

# GUÍA PARA LA DETERMINACIÓN DE GRASA TOTAL EN AGUACATE HASS

*INM/GTT-O/02*

Bogotá D.C.  
2021-11-25  
Versión No.1



## INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGÍA

---

**Carlos Andrés Quevedo**

*Director General*

**Aristides Candelario Dajer Espeleta**

*Secretario General*

**Luz Myriam Gómez Solano**

*Subdirectora de Metrología Química y Biología*

**Xavier Alhim Gómez Sarmiento**

*Subdirector de Metrología Física*

**Gerardo Porras Rueda**

*Subdirector de Servicios Metrológicos y Atención al Ciudadano*

**Juan Pablo Manuel Jiménez Charris**

*Jefe de Oficina Asesora de Planeación*

## EDICIÓN Y REDACCIÓN

---

**Carlos Alberto Fuenmayor Bobadilla**

*Grupo de Investigación Aseguramiento de la Calidad de Alimentos y Desarrollo de Nuevos Productos, ICTA, Universidad Nacional de Colombia.*

**Caroll Edith Cortés Castillo**

*Laboratorio Análisis Físicoquímico de Alimentos, ICTA, Universidad Nacional de Colombia.*

**Jasmin García Piñeros**

*Laboratorio Análisis Físicoquímico de Alimentos, ICTA, Universidad Nacional de Colombia.*

**Silvia Lorena Ramírez Marín**

*Grupo de Metrología en Análisis Orgánico, INM*

**Ivonne Alejandra González Cárdenas**

*Grupo de Metrología en Análisis Orgánico, INM*

## DIAGRAMACIÓN Y FOTOGRAFÍAS

---

**Luisa J. Bernal R.**

**Andrea Acero K.**

**Laura J. Moreno P.**

**ISBN (digital): 978-958-53805-4-7**

## AGRADECIMIENTOS

Esta guía es el resultado del trabajo conjunto entre el Instituto Nacional de Metrología de Colombia - INM, el Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos – ICTA de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá y miembros de la Red Colombiana de Metrología -RCM (Grupo de Trabajo Técnico Temático de Metrología Química). Fue realizada con el apoyo del proyecto ColombiaMide “Calidad para la competitividad- Reduciendo las brechas de calidad en Micro, Pequeñas y Medianas Empresas MIPYME”.

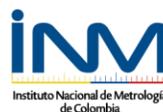
Queremos extender nuestros agradecimientos a la profesora Coralia Osorio, Diana Ayala y Dayana Vega del Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos – ICTA de la Universidad Nacional de Colombia y a todos los miembros del Laboratorio Análisis Físicoquímico de Alimentos del - ICTA que participaron en este proyecto.

De igual manera, agradecemos especialmente a Gina A. Torres L. y Juliana C. Barrios G. del Instituto Nacional de Metrología, quienes aportaron en el desarrollo del proyecto y en la mejora del documento.

A los laboratorios y entidades colaboradoras que aportaron en forma de sugerencias y comentarios que sirvieron de insumo para la construcción del documento que se pone al servicio de la cadena productiva del aguacate Hass en Colombia. Por lo anterior agradecemos a Fundación Universitaria Agraria de Colombia – UNIAGRARIA y David Torres quienes hicieron de este proyecto una realidad.



Implementado por:



## PRESENTACIÓN

El proyecto ColombiaMide “Calidad para la competitividad- Reduciendo las brechas de calidad en Micro, Pequeñas y Medianas Empresas MIPYME” es parte del apoyo complementario implementado entre la Unión Europea y el Ministerio de Comercio, Industria y Turismo en Colombia. ColombiaMide está orientado a mejorar las capacidades metroológicas y de calidad de MIPYME de dos cadenas de valor. El proyecto se encuentra en ejecución desde mayo 2019 por el Instituto Alemán de Metrología (Physikalisch-Technische Bundesanstalt – PTB por su nombre en alemán), con el apoyo del Instituto Nacional de Metrología (INM) e ICONTEC como beneficiarios del proyecto. Para ver los avances del proyecto, consulte la página web: <http://colombiamide.inm.gov.co/>

Las líneas de acción previstas para ejecutar en ColombiaMide son:

- ❖ **Línea de acción 1:** identificación de las necesidades de calidad focalizadas en metrología en dos cadenas de valor en dos regiones priorizadas.
- ❖ **Línea de acción 2:** transferencia de buenas prácticas para los usos de estándares y medición para MIPYME en las regiones priorizadas.
- ❖ **Línea de acción 3:** desarrollo y mejora de las capacidades técnicas de entidades públicas y privadas para la calibración y ensayo que ofrece capacidad instalada en las regiones priorizadas.
- ❖ **Línea de acción 4:** apoyar el desarrollo y fortalecimiento de la capacidad metroológica del INM basados en la priorización de necesidades de las regiones y las cadenas de valor.
- ❖ **Línea de acción 5:** promover el diálogo para lograr la integración de la calidad en las políticas regionales de desarrollo

En el marco de la línea 1, se identificó la necesidad de mejorar las mediciones relacionadas con la determinación de grasa total en aguacate Hass, la cual es una característica que puede emplearse como criterio para estimar el grado de madurez de cosecha, siendo una herramienta apropiada para tomar la decisión del momento óptimo de la recolección de los frutos de aguacate Hass.

## INTRODUCCIÓN

El territorio colombiano cuenta con la ubicación geográfica, condiciones climáticas y la disponibilidad de recursos necesarios para proyectarse como uno de los más grandes productores de aguacate Hass en el mundo (1), además, cuenta con una gran ventaja con respecto a otros países productores y es el hecho de que la capacidad productiva del país permite exportar frutos de aguacate Hass durante todo el año (2). Debido a lo anterior, en la actualidad, el fruto de aguacate colombiano se posiciona como uno de los principales productos en la canasta agroexportadora del país gracias a su sabor, inocuidad y calidad. A pesar de la situación sanitaria ocasionada por el virus SARS Cov – 2, el producto colombiano se ubica como el principal en el mercado europeo en el 2021, superando la participación de los frutos provenientes de Perú, México y Chile, según un estudio realizado por el CIRAD (Centro de Cooperación Internacional en Investigación Agronómica para el Desarrollo de Francia) (3).

En los próximos años, se espera un crecimiento en la producción de aguacate Hass y para que las proyecciones se vuelvan una realidad el sector aguacatero del país debe superar algunos desafíos, como son la creación de estrategias que permitan el cumplimiento de los requisitos de los mercados internacionales promoviendo la tecnificación de los cultivos, diversificación de mercado, admisibilidad sanitaria (4) y mejorando la reputación agrícola en el contexto mundial. Para ello se han venido desarrollando programas que fomentan la certificación de predios productores bajo Buenas Prácticas Agrícolas (BPA), certificación Global G.A.P, certificación orgánica, entre otros, que permiten la disminución de pérdidas del fruto por un manejo irracional de plaguicidas o aspectos referentes a la calidad del aguacate Hass y así mejorar la competitividad y la productividad.

El sabor y la textura determinan la calidad de consumo, y esta última se encuentra muy relacionada con el contenido de aceite del fruto, el cual aumenta a medida que se va dando el proceso de maduración, son esos atributos los que han llevado el aguacate colombiano a las mesas de los consumidores en diferentes países a nivel mundial (5).

A pesar de que el aguacate Hass, se ha convertido en un producto relevante en la economía nacional, los productores aún no cuentan con información precisa para estimar el momento óptimo de la cosecha por medio de indicadores de madurez (2), lo que puede conllevar a inconvenientes en su comercialización debido a que al cosechar los frutos sin un control efectivo, es posible que los frutos no alcancen una homogeneidad en su madurez cuando llegan a su destino lo que se traduce en una disminución de los frutos aprovechables (6). Adicionalmente, cuando los frutos se recolectan antes de que alcancen la madurez adecuada, no se desarrollan por completo todas sus características de calidad y cuando se hace después experimentan una maduración rápida por lo que tienen una vida útil reducida (7).

La calidad del fruto de aguacate Hass está dada por el tamaño, forma, color de la cascara, la ausencia de defectos internos y externos, la textura y el sabor, y es la calidad, el factor determinante en la aceptación del producto colombiano en el exterior. La calidad del fruto depende de factores asociados a las prácticas agrícolas que se dan en la etapa de precosecha y postcosecha, en muchos casos se generan defectos causados por trastornos fisiológicos, contaminación microbiana y el grado inadecuado de madurez de la fruta en el momento de la cosecha (8), que pueden generar pardeamiento de la pulpa de la fruta, decoloración del mesocarpio y pudrición (9).

