultados de la repetición 11 de la muestra C de chips de papaya.

Muestra	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Frasco+extra			Porcentaje de grasa
				Frasco vacío (+-0,0001g)	cto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	
1	6,7993	7,3982	0,5989	44,7374	44,7950	0,0576	9,62 %
2	6,7937	7,3925	0,5988	44,9784	45,0364	0,0580	9,69 %
3	11,3960	11,9930	0,5970	45,7967	45,8534	0,0567	9,50 %
4	6,8524	7,4546	0,6022	45,4336	45,4918	0,0582	9,66 %
5	7,8302	8,4382	0,6080	44,0987	44,1571	0,0584	9,61 %
6				45,4677	45,5527	0,0850	
0,6010				0,0623			9,61 %

Cuadro A41. Resultados de la repetición 12 de la muestra C de chips de papaya.

Muestra	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Frasco+extra			Porcentaje de grasa
				Frasco vacío (+-0,0001g)	cto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	
1	6,8241	7,4212	0,5971	45,4247	45,4900	0,0653	10,94 %
2	6,7943	7,3920	0,5977	43,8511	43,9160	0,0649	10,86 %
3	11,4061	12,0017	0,5956	45,7839	45,8478	0,0639	10,73 %
4	7,8620	8,4669	0,6049	43,5032	43,5663	0,0631	10,43 %
5	11,5672	12,1642	0,5970	44,0881	44,1519	0,0638	10,69 %
6	12,4924	13,0909	0,5985	45,7613	45,8254	0,0641	10,71 %
0,5985				0,0642			10,73 %

Cuadro A42. Resultados de la repetición 13 de la muestra C de chips de papaya.

Muestra	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Frasco+extra			Porcentaje de grasa
				Frasco vacío (+-0,0001g)	cto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	
1	11,5813	12,1872	0,6059	45,4614	45,5246	0,0632	10,43 %
2	6,7922	7,3904	0,5982	45,8106	45,8718	0,0612	10,23 %
3	7,8462	8,4424	0,5962	44,7309	44,7924	0,0615	10,32 %
4	12,4836	13,0813	0,5977	44,6085	44,6693	0,0608	10,17 %
5	6,8294	7,4217	0,5923	43,6430	43,7041	0,0611	10,32 %
6	11,4024	12,0018	0,5994	44,9860	45,0474	0,0614	10,24 %
0,5983				0,0615			10,28 %

Cuadro A43. Resultados de la repetición 14 de la muestra C de chips de papaya.

Muestra	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Frasco+extra			Porcentaje de grasa
				Frasco vacío (+-0,0001g)	cto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	
1	7,8319	8,4303	0,5984	44,9756	45,0386	0,0630	10,53 %
2	11,4058	12,0038	0,5980	46,0528	46,1128	0,0600	10,03 %
3	6,8210	7,4203	0,5993	43,5071	43,5657	0,0586	9,78 %
4	6,8407	7,4441	0,6034	45,8918	45,9497	0,0579	9,60 %
5	11,5806	12,1815	0,6009	45,5770	45,6362	0,0592	9,85 %
6	12,4629	13,0660	0,6031	45,7286	45,7888	0,0602	9,98 %
0,6005				0,0598			9,96 %

Anexo 6. Medición de grasa de los chips de papaya usando el método de Soxhlet.

Cuadro A44. Resultados de la muestra A con Soxhlet

	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Balón vacío (+-0,0001g)	Balón más extracto (+-0,0001g)	masa de	Porcentaje de grasa
						grasa extraída (+-0,0001g)	
A1	11,3411	13,3478	2,0067	106,6672	106,9623	0,2951	14,71 %
A2	10,1717	12,1780	2,0063	109,7314	110,0190	0,2876	14,33 %
A3	12,6169	14,6121	1,9952	107,8650	108,1565	0,2915	14,61 %
14,55 %							

Cuadro A45. Resultados de la muestra B con Soxhlet

	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Balón vacío (+-0,0001g)	Balón más extracto (+-0,0001g)	masa de grasa extraída (+-0,0001g)	Porcentaje de grasa
B1	7,1671	9,1681	2,0010	107,8866	108,0836	0,1970	9,85 %
B2	6,7439	8,7422	1,9983	111,5119	111,7096	0,1977	9,89 %
B3	12,1934	14,1906	1,9972	105,9545	106,1503	0,1958	9,80 %
							9,85 %

Cuadro A46. Resultados de la muestra C con Soxhlet

	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Balón vacío (+-0,0001g)	Balón más extracto (+-0,0001g)	masa de grasa extraída (+-0,0001g)	Porcentaje de grasa
C1	10,6442	12,6440	1,9998	107,3147	107,4820	0,1673	
C2	6,7445	8,7489	2,0044	108,1235	108,3209	0,1974	9,85 %
C3	10,5968	12,5914	1,9946	113,5754	113,7680	0,1926	9,66 %
							9,75 %

Anexo 7. Resultados usados para evaluar el efecto del secado de la muestra

Cuadro A47. Medición de grasa con soxtec de unos chips de papaya altos en grasa secados previamente.

