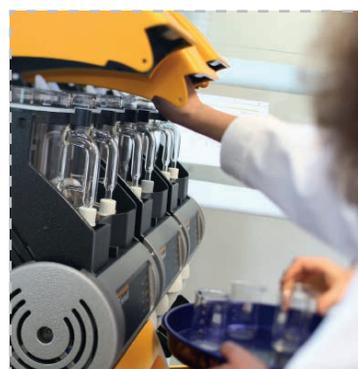


ESTUDIO SCIENTIFICO:

Contenido total de grasa mediante hidrólisis ácida automática (HYDROTHERM) – ISO 8262-1

B. J. Bench, Wade Whittington, Markus Kranz, Frank Guerrera



Wissenschaftlicher Artikel

B. J. Bench^{1,2}, Wade Whittington^{1,2}, Markus Kranz³, Frank Guerrera⁴

1. Tyson Foods, Inc., Springdale (Arkansas), USA;
2. WBA Analytical Laboratories, Springdale (Arkansas), USA;
3. C. Gerhardt, Königswinter, Deutschland;
4. Lab Synergy, Goshen (New York), USA



Introducción

La medición de grasas totales es crucial en el análisis de alimentos. La hidrólisis ácida o alcalina es necesaria allí donde los ácidos grasos están ligados a glicéridos, ésteres de esteroles, glicol y fosfolípidos. La hidrólisis afecta a las paredes de la célula y desintegra las emulsiones de grasa y los enlaces de proteína y lípido.

Existen múltiples métodos AOAC para varias matrices que incorporan una hidrólisis ácida o alcalina para lograr la liberación total de la grasa contenida en varios productos, seguida de la extracción de las grasas totales mediante éteres mezclados. Estos métodos AOAC requieren mucha mano de obra con variaciones en la reproducibilidad a través de matrices. HYDROTHERM es un sistema automático y totalmente cerrado para la hidrólisis ácida conforme a ISO 8262-1 (método gravimétrico Weibull-Berntrop). Si se utiliza junto con SOXTHERM® (extracción rápida Soxhlet), el análisis de la grasa de los productos alimenticios se realiza de forma completamente automática con la mínima mano de obra.

En este estudio de validación se presentan los datos de HYDROTHERM comparados con los datos del método AOAC 922.06, el cual se trata de una digestión ácida manual utilizando el tubo de extracción de Mojonnier para la hidrólisis ácida. La carne homogeneizada (n=36) NIST 1546 se analizó usando los dos métodos, donde HYDROTHERM actuó de forma equivalente al método AOAC.

Se analizaron 21 productos entre los que se incluían queso, sopas/salsas, carnes (crudas/cocinadas, fiambres, carnes empanadas), golosinas para mascotas y tortillas; HYDROTHERM resultó tener un mayor grado de eficiencia en la hidrólisis en comparación con el método AOAC. El uso de HYDROTHERM para la hidrólisis ácida automática permite obtener una buena repetibilidad, alta productividad, resultados precisos y aplicabilidad universal.

Objetivos

- Validar el uso de HYDROTHERM frente a AOAC 922.06 para llevar a cabo la hidrólisis de ácidos grasos antes de la extracción de grasa SOXTHERM®
- Mayor seguridad debido a la exposición al ácido
- Ahorro de espacio (en la campana), de mano de obra y de suministros
- Buena repetibilidad demostrada, alta productividad y resultados precisos

Métodos

Pesar 2-3 gramos de muestra en el papel de pesaje HYDROTHERM (C.Gerhardt #1004939). Colocar la muestra en el vaso de precipitados HYDROTHERM y añadir ½ cucharadita de celita. Colocar los filtros HYDROTHERM (C.Gerhardt #1004092) en el embudo colector. Ejecutar el programa Hydrotherm utilizando el 15 % de ácido clorhídrico como reactivo de hidrólisis. Una vez finalizado el programa HYDROTHERM, retirar los filtros y dejar secar durante 30 minutos a 100°C. Colocar los filtros secos en el dedal de celulosa para la extracción. Pesar el peso inicial del vaso de precipitados para los dedales correspondientes. Colocar los dedales en el vaso de precipitados correspondiente. Añadir 90-100 ml de éter de petróleo al vaso de precipitados y realizar la extracción en el SOXTHERM®. Una vez finalizada la extracción, retirar los dedales y dejar secar el vaso de precipitados durante 30 minutos a 100°C. Dejar enfriar y registrar el peso final del vaso de precipitados. La grasa total se calcula usando la siguiente fórmula:

$$\text{Grasa} = \frac{(\text{peso final del vaso de precipitados} - \text{peso inicial del vaso de precipitados}) * 100}{\text{peso de la muestra}}$$

HYDROTHERM

HYDROTHERM es el único sistema a nivel mundial que realiza una hidrólisis ácida automática para la determinación de grasa tradicional según el método Weibull-Berntrop.