La maduración del aguacate Hass se inicia al momento de cosechar el fruto, como consecuencia de la interrupción del transporte de componentes desde las hojas al fruto que inhiben este proceso (10). Después de la cosecha, se da un aumento en la tasa de respiración y la producción de etileno en los frutos, que conlleva cambios en el color de la cáscara y su firmeza, siendo este último un parámetro que es relevante en términos de calidad y almacenamiento (11). En este proceso se da un aumento en el contenido de aceite y una reducción de la humedad del fruto por lo que la determinación de contenido graso en el fruto es indicador adecuado de madurez, ya que a diferencia de otras frutas en las que el contenido de azúcar aumenta durante el proceso de maduración es el contenido lipídico el que se incrementa en el aguacate (12). El proceso de maduración produce el ablandamiento del mesocarpio del fruto que se da por solubilización y despolimerización de la pectina de la pared celular a causa de mecanismos enzimáticos propios de los frutos climatéricos (11).

Por lo anterior, se hace indispensable establecer metodologías que permitan la medición de una forma adecuada de los indicadores de madurez como el contenido de grasa en el fruto, y con ello aumentar la rentabilidad de un producto de calidad que permitan el fortalecimiento de este creciente sector en el país. Por lo que se desarrolló esta guía, con el fin de armonizar el método de medición para la determinación del contenido de grasa en aguacate variedad Hass (*Persea americana* Mill. Var. Hass), buscando la uniformidad y la coherencia técnica, fundamentales para garantizar la comparabilidad de mediciones de mensurandos fuertemente dependientes del procedimiento de medición, como el caso presente.

En este sentido, lo consignado en esta guía se constituye en un referente para:

- El Organismo Nacional de Acreditación de Colombia - ONAC.
- Los laboratorios de ensayo que empleen el método o aspectos técnicos consignados en esta guía.

## CONTENIDO

1. OBJETIVO.....	9
2. ALCANCE .....	9
3. ABREVIATURAS, SIGLAS Y SÍMBOLOS .....	9
4. DEFINICIONES .....	10
5. MARCO CONCEPTUAL.....	11
6. EQUIPOS, REACTIVOS Y MATERIALES .....	12
6.1. Equipos .....	12
6.2. Materiales .....	13
6.3. Reactivos.....	14
7. CONSIDERACIONES PREVIAS .....	14
8. PROCEDIMIENTO DE DETERMINACIÓN DE GRASA TOTAL.....	15
8.1. Condiciones ambientales.....	15
8.2 Determinación de Humedad.....	15
8.3. Tarado de los recipientes de extracción .....	15
8.4. Preparación de la muestra .....	16
8.5. Secado de la muestra.....	17
8.6. Hidrólisis ácida .....	18
8.7. Extracción de grasa total.....	20
8.8. Cálculos y tratamiento de datos .....	22
9. EVALUACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE DE MEDICIÓN .....	23
9.1. Definición de mensurando.....	23
9.2. Planteamiento del modelo matemático .....	24
9.3. Identificación de fuentes de incertidumbre .....	24
9.4. Cálculo de coeficientes de sensibilidad .....	25
9.5. Incertidumbre estándar .....	26
9.7. Incertidumbre expandida de medición.....	27
10. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS.....	28
11. ASEGURAMIENTO DE LA VALIDEZ DE LOS RESULTADOS.....	28

12. CALIBRACIÓN DE INSTRUMENTOS DE MEDICIÓN.....	28
13. TRAZABILIDAD METROLÓGICA.....	29
ANEXO A: DETERMINACIÓN DE HUMEDAD EN AGUACATE HASS .....	30
ANEXO B: ESQUEMA DE MEDICIÓN PARA LA DETERMINACIÓN DE GRASA TOTAL EN AGUACATE HASS .....	33
14. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36

## 1. OBJETIVO

Definir el procedimiento de análisis para la determinación del contenido de grasa total en aguacate Hass (*Persea americana* Mill. Var. Hass), por medio del método gravimétrico, mediante la extracción continua (GoldFish o Randall) o semicontinua (Soxhlet) en frutos en un estado de madurez verde con una firmeza superior a 5.1 N, con el fin de asegurar la validez de los resultados y trazabilidad metrológica al Sistema Internacional de Unidades (SI).

## 2. ALCANCE

Esta guía de medición está dirigida a los laboratorios de ensayo interesados en realizar el proceso de medición de grasa total como parámetro de control de calidad del fruto de aguacate Hass o como herramienta para la implementación del servicio de medición. También se encuentra dirigida al Organismo Nacional de Acreditación de Colombia - ONAC como herramienta de evaluación.

El método analítico presentado en esta guía aplica para la determinación de grasa total en muestras de aguacate Hass (*Persea americana* Mill. Var. Hass) en un estado de madurez verde, con una firmeza superior a 5.1 N, por método gravimétrico mediante extracción continua (GoldFish o Randall) o semicontinua (Soxhlet).

**Nota 1:** el intervalo de firmeza se estableció a partir de mediciones realizadas en un equipo TA.XTplus texturer analyser a diferentes frutos de aguacate Hass (*Persea americana* Mill. Var. Hass) en su parte más ancha, con una sonda cilíndrica de 6 mm, bajo las siguientes condiciones:

Velocidad (mm /s)	10.00
Profundidad de penetración (mm)	10.00
Trigger force (g)	25.00

## 3. ABREVIATURAS, SIGLAS Y SÍMBOLOS

<b>cm</b>	Centímetro	<b>U</b>	Incertidumbre expandida
<b>°C</b>	Grados Celsius	<b>mm</b>	Milímetro
<b>g</b>	Gramo	<b>ml</b>	Mililitro
<b>HR</b>	Humedad Relativa	<b>s</b>	Segundo

#### 4. DEFINICIONES

**Aguacate Hass (*Persea americana* Mill. Var. Hass):** es el fruto de *Persea americana* Mill, cuya cáscara es de textura rugosa o semirrugosa, característica uniforme en toda la superficie, su forma es variada desde semiredonda hasta aplanada. Su color característico va del verde mate al negro. Su pulpa es verde amarillento, suave y de textura no fibrosa (tipo mantequilla) (13).

**Blanco de reactivos:** son los reactivos utilizados durante el proceso analítico (incluyendo disolventes utilizados para extracción o disolución), estos son analizados para determinar si contribuyen a la respuesta de la medida (14).

**Epicarpio, epicarpo, exocarpio o exocarpo:** (del griego epi: sobre y karpos: fruto), es la epidermis exterior del ovario. Estructuralmente corresponde a la epidermis del envés de la hoja carpelar del pistilo. En algunos frutos, se le puede desprender manualmente y se le conoce con el “nombre coloquial” de cáscara, piel, o pellejo (15).

**Fruto Climatérico:** fruto que al ser cosechado después de alcanzar la madurez fisiológica, continúa su proceso de maduración. Libera altos niveles de etileno y aumenta de manera notoria la tasa de respiración y el contenido de ácidos grasos (16).

**Madurez Fisiológica:** estado en el cual el fruto ha finalizado su proceso de desarrollo y se da inicio a cambios físicos y químicos para adquirir su madurez de consumo. Esta madurez corresponde al estado en el cual ha alcanzado sus características de apariencia, consistencia, textura, color, sabor y aroma (17).

**Pedúnculo:** tallo por el cual el fruto se adhiere a la planta (16).

**Testa:** tegumento exterior, generalmente coloreado, que envuelve la semilla (15).

Los conceptos presentados a continuación se tomaron del Vocabulario Internacional de Metrología (VIM) 3ª Edición, 2012 (18).

**Calibración:** operación que bajo condiciones especificadas establece, en una primera etapa, una relación entre los valores y sus incertidumbres de medida asociadas obtenidas a partir de los patrones de medida, y las correspondientes indicaciones con sus incertidumbres asociadas y, en una segunda etapa, utiliza esta información para establecer una relación que permita obtener un resultado de medida a partir de una indicación.

**Evaluación tipo A de la incertidumbre de medida:** evaluación de una componente de la incertidumbre de medida mediante un análisis estadístico de los valores medidos obtenidos bajo condiciones de medida definidas.

**Evaluación tipo B de la incertidumbre de medida:** evaluación de una componente de la incertidumbre de medida de manera distinta a una evaluación tipo A de la incertidumbre de medida. Por ejemplo: evaluación basada en informaciones, asociadas a valores publicados y reconocidos; – asociadas al valor de un material de referencia certificado, obtenidas a partir de un certificado de calibración, datos de mediciones anteriores, experiencia o conocimiento general del comportamiento propiedades de materiales e instrumentos y especificaciones del fabricante, entre otros.

**Condición de Repetibilidad:** condición de medición, dentro de un conjunto de condiciones que incluye el mismo procedimiento de medida, los mismos operadores, el mismo sistema de medida, las mismas condiciones de operación y el mismo lugar, así como mediciones repetidas del mismo objeto o de un objeto similar en un periodo corto de tiempo.

**Factor de Cobertura:** número mayor que uno por el que se multiplica una incertidumbre típica combinada para obtener una incertidumbre expandida.