Muestra	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	Cápsula + muestra seca	Porcentaje de humedad	Frasco vacío (+-0,0001g)	Frasco+extra cto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	Porcentaje de grasa base seca	en base húmeda
1	6,8555	7,4529	7,4187	0,0572	46,1356	46,2853	0,1497	26,58%	25,06%
2	12,0540	12,6571	12,6236	0,0555	43,8190	43,9739	0,1549	27,19%	25,68%
3	12,0014	12,6020	12,5677	0,0571	45,9287	46,0847	0,1560	27,55%	25,97%
4	9,3938	9,9939	9,9581	0,0597	43,5096	43,6652	0,1556	27,57%	25,93%
5	6,7732	7,3727	7,3405	0,0537	45,9025	46,0579	0,1554	27,39%	25,92%
6	6,8078	7,4034	7,3708	0,0547	44,9806	45,1382	0,1576	27,99%	26,46%
				0,0563			0,1549	27,38%	25,84%

Cuadro A48. Medición de grasa con soxtec de unos chips de papaya altos en grasa sin secado previo.

Muestra	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra (+-0,0001g)	Porcentaje de humedad	Frasco vacío (+-0,0001g)	Frasco+extra cto (+-0,0001g)	masa de grasa (g)	Porcentaje de grasa
1	11,7307	12,3289	0,5982		45,8372	45,9865	0,1493	24,96%
2	10,6981	11,2937	0,5956		44,1083	44,2579	0,1496	25,12%
3	11,3394	11,9367	0,5973		43,8657	44,0148	0,1491	24,96%
4	11,2008	11,8008	0,6000		45,8055	45,9544	0,1489	24,82%
5	6,7913	7,4014	0,6101		46,3358	46,4866	0,1508	24,72%
6	11,1873	11,7916	0,6043		44,6301	44,7850	0,1549	25,63%
			0,6009			0,1504	25,03%	

Cuadro A49. Medición de grasa con Soxhlet de unos chips de papaya secados previamente.

	Cápsula vacía (+-0,0001g)	Cápsula+muestra (+-0,0001g)	masa de muestra seca (+-0,0001g)	Porcentaje de humedad	Balón vacío (+-0,0001g)	Balón más extracto (+-0,0001g)	masa de grasa extraída (+-0,0001g)	Porcentaje de grasa en base seca	en base húmeda
1	11,5844	13,4827	13,4334	0,0260	107,5276	108,0094	0,4818	26,06%	25,38%
2	10,3132	12,3366	12,2849	0,0256	104,1537	104,6755	0,5218	26,46%	25,79%
3	11,8070	13,8049	13,7502	0,0274	115,2360	115,7609	0,5249	27,01%	26,27%
								Promedio	26,51%
									25,81%

Anexo 8. Certificado de calibración de la balanza analítica del laboratorio de química del CITA.



SCM METROLOGIA Y LABORATORIOS

Laboratorio de calibración de instrumentos de CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN



Código del certificado
20180122-06-4

Fecha de calibración: 22.ene.2018
Próxima fecha de calibración: 22.ene.2019
Periodo de calibración: 12 meses
Objeto de Calibración: Balanza analítica
Marca / Fabricante: PRECISA
Modelo: EP420A
Intervalo de medida: (0,1 a 420) g
Resolución: 0,0001 g
Identificación del cliente: 225551
Número de serie: 4600092
Error máximo tolerado: No aplica
Referencia a especificación: No aplica
Calibración realizada por: Leonel Loría Soto
Solicitante: CITA, CENTRO DE INVESTIGACIONES EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS, UCR
Dirección del solicitante: San José, Costa Rica
Solicitud: 52022;04
Ubicación del equipo: Cuarto de Balanzas
Número de páginas: 4
Lugar de Calibración: Instalaciones del cliente
Registro de las observaciones: SCM server - Folio: libreta digital
Número de determinaciones: 10
Procedimiento utilizado: PT-SCM-005 Procedimiento para la Calibración de Instrumentos de Pesaje

El usuario tiene la responsabilidad de recalibrar el instrumento a intervalos adecuados, según el tipo de trabajo y el tiempo de uso del instrumento. El periodo de calibración y error máximo tolerado del equipo son establecidos por el cliente.

Los resultados del certificado se refieren únicamente al objeto calibrado y al momento y condiciones en que se realizaron las mediciones.

