
	Procedimiento de ensayo Determinación de Fibra en detergente ácido y en detergente neutro AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-039
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2023-08-26

Procedimiento de ensayo Determinación de Fibra en detergente ácido y en detergente neutro




AOXLAB S.A.S.

	Procedimiento de ensayo Determinación de Fibra en detergente ácido y en detergente neutro AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-039
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2023-08-26

DOCUMENTO CONTROLADO


PROC-TC-032 Procedimiento de ensayo Determinación de Fibra en detergente ácido y en detergente neutro

Copia controlada No.: **1**

	Nombre	Puesto o función	Firma	Fecha
Elaboró:	Mónica Andrea Agudelo	Analista de laboratorio		2023-08-22
Revisó:	Ángela P. Patiño Pérez	Directora de calidad		2023-08-22
Aprobó:	Darío Pardo Pardo	Director Técnico		2023-08-22
Localización del documento:		http://107.190.139.42/~aoxlabsgc/sig/		


Control de Cambios

Estado	Fecha de inicio de vigencia	Revisión	Descripción del cambio realizado	Realizó	Revisó	Aprobó
Vigente	2023-	1	Ninguno (versión original).	MAAC	AAPP	DPP

	Procedimiento de ensayo Determinación de Fibra en detergente ácido y en detergente neutro AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-039
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2023-08-26

ÍNDICE

1.	OBJETIVO Y ALCANCE.....	4
1.1	Objetivo.	4
1.2	Alcance.	4
2.	DEFINICIONES Y NOTACIONES.....	4
2.1	Definiciones.	4
2.2	Notaciones.	5
3.	REFERENCIAS.	5
4.	DESARROLLO.....	6
4.1	Equipos de medición.	6
4.2	inspección visual.	6
4.2.1	Revisión general.	6
4.2.2	Estabilización.	6
4.2.3	Manejo de la muestra.	7
4.3	Verificación de equipos.	7
4.4	Medidas de seguridad.	8
4.5	instrucciones de ensayo.	8
4.5.1	Materiales y consumibles:	8
4.5.2	Reactivos y soluciones	8
4.6	Ensayo	10
4.6.1	Fibra en detergente ácido.....	10
4.6.2	Fibra en detergente neutro.....	11
4.7	informe	12
4.8	Aseguramiento de la calidad	13
5.	RESPONSABILIDADES	14
5.1	Director técnico.	14
5.2	Líder de Calidad.	14
5.3	Líder de Laboratorio.	14
5.4	Analista.	14
6.	FORMATOS RELACIONADOS.....	14
7.	ANEXOS.....	14

	Procedimiento de ensayo Determinación de Fibra en detergente ácido y en detergente neutro AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-039
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2023-08-26

1. OBJETIVO Y ALCANCE.

1.1 Objetivo.

Describir los pasos para realizar la determinación de fibra en detergente ácido de acuerdo con los parámetros de AOAC 973.18 [2], AOAC 2002.04 [3] y los requisitos establecidos por la norma ISO/IEC 17025:2017 [1].

1.2 Alcance.

Aplica para el personal técnico del Laboratorio.

Prueba o ensayo	Norma o método de referencia	Técnica o Método
Fibra en detergente ácido en alimento animal	AOAC 973.18 [2]	Gravimétrico
Fibra en detergente neutro en alimento animal	AOAC 2002.04 [3]	Gravimétrico

Este método se aplica a las siguientes matrices:

- Alimento animal


El intervalo de trabajo del método es de 0-100 g/100 g.

2. DEFINICIONES Y NOTACIONES.

2.1 Definiciones.

Calibración [4].

Operación que, bajo condiciones especificadas, en un primer paso, establece una relación entre los valores de las magnitudes con su incertidumbre de medición provista por patrones de medición y las indicaciones correspondientes con incertidumbres de medición asociadas y, en segundo paso, usa esta información para establecer una relación para obtener un resultado de medición de una indicación.

	Procedimiento de ensayo Determinación de Fibra en detergente ácido y en detergente neutro AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-039
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2023-08-26

Fibra en detergente ácido [2].

Se refiere a los constituyentes menos solubles de la pared celular, representados básicamente por celulosa y lignina (productos vegetales), insolubles en detergente ácido.

Fibra en detergente neutro [3].

La fibra en los alimentos es una entidad nutricionalmente definida que representa la fracción de alimentos no digeribles y de digestión lenta. La solución de detergente neutro (ND) y la α -amilasa estable al calor se utilizan para disolver proteínas, lípidos, azúcares, almidones y pectinas fácilmente digeribles en los alimentos, dejando un residuo fibroso que es principalmente componentes de la pared celular en materiales vegetales (celulosa, hemicelulosa y lignina) y materia nitrogenada no digerible en productos animales. aNDF es un método gravimétrico que estima mejor la fibra insoluble total y está inversamente relacionado con la digestibilidad y el potencial de consumo de un alimento.