**Incertidumbre de medición:** parámetro no negativo que caracteriza la dispersión de los valores atribuidos a un mensurando, a partir de la información que se utiliza.

**Magnitud:** propiedad de un fenómeno, cuerpo o sustancia, que puede expresarse cuantitativamente mediante un número y una referencia.

**Mensurando:** magnitud que se desea medir.

**Sistema Internacional de Unidades (SI):** sistema de unidades basado en el Sistema Internacional de Magnitudes, con nombres y símbolos de las unidades referentes a las siete magnitudes básicas: longitud, masa, tiempo, corriente eléctrica, temperatura termodinámica, cantidad de sustancia e intensidad luminosa.

**Trazabilidad metrológica:** propiedad de un resultado de medición por la cual dicho resultado puede relacionarse con una referencia mediante una cadena ininterrumpida y documentada de calibraciones, cada una de las cuales contribuye a la incertidumbre de medición.

**Verificación:** aportación de evidencia objetiva de que un elemento dado satisface los requisitos especificados.

## 5. MARCO CONCEPTUAL

Para realizar la determinación de grasa total en diferentes matrices se suele utilizar la extracción con solventes, y el valor obtenido depende del método utilizado (19). Factores como la elección

del solvente de distinta polaridad, el contenido de humedad, el tamaño de partícula, el uso de la hidrólisis ácida o alcalina previa a la extracción en caso de ser necesario, entre otros afectan el valor de grasa encontrado, este resultado hace referencia a la masa de la grasa extraída (20).

Los solventes como el éter etílico, éter de petróleo y n-hexano son ampliamente utilizados en la determinación del contenido de grasa debido a su polaridad y afinidad a compuestos lipídicos, para ello es importante partir de una muestra seca previamente, ya que el agua presente disminuye la eficiencia en la extracción (21).

La hidrólisis ácida ayuda a eliminar el efecto de la matriz ya que en algunos casos existe una porción significativa de lípidos ligados a proteínas y carbohidratos que no se pueden extraer con solventes no polares directamente, por lo que se debe recurrir a una hidrólisis previa a la etapa de extracción.

En la Norma Técnica Colombiana NTC 6345:2019 Frutas frescas. Aguacate Variedad Hass. Especificaciones se encuentra como requisito específico que el contenido mínimo de grasa, en estado de madurez de cosecha, debe ser mínimo del 12.0 % (fracción en masa) en base húmeda bajo la norma AOAC 963.15-1973, Fat in Cacao Products - Soxhlet Extraction Met (16).

En la determinación del contenido de grasa total en aguacate Hass, se somete la muestra a un proceso de secado, seguido de una hidrólisis ácida y posteriormente a una extracción continua o semicontinua de grasa con un solvente en ebullición. Del extracto resultante, se evapora el solvente en cabina de extracción, el residuo se seca a una temperatura aproximada de 100 °C por dos horas y finalmente se pesa para determinar gravimétricamente el contenido de grasa total presente en la muestra, teniendo en cuenta la humedad. El procedimiento de esta guía esta propuesto con base en la metodología AOAC 963.15-1973, Fat in Cacao Products - Soxhlet Extraction Met (22)

## 6. EQUIPOS, REACTIVOS Y MATERIALES

### 6.1. Equipos

- Balanza analítica con división de escala mínima de 0.1 mg.
- Horno o estufa de secado: horno de convección forzada y de calentamiento eléctrico, con capacidad de alcanzar 100 °C, de manera tal que permita controlar que la variación de temperatura durante el análisis no exceda los 5 °C.
- Plancha de calentamiento.
- Termohigrómetro.



- Perlas de ebullición.

### 6.3. Reactivos

- Bencina o éter de petróleo (40-60) °C: Mezcla de diferentes hidrocarburos líquidos con un intervalo de ebullición 40 °C - 60 °C.

*Nota 2: El n-hexano también puede ser utilizado como solvente de extracción.*

- Agua Destilada.
- Solución de ácido Clorhídrico (HCl) 8 N : preparada a partir de una dilución de ácido clorhídrico grado analítico al 37 % con agua destilada.
- Solución de nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$ ) 0.1 N.

### 7. CONSIDERACIONES PREVIAS

- El material desecante del desecador debe encontrarse activado o regenerado previamente.
- Contar con cajas de Petri limpias y secas
- La estufa/horno de secado debe tener una capacidad de recuperación de temperatura, después de apertura (p. ej. Para ingresar las muestras) de máximo 30 minutos.
- Durante el secado de las muestras ó los extractos, no abrir la estufa/horno de secado, ni introducir nada diferente a las muestras que se están analizando.
- Los recipientes de extracción de vidrio deben ser manipulados con pinzas de crisol.
- Asegurar que el flujo del agua de refrigeración del equipo de extracción con solventes sea el adecuado, para evitar evaporación del solvente.
- Realizar seguimiento de las condiciones ambientales durante el proceso de pesaje, y asegurar que se encuentren dentro de los parámetros establecidos en el numeral 8.1.

## 8. PROCEDIMIENTO DE DETERMINACIÓN DE GRASA TOTAL

La determinación del contenido de grasa total en aguacate Hass (*Persea americana*. Mill. Var. Hass), se lleva a cabo en frutos que cuenten con la firmeza definida en el alcance (numeral 2) y se realiza en diferentes etapas haciendo un seguimiento de las condiciones ambientales en cada una de ellas; en primera instancia se realiza el tarado de los recipientes de vidrio utilizados en la extracción de grasa, posteriormente se lleva a cabo la preparación de la muestra y el desarrollo experimental para la medición del contenido de grasa total; por último, se lleva a cabo el tratamiento de los datos obtenidos y evaluación de la incertidumbre. Para poder reportar el valor obtenido del contenido de grasa total en base húmeda se debe realizar la determinación de humedad de la muestra a analizar de manera simultánea para evitar la degradación.

### 8.1. Condiciones ambientales

Las mediciones se deben realizar en condiciones de humedad relativa menores al 65 % HR. -Se sugiere realizar este procedimiento a temperaturas inferiores a 25 °C.

### 8.2 Determinación de Humedad

Para realizar la determinación de humedad sobre una muestra de aguacate Hass al que se le hará la medición de grasa total, se recomienda seguir los lineamientos que se encuentran en el Anexo A.

### 8.3. Tarado de los recipientes de extracción

8.3.1 Lavar los recipientes de extracción de vidrio sobre los cuales se realizará la extracción, con agua y jabón neutro, adicionar las perlas de ebullición en caso de ser necesario y secar.

**Nota 3:** se recomienda marcar los recipientes antes del tarado.

8.3.2 Programar la estufa/horno de secado a la temperatura de secado del residuo oleoso a 100 °C, por lo menos 30 minutos antes de iniciar el tarado de los recipientes de extracción.

- 8.3.3 Disponer los recipientes de vidrio, en la estufa/horno de secado a 100 °C durante mínimo 60 minutos.
- 8.3.4 Transcurrido este tiempo, transferir los recipientes de vidrio, rápidamente, a un desecador; dejar allí hasta que alcancen temperatura ambiente (aproximadamente 60 minutos).

#### 8.4. Preparación de la muestra

Para una correcta determinación de grasa total en aguacate Hass el procesamiento de la muestra debe realizarse en el menor tiempo posible para evitar la degradación de la matriz.

- 8.4.1. Tomar los frutos de aguacate que tengan una firmeza superior a la definida en el alcance de esta guía (de preferencia en buen estado físico, sin signos de daño mecánico o presencia de plagas) y cortarlos longitudinalmente como se observa en la figura 1-a.

**Nota 4:** por facilidad en el rallado, antes del corte longitudinal se recomienda cortar el fruto por la parte superior a 1 cm o 2 cm del pedúnculo como se observa en la figura 1-b.

- 8.4.2. Retirar la mayor parte de la cáscara (epicarpio) como se observa en la figura 1-c.



**Figura 1.** a) Corte longitudinal. b) Corte del pedúnculo. c) Proceso de pelado del aguacate Hass (*Persea americana* Mill. Var. Hass).

#### 8.4.3. Remover la semilla y la testa, asegurando retirarla completamente.

**Nota 5:** procure retirar por completo los componentes diferentes a la pulpa del fruto de aguacate ya que la medición del contenido de grasa total se puede ver afectada si quedan restos de éstos en la muestra.

#### 8.4.4. Rallar la pulpa del fruto.

**Nota 6:** una vez rallada la muestra, se sugiere almacenarla en un recipiente con tapa (se recomienda que la cantidad de muestra no supere el 50 % de la capacidad del recipiente para facilitar la homogenización).

### 8.5. Secado de la muestra

Para la determinación del contenido de grasa total, la muestra de aguacate Hass debe secarse previamente y deben realizarse al menos, cuatro réplicas de medición.