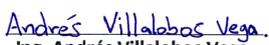
SCM Metrología S.A. no se responsabiliza de los perjuicios que pueda ocasionar el uso inadecuado de este instrumento, ni de una incorrecta interpretación de los resultados de la calibración aquí declarados.

Este certificado de calibración es trazable a patrones nacionales o internacionales, los cuales realizan las unidades de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI).

La incertidumbre expandida de la medición se ha obtenido multiplicando la incertidumbre estándar de la medición por el factor de cobertura $k = 2$ que, para una distribución normal, corresponde a una probabilidad de cobertura de aproximadamente el 95 %. La incertidumbre estándar de medida se ha determinado conforme a la Guía ISO/BIPM/OIML/ILAC/IEC/IUPAC/IFCC/IUPAP para la Expresión de las Incertidumbres, e incluye la incertidumbre de los patrones, del método de calibración, de las condiciones ambientales y la contribución propia de quien realiza la calibración.

Este certificado de calibración no podrá ser reproducido parcialmente, excepto con autorización previa por escrito de SCM Metrología.

El certificado de calibración no es válido sin la firma de aprobación de SCM Metrología.

Aprobación: 
Ing. Andrés Villalobos Vega
Gestor de Operaciones

Declaración de los patrones utilizados en la calibración

Tipo de patrón	Identificación	Certificado	Próxima calibración	Trazabilidad
Juego de 25 pesas clase E2	JUMAS-06	LACOMET 15180317	30/11/2020	LACOMET

Datos del equipo sujeto a calibración

Clasificación según OIML R76: Clase I

Primer Rango

Capacidad máxima: 420 g

Capacidad mínima: 0,1 g

RESULTADOS DE LA CALIBRACIÓN
Prueba de Linealidad

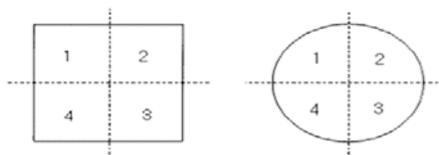
Valor Nominal g	Masa del patrón g	Error de medida ascendente g	Error de medida descendente g	Incertidumbre expandida (k=2; 95%) g
0,01	0,010002	0,000098	0,000299	0,000068
1	0,999993	0,000107	0,000107	0,000070
20	19,999962	-0,000062	0,000138	0,000080
50	49,999966	-0,000066	0,000134	0,000085
100	99,99992	0,00008	0,00018	0,00011
150	149,99988	0,00022	0,00002	0,00012
200	199,99971	0,00039	0,00009	0,00017
250	249,99963	0,00057	0,00037	0,00019
300	299,99959	0,00041	0,00051	0,00019
420	419,99938	0,00102	0,00102	0,00023

Prueba de Repetibilidad

N	Carga Aplicada		
	0,01 g	210 g	420 g
1	0,0101	210,0002	420,0004
2	0,0101	210,0001	420,0004
3	0,0102	210,0001	420,0005
4	0,0101	210,0001	420,0005
5	0,0102	210,0000	420,0005
6	0,0101	210,0001	420,0005
7	0,0101	210,0001	420,0004
8	0,0101	210,0001	420,0005
9	0,0101	210,0000	420,0006
10	0,0102	210,0001	420,0004
Desviación estándar	0,000048	0,000057	0,000067
Rango	0,0001	0,0002	0,0002

Prueba de Excentricidad

Posición de la carga	Carga aplicada g	Indicación del instrumento g	Error de medida g	Incertidumbre expandida (k=2; 95%) g
1	199,99971	200,0010	0,00129	0,00017
2	199,99971	199,9999	0,00019	0,00017
3	199,99971	199,9991	-0,00061	0,00017
4	199,99971	200,0001	0,00039	0,00017



Posiciones de referencia para la prueba de excentricidad

Error de indicación previo al ajuste

Carga aplicada g	Indicación del instrumento g	Error de medida g	Incertidumbre expandida (k=2; 95%) g
209,99967	210,0026	0,00293	0,00017
409,99938	410,0052	0,00582	0,00023

Notas y Aclaraciones:

- [1] Condiciones ambientales durante la calibración:
Temperatura: (23,8 ± 1,2) °C Humedad: (45 ± 12) % HR
- [2] Observaciones adicionales:
El equipo establece su peso mínimo como "10 mg".
El error previo se hace con "410 g" debido a que por su error al colocarse los "420 g" de su capacidad máxima, sobrepasa el peso máximo de la balanza por lo cual es imposible su lectura.
Se ajusta el equipo mediante el uso de masas externas.
Se usan "200 g" para la prueba de excentricidad debido a que colocar 2 masas en cada cuadrante pone en riesgo la integridad de las mismas.