2.2 Notaciones.

Para propósitos de este documento, se hacen las siguientes consideraciones:

“**Laboratorio**”: se refiere al laboratorio AOXLAB S.A.S.

“**Servicios**”: para referir a los servicios de ensayo que el Laboratorio ofrece.

“**Ítem**”: se refiere a los objetos o materiales bajo ensayo.

3. REFERENCIAS.

[1] ISO/IEC 17025:2017 General requirements for the competence of testing and calibration laboratories / Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración.


[2] AOAC Official Method 973.18 Fiber (Acid Detergent) and Lignin (H_2SO_4) in Animal Feed, First action 1973, Final action 1977.

[3] AOAC Official Method 2002.04 Amylase-Treated Neutral Detergent Fiber in Feeds: Using Refluxing in Beakers or Crucibles

[4] ISO 9000:2015 Quality management systems -- Fundamentals and vocabulary/ Sistemas de gestión de la calidad-- Fundamentos y vocabulario.

[5] VIM: 2012, International vocabulary of metrology -- Basic and general concepts and associated terms.

[6] ISO/IEC 17000:2004 Conformity assessment -- Vocabulary and general principles.

	Procedimiento de ensayo Determinación de Fibra en detergente ácido y en detergente neutro AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-039
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2023-08-26

4. DESARROLLO

4.1 Equipos de medición.

Para realizar el ensayo se utilizan los siguientes equipos y componentes clave:

Equipos
Balanza analítica con resolución de 0.1 mg
Cabina de extracción
Estufa de convección forzada con temperatura de mantenimiento del horno 100°C ± 1°C
Desecador
Plancha de calentamiento
Mufla capaz de alcanzar 550° C, con indicador de resolución de 1° C y una estabilidad de ± 5°C
Para homogenizar: Procesador de alimentos, molino industrial

4.2 inspección visual.

4.2.1 Revisión general.


Al recibirse la muestra en el Laboratorio, éste es inspeccionado a fin de asegurar que se garantizan las condiciones conforme lo indicado en el procedimiento PROC-TC-008 "Procedimiento de aseguramiento de integridad de los ítems bajo servicio".

Antes de iniciar el análisis, se debe verificar que la muestra se encuentra empacada y sellada herméticamente, y etiquetada con el sticker de identificación interna del laboratorio. Se debe contar con al menos 100 gramos de muestra para realizar este análisis.

En caso de que la muestra no presente alguna de estas condiciones, realizar la observación en el FOR-TC- 063 "Formato para el registro de datos primarios del ensayo de Fibra detergente neutro y ácido", e informar de inmediato al líder comercial a través del Líder de laboratorio.

4.2.2 Estabilización.

Una vez revisada la muestra, se aplican las siguientes instrucciones:

	Procedimiento de ensayo Determinación de Fibra en detergente ácido y en detergente neutro AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-039
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2023-08-26

Los patrones y equipos de referencia del laboratorio a intervenir en el ensayo y la muestra se mantienen en el lugar de ensayo, y encendidos (si es el caso), antes de realizar las mediciones, a fin de lograr su operación óptima o estabilización térmica.

4.2.3 Manejo de la muestra.

Para la identificación, manejo, transporte, almacenamiento y descarte de la muestra, se siguen las instrucciones dadas en el procedimiento PROC-TC-008 "Procedimiento de aseguramiento de integridad de las muestras bajo servicio".


4.3 Verificación de equipos.

A fin de confirmar que los equipos a utilizar en el ensayo se encuentran en condiciones adecuadas para realizar el servicio, se inspecciona que se haya realizado la verificación diaria de la balanza analítica.

Antes de iniciar el análisis, se debe verificar que se cuenta con mínimo 10 g muestra seca etiquetada con el sticker de identificación interna del laboratorio. Si la muestra tiene un porcentaje de humedad mayor al 15% se debe secar la muestra en una estufa de convección forzada a una temperatura menor a 60°C. El secado a esta temperatura es necesario para evitar la formación de compuestos de fibra y lignina. Una vez seca la muestra, homogenizarla y pasarla por un tamiz de tamaño de poro de 1mm. Se debe verificar que la muestra tenga una grasa inferior al 5%, en el caso de no ser así se realiza el ensayo de grasa de acuerdo con el PROC-TC-017 "Procedimiento de Ensayo de grasa por el método soxhlet". Después de realizado este ensayo se parte del residuo para comenzar el ensayo de fibra en detergente ácido.