8.5.1 Programar la estufa/horno de secado a 70 °C, por lo menos 30 minutos antes de disponer la muestra.

8.5.2 Homogenizar la muestra siempre antes de realizar el pesado; para ello, agitar por inversión manual la muestra rallada.

**Nota 7:** esta agitación debe realizarse suavemente con el propósito de evitar deterioro de la muestra en estudio.

8.5.3 Pesar como mínimo 67 g de muestra homogenizada en las cajas de Petri.

**Nota 8:** se sugiere que la muestra quede repartida en todo el recipiente y no supere los 0.5 cm de altura en ningún punto del recipiente. Usar la cantidad de recipientes de secado que sean necesarios para no superar la capacidad descrita anteriormente.

8.5.4 Colocar los recipientes de secado que contienen la muestra, en el centro de la estufa/horno de secado y secar a 70 °C por 16 horas.

8.5.5 Transcurrido este tiempo, llevar rápidamente a un desecador y dejar enfriar hasta temperatura ambiente. Posteriormente homogenizar siguiendo los lineamientos del numeral 8.5.2 y continuar con la hidrólisis ácida (numeral 8.6).

**Nota 9:** una vez seca la muestra, se sugiere almacenarla en un recipiente con tapa (se recomienda que la cantidad de muestra no supere el 50 % de la capacidad del recipiente).

## 8.6. Hidrólisis ácida

- 8.6.1 Homogenizar la muestra seca obtenida en el numeral 8.5, teniendo en cuenta la recomendación descrita en la nota 7.
- 8.6.2 En un erlenmeyer pesar  $2.25 \text{ g} \pm 0.25 \text{ g}$  de muestra seca.
- 8.6.3 Registrar el valor de la *masa de la muestra seca* ( $M_2$ ).
- 8.6.4 Adicionar lentamente y con agitación constante, 45 ml de agua en ebullición al erlenmeyer que contiene la muestra.

**Nota 10:** se recomienda agitar manualmente para evitar la pérdida de muestra en los agitadores.

- 8.6.5 Adicionar 55 ml de la solución de ácido clorhídrico 8 N.

**Nota 11:** se sugiere adicionar algunas perlas de ebullición y asegurarse que queden bien distribuidas para evitar ebullición turbulenta, salpicaduras y pérdida de la muestra.

**Nota 12:** se recomienda adicionar cuidadosamente la solución de ácido por las paredes del erlenmeyer.

- 8.6.6 Tapar rápidamente el erlenmeyer con un vidrio de reloj.
- 8.6.7 Calentar a ebullición durante 15 minutos.
- 8.6.8 Pasado ese tiempo, suspender el calentamiento y lavar el vidrio de reloj con 100 ml de agua destilada, recogiendo el agua de lavado dentro del erlenmeyer.
- 8.6.9 Filtrar el contenido del erlenmeyer, utilizando un embudo de filtración, como se observa en la figura 2.



Figura 2. Filtración de la muestra hidrolizada.

8.6.10 Lavar con agua destilada caliente las paredes del erlenmeyer usado para la hidrólisis y adicionar el lavado a la muestra hidrolizada para lograr una transferencia cuantitativa, como se observa en la figura 3.



Figura 3. a) Lavado del Erlenmeyer utilizado para la hidrólisis. b) Adición del lavado a la muestra hidrolizada

8.6.11 Lavar con agua destilada caliente el residuo, hasta la ausencia de cloruros (nota 14).

**Nota 13:** se recomienda lavar con pequeños volúmenes de agua destilada caliente para evitar que disminuya la temperatura de la muestra hidrolizada.

**Nota 14:** para evaluar la presencia de cloruros, se toman entre 5 a 10 gotas del filtrado en un tubo de ensayo (o vidrio de reloj) limpio y seco y se le adiciona 1 gota de la solución de  $\text{AgNO}_3$  0.1 N, si se observa turbidez o algún precipitado es necesario continuar con el lavado.

8.6.12 Finalizado el lavado del residuo, doblar cuidadosamente el papel filtro, asegurando que no se presente ninguna pérdida de la muestra hidrolizada que contiene la grasa a ser extraída.

8.6.13 Introducir el papel filtro que contiene la muestra hidrolizada dentro de un dedal de extracción.

8.6.14 Programar la estufa/horno de secado a 70 °C, por lo menos 30 minutos antes de disponer el erlenmeyer usado para la hidrólisis y el dedal de extracción.

8.6.15 Colocar el dedal con la muestra y el erlenmeyer usado para la hidrólisis por separado en la estufa/horno de secado y secar a 70 °C por 16 horas.

8.6.16 Transcurrido el tiempo, disponer el dedal de extracción con la muestra hidrolizada y el erlenmeyer en un desecador hasta que alcancen temperatura ambiente y proceder con el numeral 8.7.

## 8.7. Extracción de grasa total

Por cada grupo de mediciones se recomienda incluir un (1) blanco.

8.7.1 Iniciar el reflujo de enfriamiento a través del equipo de extracción.

8.7.2 Pesar los recipientes de extracción vacíos (tarados según el numeral 8.3).

**Nota 15:** las perlas de ebullición también deberán pesarse junto con el recipiente de extracción a usar.

8.7.3 Registrar el valor de masa y el número de identificación del recipiente de extracción. Esta masa será denominada como “Masa de recipiente de extracción vacío” ( $M_1$ ), en el caso

del blanco será denominada como “Masa del recipiente de extracción del blanco vacío” ( $M_{bi}$ ).

8.7.4 Colocar los dedales de extracción con la muestra hidrolizada bajo la columna de extracción del equipo.

8.7.5 Lavar el erlenmeyer usado para la hidrólisis con tres porciones de bencina de petróleo o n-hexano, recibiendo el lavado en el recipiente de extracción, de manera que el volumen final sea 100 ml de solvente.

**Nota 16:** *adicionar el lavado con bencina de petróleo o n-hexano a los recipientes de extracción en el menor tiempo posible para evitar pérdidas por evaporación.*

8.7.6 Ubicar cada recipiente en los espacios designados en el equipo de extracción y ajustar todo el sistema.

8.7.7 Encender el equipo y ajustar las condiciones de extracción acorde con el programa de extracción descrito en la tabla 1.

**Tabla 1.** Programa de extracción de grasa en aguacate Hass

Metodología	Parámetro	Temperatura (°C)	Tiempo (horas)
Extracción Continua (Randall o GoldFish)	Inmersión	110	1.5
	Goteo	110	1
Extracción Semicontinua (Soxhlet)	Goteo	110	4

8.7.8 Dar inicio al programa de extracción.

8.7.9 Al finalizar el programa, dejar enfriar los recipientes de extracción hasta una temperatura inferior a 40 °C y llevarlos con precaución, a una cabina de extracción hasta la evaporación casi total del solvente.

8.7.10 Apagar el equipo y luego detener el reflujo de enfriamiento.

8.7.11 Programar la estufa/horno de secado a 100 °C, por lo menos 30 minutos antes de disponer los recipientes de extracción con el residuo oleoso.

- 8.7.12 Llevar los recipientes de extracción con el residuo a la estufa a 100 °C por un periodo de dos (2) horas.
- 8.7.12 Transcurrido este tiempo, llevar los recipientes de extracción con el residuo oleoso rápidamente a un desecador y dejar enfriar hasta temperatura ambiente (aproximadamente por 60 minutos).
- 8.7.13 Pesarse los recipientes de extracción con la fracción de grasa y registrar el valor “Masa del recipiente de extracción y la fracción de grasa” ( $M_3$ ), en el caso del blanco será denominada como “Masa del recipiente de extracción del blanco con la fracción de grasa” ( $M_{bf}$ ).

### 8.8. Cálculos y tratamiento de datos

El contenido de grasa total en base seca se expresa como porcentaje en fracción másica en base húmeda, empleando la ecuación 3. Para ello, se utiliza el valor de humedad, la masa del residuo obtenida de la extracción de la muestra hidrolizada, la masa del recipiente de extracción vacío, la masa de la muestra corregida con la humedad (ecuación 2) y el blanco, calculado con la ecuación 1.

$$M_B = M_{bf} - M_{bi} \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde:

$M_B = (g)$  masa de grasa del blanco (residuo final).

$M_{bf} = (g)$  Masa del recipiente de extracción del blanco vacío.

$M_{bi} = (g)$  Masa del recipiente de extracción y la fracción de grasa del blanco (residuo final).

$$M_{mc} = \left( \frac{M_2}{1 - \left( \frac{\%H}{100} \right)} \right) \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde:

$M_{mc} = (g)$  Masa de la muestra húmeda.

$M_2 = (g)$  Masa de la muestra seca.

$\% H = (g/100 g)$  humedad.

$$\% G = \left( \frac{M_3 - M_1 - M_B}{M_{mc}} \right) \times 100 \quad \text{Ecuación 3}$$

Donde:

$\% G = (g/100 g)$  contenido de grasa.