En este conjunto de datos se incluyen un mínimo de 9 pares de observaciones. Se evaluaron veintidós productos usando los dos métodos.

Los datos fueron evaluados estadísticamente usando una prueba t pareada para las diferencias de media, mientras que se utilizó una prueba



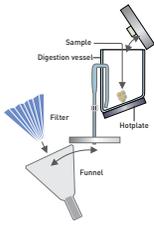
Resultados comparaciones de matrices

Producto	HYDROTHERM		Método 922.06	
	Media	σ	Media	σ
Alfredo (n=9)	22,6	7,14	22,9	7,48
Masa Alfredo (n=9)	13,7	0,37 ^y	13,1	1,56 ^z
Salsa Alfredo (n=19)	23,3	5,40	23,7	5,76
Patatas fritas (n=10)	18,7	0,82	19,0	0,73
Cartílago de pollo molido (n=12)	11,2	1,75	11,1	1,64
Golosinas para mascotas (n=45)	10,8 ^a	4,31	7,7 ^b	4,03
Roast Beef (n=9)	12,5 ^a	1,20	10,6 ^b	0,91
Dip de queso (n=17)	13,2 ^a	1,23	12,4 ^b	1,72
Filetes de pollo empanado (n=25)	8,7	1,36	8,7	1,09
Cartílago de pollo (n=10)	7,9	1,99	7,2	1,46
Nuggets de pollo (n=86)	13,7 ^a	2,04	12,8 ^b	2,34
Hamburguesas de pollo (n=45)	5,3 ^a	1,70	4,3 ^b	1,35
Tiras de pollo empanado (n=45)	10,1 ^a	1,66	9,3 ^b	2,07
Albóndiga (n=69)	18,6 ^a	4,24	18,1 ^b	4,31
Cubos de pollo frito (n=38)	14,2	2,11	14,3	2,20
Crema de patata (n=9)	8,3	0,56	7,9	0,82
Pollo crudo (n=21)	6,4 ^a	5,05	5,7 ^b	4,97
Salchicha (n=9)	33,2	1,71	32,7	2,11
Carne para tacos (n=10)	13,4	2,27	12,7	2,77
Tortilla tostada para tacos (n=36)	20,6 ^a	1,49	21,2 ^b	1,87
Tortilla mexicana (n=51)	7,6	1,25	7,4	1,52

^{ab} Medias dentro de la misma fila con diferentes superíndices que diferían ($P \leq 0,05$).

^{yz} Desviaciones estándar dentro de la misma fila con diferentes superíndices que diferían ($P \leq 0,05$).

Hydrolysis



Phase 1
Insert filter and sample
After putting the sample in the digestion tube, the filter is inserted into the funnel and the unit is closed. Funnel as well as the digestion tube are closed completely.



Phase 2
Addition hydrochloric acid
The process is initiated and a well defined amount of hydrochloric acid is added automatically. The entire process is run in a closed system.



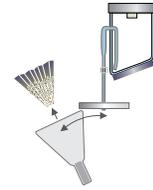
Phase 3
Hydrolysis
The sample is hydrolysed in boiling hydrochloric acid. The digestion of the matrix is done in an ideally dimensioned digestion vessel.



Phase 4
Dilution and rinsing
When digestion is finished, the sample is heavily diluted with hot water. Prior to the filtration, the filter is moisturised with hot water as well.



Phase 5
Filtration
The diluted sample is quantitatively filtered through the humid filter. The digestion tube is rinsed with hot water till all fat particles are carried over and the filter is ph-neutral.



Phase 6
Taking out of filter
At the end the filter is taken out, dried and put into an extraction thimble for the fat extraction.

Time: appr. 90 min.