$M_1 = (g)$  Masa del recipiente de extracción vacío (incluido perlas de ebullición si es requerido).

$M_{mc} = (g)$  Masa de la muestra húmeda.

$M_3 = (g)$  Masa del recipiente de extracción y la fracción de grasa (residuo final).

$M_B = (g)$  Masa de residuo del blanco (residuo final).

Para el tratamiento de los datos obtenidos durante la determinación de grasa total, se deben tener en cuenta las siguientes consideraciones:

- ✓ Calcular el promedio y la desviación estándar de las réplicas realizadas.
- ✓ Calcular el coeficiente de variación de las réplicas.
- ✓ Evaluar la incertidumbre de la medición, siguiendo con los lineamientos del numeral 9.

## 9. EVALUACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE DE MEDICIÓN

La estimación de la incertidumbre asociada a la determinación de grasa en aguacate Hass se realiza con base en los lineamientos presentados en la Guía para la Estimación de la Incertidumbre GUM (23). Los pasos para la evaluación se presentan en los siguientes numerales:

### 9.1. Definición de mensurando

El mensurando está definido como el contenido de grasa total en Aguacate Hass (*Persea americana* Mill. Var. Hass) expresado en fracción másica.

## 9.2. Planteamiento del modelo matemático

El modelo matemático que representa el porcentaje de grasa está definido por la siguiente ecuación:

$$\% G = \left[ \frac{M_3 - M_1 - (M_{bf} - M_{bi})}{\left( \frac{M_2}{1 - \left( \frac{\% H}{100} \right)} \right)} \right] \times 100 \times R \times T \quad \text{Ecuación 4}$$

Donde:

- % G* Resultado en porcentaje de la medición.
- M<sub>3</sub>* Masa del recipiente de extracción y la fracción de grasa (residuo final).
- M<sub>2</sub>* Masa de la muestra seca.
- M<sub>1</sub>* Masa del recipiente de extracción de la muestra vacío.
- M<sub>bi</sub>* Masa del recipiente de extracción del blanco vacío.
- M<sub>bf</sub>* Masa del recipiente de extracción y la fracción de grasa del blanco (residuo final).
- R* Repetibilidad.
- T* Temperatura del horno/estufa de secado (obtención del residuo).
- % H* Humedad

Los términos R y T se incluyen en el modelo de cálculo con el fin de incorporar el aporte de la repetibilidad y la temperatura a la incertidumbre de medición. Para efectos de cálculo del contenido de grasa total, valor de R y T es 1.

## 9.3. Identificación de fuentes de incertidumbre

Las fuentes de incertidumbre asociadas a la determinación del contenido de grasa en aguacate Hass se presentan a continuación.

- u (*M<sub>3</sub>*) Masa del recipiente de extracción y la fracción de grasa (residuo final).
- u (*M<sub>2</sub>*) Masa de la muestra seca.
- u (*M<sub>1</sub>*) Masa del recipiente de extracción de la muestra vacío.
- u (*M<sub>bf</sub>*) Masa del recipiente de extracción y la fracción de grasa del blanco (residuo final).
- u (*M<sub>bi</sub>*) Masa del recipiente de extracción del blanco vacío.
- u (*R*) Repetibilidad.

u (T) Temperatura (obtención del residuo).

u (H) Humedad.

#### 9.4. Cálculo de coeficientes de sensibilidad

Los coeficientes de sensibilidad se obtienen derivando el modelo matemático en función de cada una de las variables que son fuente de incertidumbre. Para esto se emplea la siguiente ecuación general:

$$C_i = \frac{\Delta \%G_{(M_i,R,T,H)}}{\Delta V_{variable}} = \frac{d \%G_{(M_i,R,T,H)}}{d V_{variable}} \quad \text{Ecuación 5}$$

Las variables del contenido de grasa total se encuentran definidas en el numeral 9.3. Los coeficientes de sensibilidad se encuentran definidos en la tabla 2.

**Tabla 2.** Ecuaciones derivadas para calcular los coeficientes de sensibilidad

Fuente de Incertidumbre	Ecuación
Masa recipiente de extracción y la fracción de grasa ( $M_3$ )	$\frac{100-\%H}{M_2}$ <i>Ecuación 6</i>
Masa muestra ( $M_2$ )	$\frac{(M_3-M_1-M_{bf}+M_{bi}) \times (\%H-100)}{M_2^2}$ <i>Ecuación 7</i>
Masa del recipiente de extracción de la muestra vacío ( $M_1$ )	$\frac{\%H-100}{M_2}$ <i>Ecuación 8</i>
Masa del recipiente de extracción y la fracción de grasa del blanco ( $M_{bf}$ )	$\frac{\%H-100}{M_2}$ <i>Ecuación 9</i>
Masa del recipiente de extracción del blanco vacío ( $M_{bi}$ )	$\frac{100-\%H}{M_2}$ <i>Ecuación 10</i>
Humedad	$\frac{(M_1-M_3+M_{bf}-M_{bi})}{M_2}$ <i>Ecuación 11</i>
Temperatura	Determinación experimental
Repetibilidad	1

**Nota 17:** el coeficiente de sensibilidad asociado con la incertidumbre de la temperatura de secado puede evaluarse de manera experimental observando el cambio en el contenido de materia seca cuando se emplean temperaturas en un intervalo representativo al que se somete la muestra durante la medición (24).

### 9.5. Incertidumbre estándar

La incertidumbre estándar para cada una de las fuentes en la determinación de grasa se evalúa por medio de las ecuaciones dadas en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Ecuaciones para calcular la incertidumbre estándar para cada una de las fuentes de aporte

Fuente de Incertidumbre	Tipo de evaluación	Ecuaciones
Masa recipiente de extracción y la fracción de grasa ( $M_3$ ) <sup>1</sup>	Tipo B	$u(M_n) = \sqrt{u^2(R) + u^2(E)}$ <i>Ecuación 12</i>
Masa muestra ( $M_2$ ) <sup>1</sup>		
Masa del recipiente de extracción de la muestra vacío ( $M_1$ ) <sup>1</sup>		
Masa del recipiente de extracción y la fracción de grasa del blanco ( $M_{bf}$ ) <sup>1</sup>		
Masa del recipiente de extracción del blanco vacío ( $M_{bi}$ ) <sup>1</sup>		
Repetibilidad <sup>2</sup>	Tipo A	$u(R) = \frac{\text{desviación estándar}}{\sqrt{n}}$ <i>Ecuación 13</i>
Temperatura (estufa/horno) de secado <sup>3</sup>	Tipo B	$u(T) = \frac{\Delta T}{\sqrt{3}}$ <i>Ecuación 14</i>

<sup>1</sup>. Las incertidumbres estándar de las masas del recipiente vacío, muestra y residuo están conformadas por la combinación de la incertidumbre por resolución ( $u(R)$ ) y la del error ( $u(E)$ ) de la balanza utilizada.

<sup>2</sup>. Dado que su evaluación experimental, este puede expresarse como la dispersión de  $n$  observaciones independientes. Tome  $n$  como el número de réplicas que realizaron.

<sup>3</sup>.  $\Delta T$  hace referencia a la variación de temperatura en el horno especificada por el fabricante a la temperatura de trabajo (70° C).

## 9.6. Incertidumbre estándar combinada

La expresión general para estimar la incertidumbre estándar combinada para la determinación del contenido de grasa consiste en la raíz de la suma de cuadrados del producto entre el coeficiente de sensibilidad y la incertidumbre estándar de cada fuente de incertidumbre, como se presenta a continuación por medio de la siguiente ecuación:

$$u = \sqrt{(C_{i_{M_3}} u(M_3))^2 + (C_{i_{M_2}} u(M_2))^2 + (C_{i_{M_1}} u(M_1))^2 + (C_{i_{M_f}} u(M_{bf}))^2 + (C_{i_{M_i}} u(M_{bi}))^2 + (C_{i_R} u(R))^2 + (C_{i_T} u(T))^2 + (C_{i_H} u(H))^2}$$

. Ecuación 15

## 9.7. Incertidumbre expandida de medición

La incertidumbre expandida se obtiene al multiplicar la incertidumbre estándar combinada por un factor de cobertura (k), según la ecuación 16.

$$U = k \times u \quad \text{Ecuación 16}$$

El valor k se obtiene del valor tabulado para una distribución *t-Student* a un nivel de confianza definido (95 %) y un número de grados efectivos de libertad obtenido de las diferentes fuentes de incertidumbre con base en la ecuación de *Welch-Satterthwaite*, la cual se presenta a continuación:

$$v_{eff} = \frac{u(y)^4}{\sum_{i=1}^n \frac{u_i(y)^4}{v_i}} \quad \text{Ecuación 17}$$

Donde:

u(y)	Incertidumbre estándar combinada para las n fuentes.
u <sub>i</sub> (y)	Incertidumbre estándar para la fuente i.
V <sub>i</sub>	Grados de libertad para la fuente i.
V <sub>eff</sub>	Grados de libertad efectivos.

## 10. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

El laboratorio debe presentar el informe de resultados de este ensayo considerando los requisitos indicados en la versión vigente de la norma ISO/IEC 17025. Los resultados se deben presentar de manera clara, inequívoca y objetiva. Se debe incluir toda información necesaria para la identificación de la muestra, la interpretación de los resultados de medición y una descripción del método utilizado (28). Adicionalmente, se recomienda incluir en el informe de ensayo lo siguiente (25):

1. **Condiciones ambientales:** En esta sección se reporta: el valor máximo de humedad relativa (HR) y la temperatura, medidas durante la determinación de grasa total.
2. **Solvente de extracción:** Se debe reportar el solvente de extracción utilizado en la determinación de grasa total.
3. **Resultado de medición:** Se debe reportar el valor promedio de al menos cuatro réplicas de medición realizadas, el promedio del valor de humedad, acompañado de su incertidumbre expandida asociada, factor de cobertura y declaración del nivel de confianza.

## 11. ASEGURAMIENTO DE LA VALIDEZ DE LOS RESULTADOS

Con los resultados obtenidos de las cuatro mediciones de grasa total, **bajo condiciones de repetibilidad**, calcular el coeficiente de variación (% CV) de las determinaciones de la misma muestra.

**Criterio de aceptación:** Se sugiere que el coeficiente de variación sea menor o igual a 3.0 %.

**Verificación para incumplimiento de criterio:** Se recomienda repetir el ensayo. Si persiste, revisar las condiciones ambientales bajo las cuales se realizó la medición, la homogeneidad de la muestra.

## 12. CALIBRACIÓN DE INSTRUMENTOS DE MEDICIÓN

- ✓ Antes de iniciar las actividades de pesaje verificar que la balanza seleccionada cuenta con calibración vigente y mantenimiento adecuado, según lo estipulado por el laboratorio.
- ✓ La balanza y las pesas de verificación deberán contar con certificado de calibración vigente.
- ✓ Los equipos empleados, cuando aplique, deben contar con calibraciones, calificación, caracterización, verificaciones y/o mantenimientos vigentes.

### 13. TRAZABILIDAD METROLÓGICA

El contenido de grasa en aguacate Hass se determina como una relación de masas, de allí que la trazabilidad metrológica está dada hacia el kilogramo, como la unidad de masa en el Sistema Internacional, y de acuerdo con esto, la cadena de trazabilidad metrológica se fundamenta en los patrones de masa.

Por lo anterior, el laboratorio debe asegurar que la balanza usada en la medición está calibrada por un ente certificado y el certificado expedido se encuentre vigente; dicho certificado debe identificar la trazabilidad metrológica a patrones nacionales o internacionales de medición y su incertidumbre de medición. Con eso se establece la cadena de trazabilidad hasta el kilogramo. En la cadena de trazabilidad se establece la secuencia que relaciona el valor del resultado y su incertidumbre con la unidad del Sistema Internacional; en cada etapa, se deberá especificar el valor o alcance y la incertidumbre de medición en donde se evidencie la cadena ininterrumpida de calibraciones, así como la documentación que se encuentre asociada (certificados, informes, procedimientos, entre otros).

## ANEXO A: DETERMINACIÓN DE HUMEDAD EN AGUACATE HASS

La determinación del contenido de humedad se lleva a cabo siguiendo el procedimiento descrito en la metodología propuesta en la guía de medición para la determinación de materia seca en aguacate Hass por secado en estufa convencional (26) y el tratamiento de datos por medio de la ecuación a.

**Nota:** La determinación de humedad se puede llevar a cabo a 70 °C por 16 horas, siguiendo el procedimiento anteriormente mencionado.

### a.1 Cálculos y tratamiento de datos

El contenido de materia seca se expresa como porcentaje en fracción másica del promedio de al menos, cuatro mediciones de la misma muestra, empleando la siguiente ecuación.

$$\% H = \frac{(M_a + M_b) - M_c}{M_b} \times 100 \quad \text{Ecuación a}$$

Donde:

$\% H = (g/100 g)$  humedad.

$M_a = (g)$  Masa de la capsula vacía y su tapa.

$M_b = (g)$  Masa de la muestra fresca.

$M_c = (g)$  Masa de la capsula con la tapa y la muestra seca (residuo final).

### a.2 Evaluación de la incertidumbre de medición

La estimación de la incertidumbre asociada a la determinación de humedad en aguacate Hass se realiza con base en los lineamientos presentados en la Guía para la Estimación de la Incertidumbre GUM.

#### a.2.1 Definición de mensurando

El mensurando está definido como la humedad de grasa en Aguacate Hass (*Persea americana* Mill. Var. Hass) expresado en fracción másica.

### a.2.2. Planteamiento del modelo matemático

El modelo matemático que representa el porcentaje de humedad está definido por la siguiente ecuación:

$$\% H = \frac{(M_a + M_b) - M_c}{M_b} \times 100 \times R \times T \times H_{cte} \quad \text{Ecuación b}$$

### a.2.3. Identificación de fuentes de incertidumbre

Las fuentes de incertidumbre asociadas a la determinación de humedad se presentan a continuación.

u (M <sub>3</sub> )	Masa de la cápsula con tapa y muestra seca (residuo final).
u (M <sub>2</sub> )	Masa muestra fresca.
u (M <sub>1</sub> )	Masa de la cápsula vacía con tapa.
u (R)	Repetibilidad.
u (T)	Temperatura.
u (H <sub>cte</sub> )	Peso Constante.

### a.2.4. Cálculo de coeficientes de sensibilidad

Los coeficientes de sensibilidad se obtienen derivando el modelo matemático en función de cada una de las variables que son fuente de incertidumbre. Para esto se emplea la siguiente ecuación general:

$$C_i = \frac{\Delta \% H_{(M,R,T,H_{cte})}}{\Delta V_{variable}} = \frac{d \% H_{(M,R,T,H_{cte})}}{dV_{variable}} \quad \text{Ecuación c}$$

Las variables tanto para humedad como para el contenido de grasa se encuentran definidas en el numeral a.2.3. Los coeficientes de sensibilidad se encuentran definidos en la tabla a.

**Tabla a.** Ecuaciones para calcular los coeficientes de sensibilidad

Fuente de Incertidumbre	Ecuación
Masa de la cápsula con tapa y muestra seca ( $M_3$ )	$-\frac{100}{M_b}$ Ecuación d
Masa muestra fresca ( $M_2$ )	$-\frac{100(M_a - M_c)}{M_b^2}$ Ecuación e
Masa de la cápsula vacía con tapa ( $M_1$ )	$\frac{100}{M_b}$ Ecuación f
Peso Constante	1
Temperatura	Determinación experimental
Repetibilidad	1

**Nota:** el coeficiente de sensibilidad asociado con la incertidumbre de la temperatura de secado puede evaluarse, al igual que en el contenido de grasa total, de manera experimental observando el cambio en el contenido de humedad cuando se emplean temperaturas en un intervalo representativo al que se somete la muestra durante la medición