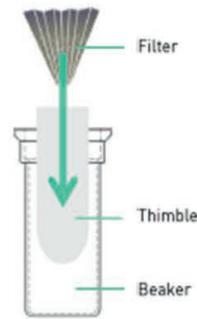
Sample preparation for extraction



1. Weighing the beaker



2. Drying the filter



3. Insert filter in extraction beaker



4. Insert solvent

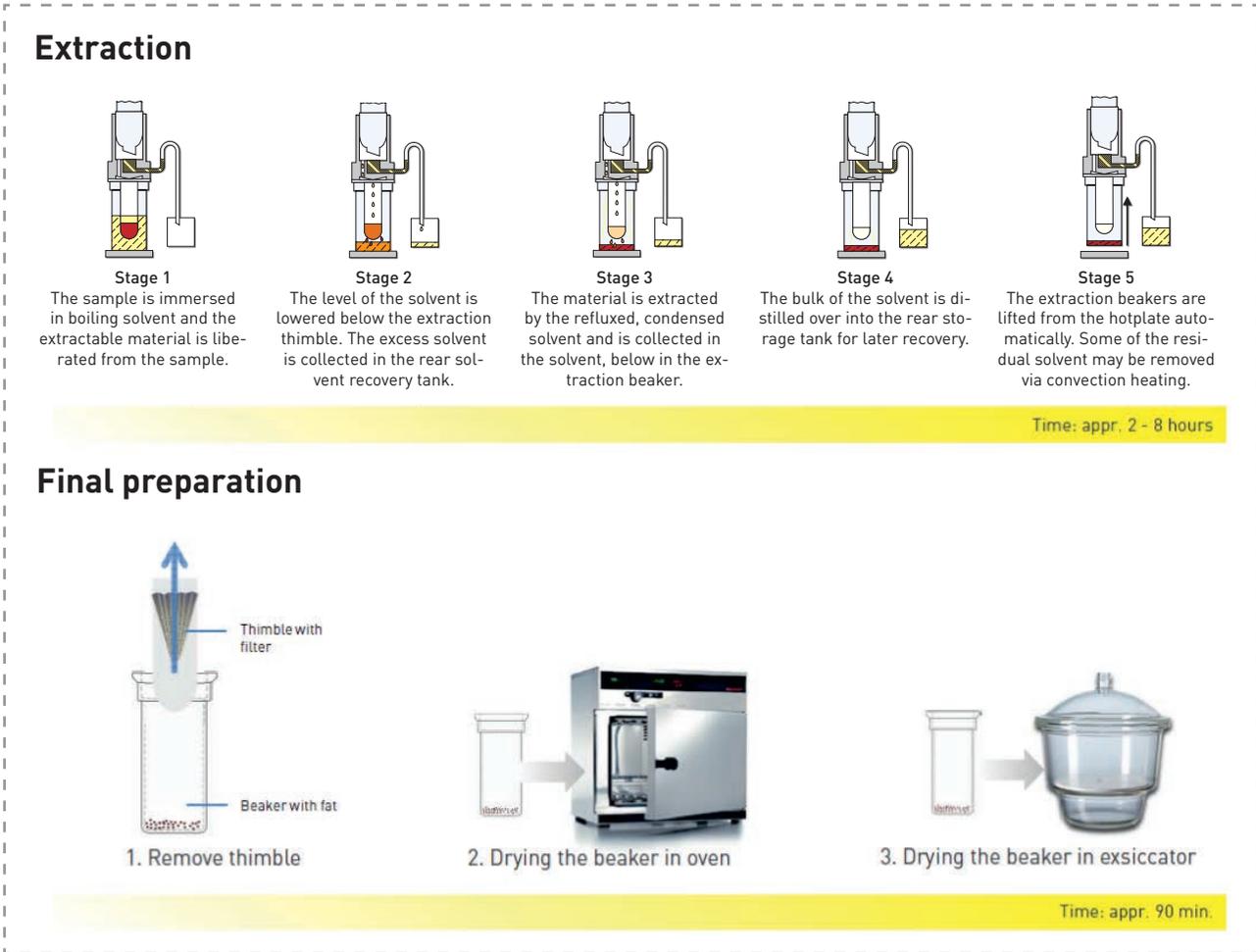
Time: appr. 30-60 min.

t general para evaluar la igualdad de la varianza dentro de cada método, por cada tipo de producto. La mayor diferencia se observó en las golosinas para mascotas. En todos los casos, el método HYDROTHERM tuvo mayores valores de media que el método AOAC 922.06. Además, en solo 1 instancia la variación fue diferente para los métodos dentro de un mismo tipo de producto: la masa Alfredo.

SOXTHERM®

El principio SOXTHERM® simplifica y acelera claramente el método Soxhlet tradicional y cumple las normas nacionales e internacionales de extracción.





Principales mejoras de seguridad

- HYDROTHERM y SOXTHERM® son sistemas cerrados que no requieren el uso de campanas extractoras.
- La eliminación de residuos peligrosos inflamables permite combinar HYDROTHERM y SOXTHERM® para formar un método más ecológico y respetuoso con el medio ambiente.

- HYDROTHERM reduce enormemente la exposición del técnico a los humos perjudiciales de ácidos/disolventes.