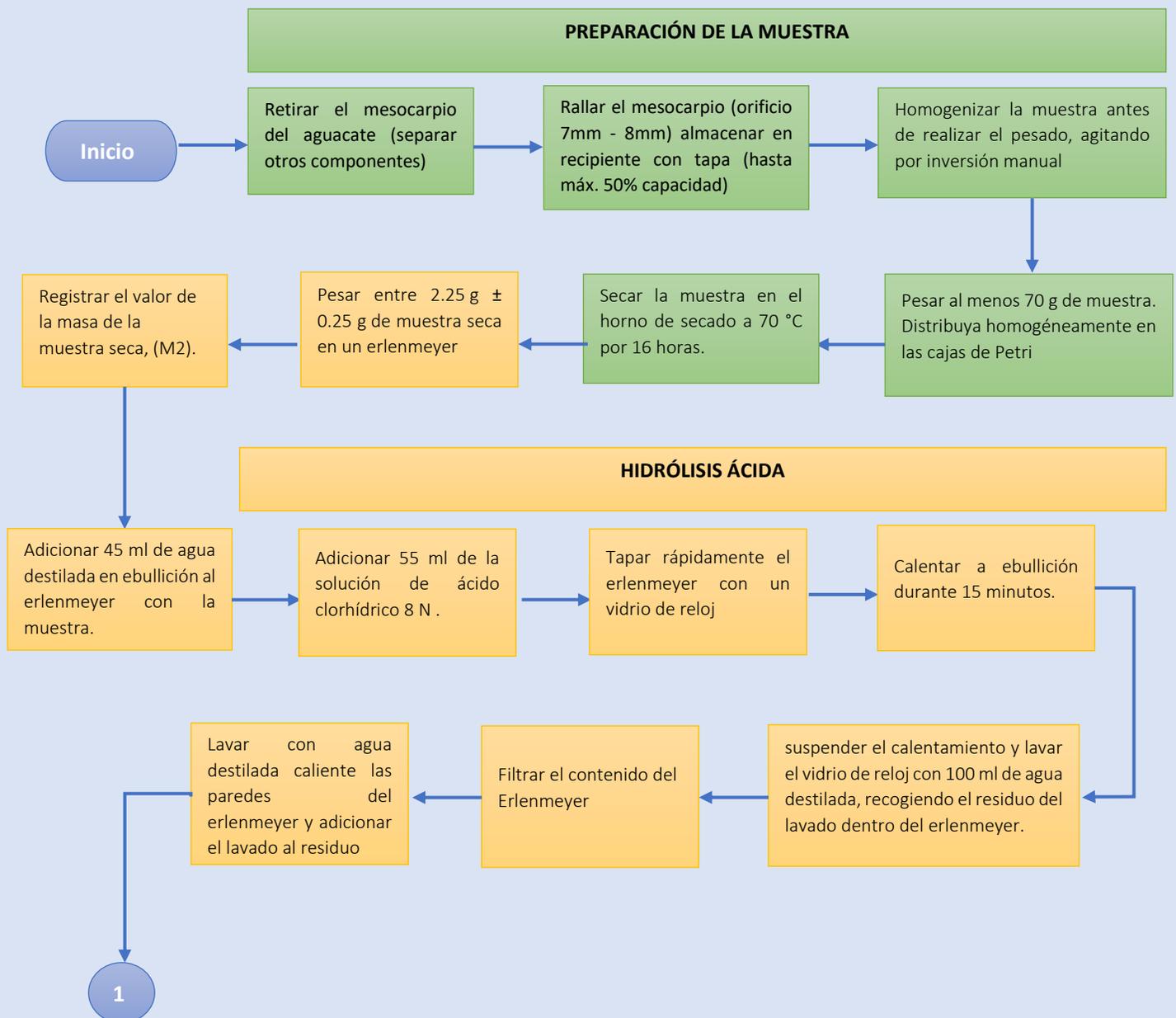
#### a.2.5. Incertidumbre estándar

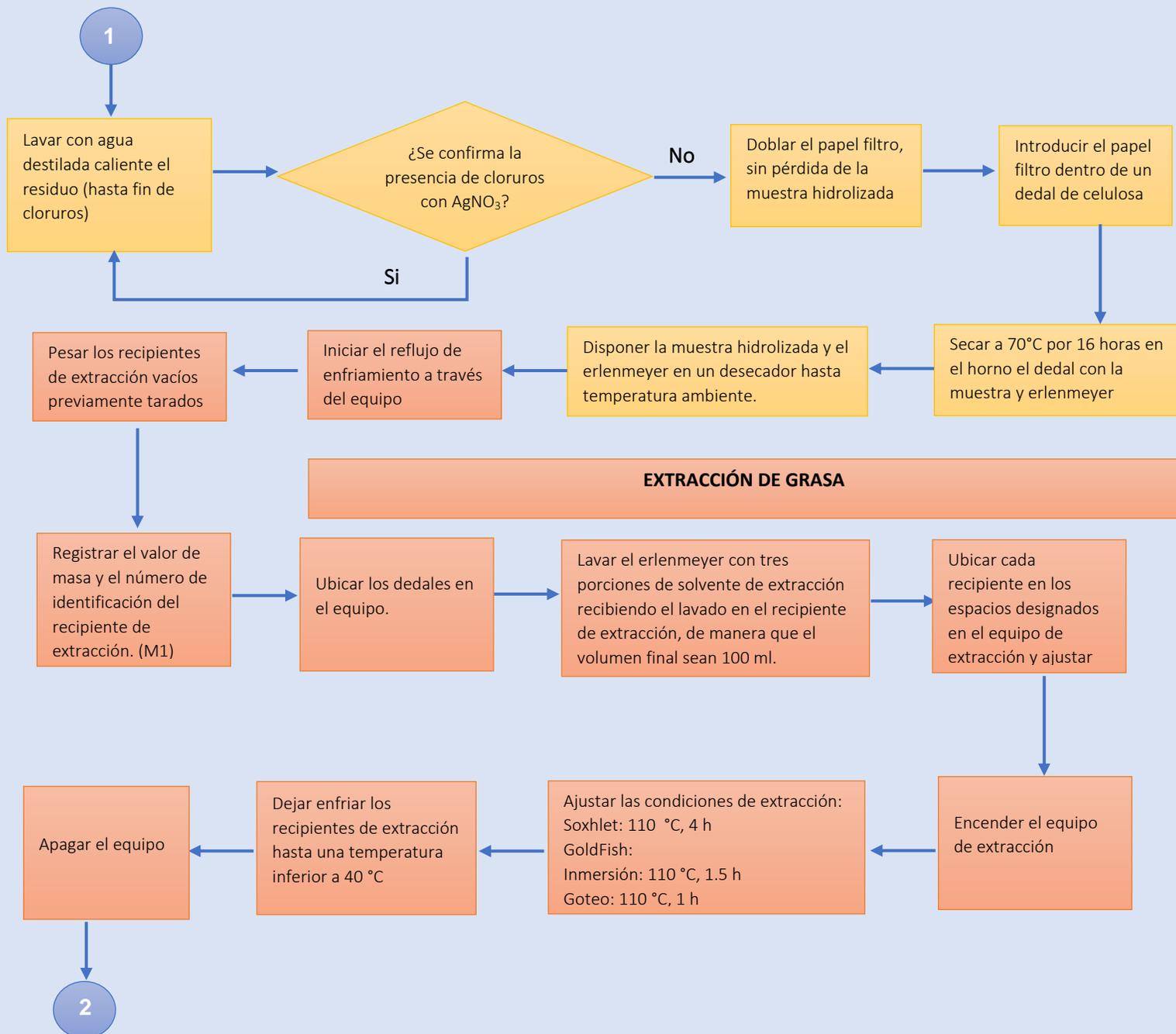
La incertidumbre estándar para cada una de las fuentes en la determinación de humedad se evalúa por medio de las ecuaciones dadas en la Tabla b.

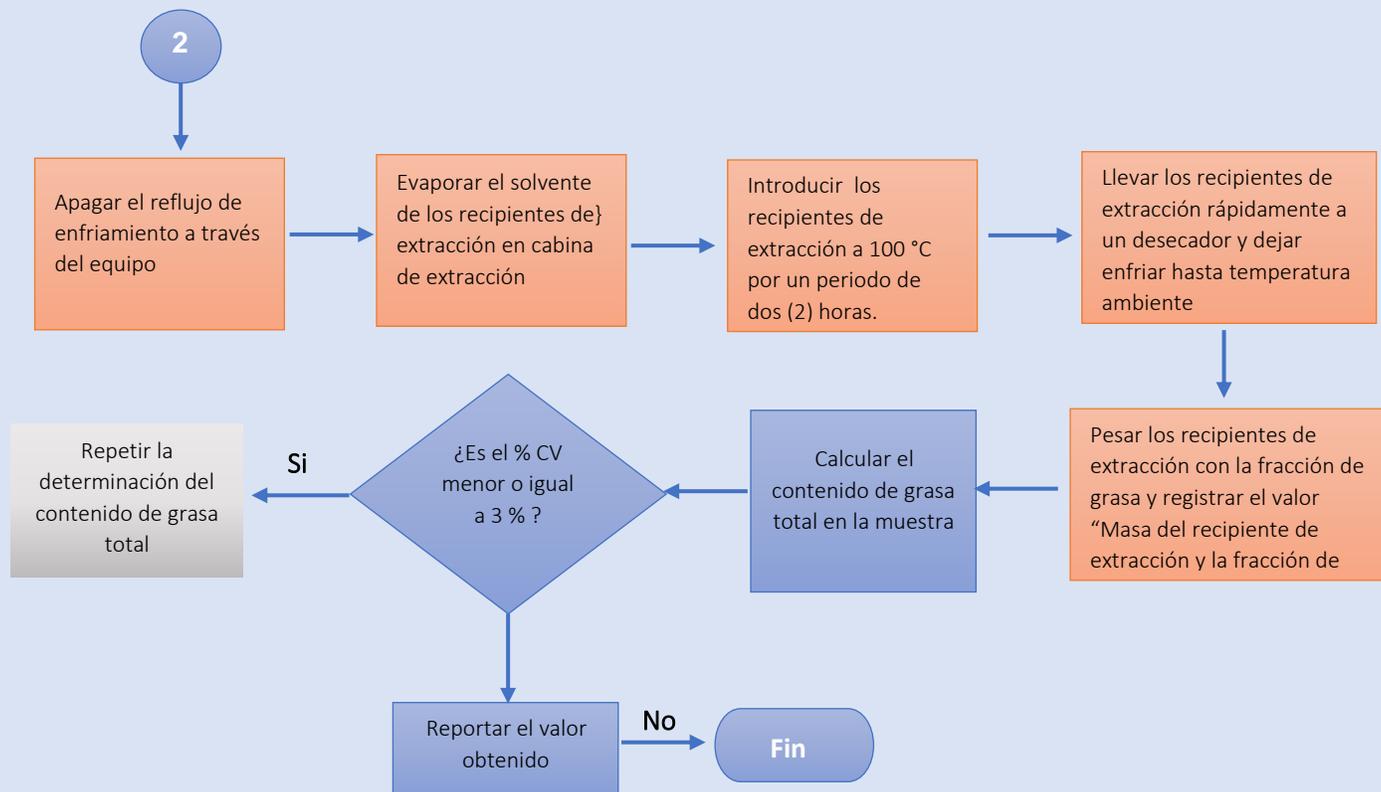
**Tabla b.** Ecuaciones para calcular la incertidumbre estándar para cada una de las fuentes de aporte