Temas de discusión

- Cuál es el contenido de grasa correcto
- Diferentes métodos de hidrólisis ácida
- Métodos internacionales Weibull-Stoldt y Weibull-Berntrop

Resultados validación ISO:17025

Matriz	n	Media % (HT)	Desv. est. (HT)	Media % (AOAC)	Desv. est. (AOAC)
Carne homogeneizada NIST 1546 (valor COA = 21 %)	36	21,15	1,04	21,24	1,02
Material de control de calidad interno	61	27,45	0,64	26,22	0,92
Pechuga de pollo	20	4,34	0,15	4,11	0,22
Tortilla mexicana	20	7,66	0,17	7,16	0,2
Panceta cruda	20	33,39	0,61	31,67	1,64

Resultados de pruebas de aptitud

Programa/ID de muestra	Resultado de laboratorio	Media	Desv. est.	Puntuación Z
AAFCO/pienso iniciador para terneros	4,6	4,6253	0,46397	-0,05
AAFCO/comida seca para perros	9,425	9,6576	0,41083	-0,57
AAFCO/harina de gluten de maíz	4,96	4,9295	0,39613	0,08
AAFCO/pienso de crecimiento para terneros	4,555	4,5781	0,55513	-0,04
AAFCO/pienso de crecimiento para ganado	4,855	5,12	0,44344	-0,6
AAFCO/pienso de crecimiento para cerdos	4,495	4,4269	0,40048	0,17
AAFCO/alimento granulado para ganado	6,32	6,4767	0,49843	-0,31
AAFCO/cebador para cerdos de exhibición	5,995	6,4948	0,56559	-0,88
LGC/muestra a base de cereales	10,02	9,86	0,386	0,4
LGC/muestra a base de carne	26,17	26,19	1,047	-0,02
LGC/muestra a base de carne	14,59	14,76	0,59	-0,29

AAFCO – Asociación americana de funcionarios de control de piensos

LGC – Normas LGC, proveedor de ensayos de aptitud acreditado por la ISO

- Tendencias a nivel mundial: métodos y laboratorios
- Métodos para aplicaciones y tipos de muestras diferentes
- Procedimiento Röse-Gottlieb; procedimiento Schmid Bondzynski-Ratzlaff; véase la introducción ISO 8262:20054
- Importancia de la preparación de la muestra

Conclusión

Estadísticamente, el método Hydrotherm se llevó a cabo de forma equivalente al método AOAC 922.06 con el valor de muestra conocido de carne homogeneizada NIST 1546.

Estadísticamente, HYDROTHERM se llevó a cabo de forma equivalente o mejor que AOAC 922.06 con un producto con nivel de grasa bajo, medio y alto (n=20), con mejor desviación estándar y coeficiente de varianza en los tres niveles.

En base a los resultados de media de todos los productos, el método HYDROTHERM se llevó a

cabo mejor con la extracción general de grasa total que el AOAC 922.06.

La grasa total se redujo alrededor del 75 % utilizando el método automático HYDROTHERM/SOXTHERM® frente al método manual AOAC 922.06. El coste total de materiales y sustancias químicas en base a cada muestra se redujo el 22 % utilizando el método HYDROTHERM/SOXTHERM®.

Referencias

1. Método AOAC 922.06, "Grasa en harina".
2. Método AOAC 991.36, "Grasas brutas en carnes".
3. Nota para la aplicación de Gerhardt B.1.3.HT, "Grasa total en carne y productos cárnicos".
4. ISO 8262:2005 e IDF 124-1:2005, productos lácteos y comidas a base de leche; determinación del contenido de grasa por el método gravimétrico Weibull-Berntrop (método de referencia); p. VI

C. Gerhardt – Calidad Made in Germany

AUTOMATIZACIÓN DE ANÁLISIS NORMALIZADOS

Los sistemas de análisis para laboratorio completamente automáticos de C. Gerhardt son equipos especiales altamente desarrollados. Permiten automatizar procesos recurrentes de análisis conforme a los estándares y normas nacionales e internacionales, proporcionando continuamente resultados precisos y reproducibles de forma rápida y económica con un reducido consumo de recursos y un alto rendimiento.



Estos son algunos de nuestros productos

- + HIDRÓLISIS COMPLETAMENTE AUTOMÁTICA**
 HYDROTHERM – Sistema automático de hidrólisis de ácidos para la determinación de grasa según el método Weibull-Stoldt. En combinación con SOXTHERM® es una solución de sistema ideal para la determinación de la grasa total.
- + EXTRACCIÓN DE GRASA COMPLETAMENTE AUTOMÁTICA**
 SOXTHERM® – sistema de extracción rápida automático para la determinación de grasa.
- + DESTILACIÓN COMPLETAMENTE AUTOMÁTICA DE VAPOR DE AGUA**
 VAPODEST® – Sistema de destilación rápida para la determinación del nitrógeno/de la proteína según Kjeldahl y la destilación de vapor de agua como preparación de muestra para otros tipos de análisis.
- + ANÁLISIS DE NITRÓGENO COMPLETAMENTE AUTOMÁTICO**
 DUMATHERM® – Determinación de nitrógeno y proteínas en muestras sólidas y líquidas utilizando el método de combustión de Dumas. Una alternativa rápida y cómoda al clásico método de Kjeldahl para casi cualquier tipo de matriz.