Fuente de Incertidumbre	Tipo de evaluación	Ecuaciones
Masa de la cápsula con tapa y muestra seca	Tipo B	$u(M_n) = \sqrt{u^2(R) + u^2(E)}$ Ecuación g
Masa muestra		
Masa de la cápsula vacía con tapa		
Repetibilidad	Tipo A	$u(R) = \frac{\text{desviación estandar}}{\sqrt{n}}$ Ecuación h
Temperatura (estufa/horno)	Tipo B	$u(T) = \frac{\Delta T}{\sqrt{3}}$ Ecuación i
Peso Constante	Tipo B	$u(MS_{cte}) = \frac{\Delta H}{\sqrt{3}}$ Ecuación j

**ANEXO B: ESQUEMA DE MEDICIÓN PARA LA DETERMINACIÓN DE GRASA TOTAL EN AGUACATE HASS**







## 14. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sociedad de Agricultores de Colombia. El aguacate Hass: Un fenómeno de la agricultura colombiana-Separata especial. Rev Nac Agric [Internet]. 2020;1000(035–0222):23–39. Available from: <https://sac.org.co/wp-content/uploads/2020/03/Revista-SAC-1000.pdf>
2. ASOHOFRUCOL - FNFH. El aguacate continúa ocupando el primer lugar de las exportaciones hortifrutícolas colombianas. Frutas y Hortalizas. 2020;No 75.
3. ASOHOFRUCOL - FNFH. Colombia: principal proveedor de aguacate Hass en Europa en 2021: Frutas y Hortalizas. 2020;No. 74(Año):1–48.
4. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Cadena productiva Aguacate - Cifras sectoriales [Internet]. 2020. p. 5. Available from: [https://sioc.minagricultura.gov.co/Aguacate/Documentos/2020-12-31 Cifras Sectoriales.pdf](https://sioc.minagricultura.gov.co/Aguacate/Documentos/2020-12-31%20Cifras%20Sectoriales.pdf)
5. Cañete ML, De Los Cobos RP, Hueso JJ. Influence of harvest date on sensory quality attributes of avocado ‘Hass.’ Acta Hort. 2018;1194:1127–31.
6. Weissbluth R, Valenzuela J. Determinación del porcentaje mínimo de materia seca para autorizar la cosecha de paltas cv. Hass para ser exportadas. Proc VI World Avocado Congr (Actas VI Congr Mund del Aguacate) 2007. 2007 Nov;12–6.
7. Carvalho CP, Velásquez MA. Contenido de ácidos grasos del aguacate (*Persea americana* Mill. cv. Hass) en relación a la altitud del cultivo y el estado de madurez del fruto. Agron Colomb. 2015;33(2):220–7.
8. Ramírez-Gil JG, Henao-Rojas JC, Morales-Osorio JG. Postharvest diseases and disorders in avocado cv. Hass and their relationship to preharvest management practices. Heliyon [Internet]. 2021;7(1):e05905. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e05905>
9. Gwanpua SG, Qian Z, East AR. Modelling ethylene regulated changes in ‘Hass’ avocado quality. Postharvest Biol Technol [Internet]. 2018;136(October 2017):12–22. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.10.002>
10. Ozdemir F, Topuz A. Changes in dry matter, oil content and fatty acids composition of avocado during harvesting time and post-harvesting ripening period. Food Chem. 2004;86(1):79–83.
11. Defilippi BG, Ejsmentewicz T, Covarrubias MP, Gudenschwager O, Campos-Vargas R. Changes in cell wall pectins and their relation to postharvest mesocarp softening of “Hass” avocados (*Persea americana* Mill.). Plant Physiol Biochem. 2018;128(April):142–51.
12. Carvalho CP, Velásquez MA, Van Rooyen Z. Determinación del índice mínimo de materia seca para la óptima cosecha del aguacate ‘Hass’ en Colombia. Agron Colomb. 2014;32(3):399–406.
13. NMX-FF-016-SCFI-2016. Productos alimenticios no industrializados para uso humano-fruta fresca-Aguacate (*Persea americana* Mill). Especificaciones. [Internet]. Diario Oficial de la Federación. Secretaría de Economía. 2016. p. 1–7. Available from:

[http://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5445368&fecha=21/07/2016](http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5445368&fecha=21/07/2016)

14. H. Cantwell. Blanks in Method Validation Supplement to Eurachem Guide The Fitness for Purpose of Analytical Methods [Internet]. 2019. Available from: [www.eurachem.org](http://www.eurachem.org).
15. Sandoval Lopez JA. Morfología Vegetal, FRUTOS II [Internet]. 2010 [cited 2021 Aug 5]. Available from: <http://ri.uaemex.mx/handle/20.500.11799/34651>
16. ICONTEC. NTC 6345:2019 Frutas frescas. Aguacate variedad Hass. Especificaciones. 2019. p. 24.
17. Instituto Colombiano Agropecuario B (Colombia), Rural M de A y D. Manejo fitosanitario del cultivo del aguacate Hass Medidas para la temporada invernal. ICA [Internet]. 2012 [cited 2021 Oct 11];53. Available from: <https://repository.agrosavia.co/handle/20.500.12324/13508>
18. JCGM. JCGM 200:2012, International vocabulary of metrology - Basic and general concepts and associated terms (VIM). 2012.
19. H. Greenfield y D.A.T. Southgate. Food Composition Data Production, management and use. Second Edition. FAO Publishing Management Service, editor. Rome; 2003. 107–115 p.
20. S.Suzanne Nielsen. Food Analysis. Fourth Edition. Medicines from Animal Cell Culture. 2010. 119–131 p.
21. Otles S. Methods of Analysis of Food Components and Additives. Second Edition. Methods of Analysis of Food Components and Additives. 2005.
22. AOAC. Official Methods of Analysis, 21st Edition (2019) - AOAC INTERNATIONAL [Internet]. 21st Edition. Vol. 3. 2019 [cited 2021 Oct 11]. Available from: <https://www.aoac.org/official-methods-of-analysis-21st-edition-2019/>
23. JCGM 100:2008. Evaluation of measurement data — Guide to the expression of uncertainty in measurement. Int Organ Stand Geneva ISBN. 2010;50(September):134.
24. Ellison SLR, Williams A. Cuantificación de la Incertidumbre en Medidas Analíticas, Guía CG 4 EURACHEM / CITAC. Eurachem/Citac. 2012;3rd Editio:133.
25. NTC-ISO-IEC 17025:2017. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración. 2017.
26. Johnnatan Mauricio Giraldo Ruales Silvia Lorena Ramírez Marín Juliana Barrios Guio Ivonne Alejandra González. Guía para la determinación de materia seca en aguacate Hass por secado en estufa convencional. Bogotá D.C – Colombia; 2021. 35 p.



ColombiaMide es una apuesta que se da gracias a la cooperación entre la Unión Europea y el Ministerio de Comercio Industria y Turismo en Colombia, orientado a mejorar las capacidades metrológicas y de calidad en Mipymes en dos cadenas productivas, ejecutado por el Instituto Alemán de Metrología (PTB), con el apoyo del INM e Icontec como beneficiarios del proyecto. Para ver los avances del proyecto, consulte la página web: <http://colombiamide.inm.gov.co/>



**Instituto Nacional de Metrología de Colombia - INM**  
Subdirección de Metrología Química y Biología,  
Red Colombiana de Metrología.  
**Av. Cra 50 No 26-55 Int. 2 CAN** - Bogotá, D.C. Colombia  
Conmutador: **(571) 254 22 22**  
E-mail: [contacto@inm.gov.co](mailto:contacto@inm.gov.co)  
**[www.inm.gov.co](http://www.inm.gov.co)**