Al tomar la porción de análisis, la muestra debe estar a temperatura ambiente y correctamente homogeneizada. Sí la muestra es sólida, moler o triturar en su totalidad hasta homogeneidad aparente, y realizar un cuarteo atendiendo los siguientes pasos:

- Colocar la muestra previamente homogeneizada sobre una superficie lisa, limpia y seca, donde no existan corrientes de aire fuertes.
- Limpiar los instrumentos a utilizar (espátula o cuchara).
- Mezclar la muestra echando repetidas veces el material de los bordes hacia el centro.
- Juntar todo el material dándole forma circular con espesor uniforme.
- Dividir el material en cuatro sectores iguales.
- Eliminar los sectores opuestos quedando la masa del material reducida a la mitad.
- Mezclar los dos sectores restantes echando repetidas veces el material de los bordes hacia el centro.

	Procedimiento de ensayo Determinación de Fibra en detergente ácido y en detergente neutro AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-039
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2023-08-26

4.4 Medidas de seguridad.

Se deben seguir las siguientes medidas de seguridad antes y durante la realización del servicio: Verificar que el sticker de calibración y mantenimiento del equipo se encuentre vigente (ubicados en el módulo 1 del laboratorio) y no requiere alguna intervención. Verificar que todos los reactivos preparados en el laboratorio al momento de realizar el ensayo o los que se encontraban almacenados se encuentren identificados conforme al formato FOR-TC-024 "Formato para rotular reactivos elaborados en el laboratorio". En caso de que se encuentre alguna anomalía al respecto, avisar a la Dirección Técnica a través del Líder de Laboratorio.

Durante el análisis tener en cuenta que se debe seguir el procedimiento aquí descrito sin modificar ningún parámetro.

Tener en cuenta las instrucciones dadas en el reglamento interno de trabajo PROC-GC- 015 Reglamento Interno AOXLAB S.A.S, capítulo XIII.

4.5 Instrucciones de ensayo.


4.5.1 Materiales y consumibles:

- Espátula metálica
- FibreBags ADF, para determinación de ADF (Fibra en detergente ácido) / NDF (fibra en detergente neutro).
- Crisoles de porcelana
- Matraz aforado de 2L

4.5.2 Reactivos y soluciones

4.5.2.1 Reactivos:

- Ácido sulfúrico 95-97% para análisis
- Cetyltrimethylammonium bromuro
- EDTA
- Tetraborato de sodio decahidratado
- Sodio dodecilsulfato
- Trietilenglicol

	Procedimiento de ensayo Determinación de Fibra en detergente ácido y en detergente neutro AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-039
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2023-08-26

- Dihidrógeno fosfato de sodio
- α-amilasa
- Silicona antiespumante USP S20

4.5.2.2 Preparación de soluciones:

4.5.2.2.1 Ácido sulfúrico 0,5 M:

Llenar un matraz aforado de 2L con aproximadamente 500 mL de agua tipo 1. Medir 55,31 mL de ácido sulfúrico 95-97% y transferirlo al matraz. Dejar enfriar, completar el volumen (aforar) y homogenizar.

Nota: El volumen de ácido utilizado a la hora de preparar la solución del 0,5 M varía un poco dependiendo de la pureza y la densidad de éste. Para calcular exactamente cuánto se debe servir se hace uso de los siguientes cálculos:

$$Densidad\ H_2SO_4 * \% \text{ pureza} * \frac{1000\ mL}{1L} * \frac{1\ mol\ H_2SO_4}{98,08\ g\ H_2SO_4} = C_1$$

Ahora

$$\frac{(0,5\ M) * (2L)}{C_1} * \frac{1000\ mL}{1l} = Volumen\ de\ H_2SO_4$$

Esto para preparar 2L de solución.


4.5.2.2.2 Solución de detergente ácido:

Adicionar 40 g de Cetyltrimethylammonium bromide a 2L de H₂SO₄ 0,5 M. Agitar hasta disolver completamente.

4.5.2.2.3 Solución de detergente neutro:

Calentar suavemente 1 L de agua y adicionar 46,5 g de EDTA y 17 g de Tetraborato de disodio decahidratado hasta que se disuelvan. Dejar enfriar y adicionar 75 g de Sodio dodecilsulfato y 25 ml de trietilenglicol.

En otro vaso de precipitados, se disuelven 11,4 g de dihidrógenofosfato de sodio en 1 L de agua calentándose suavemente y, después de enfriar, se añaden al primer sistema. Llevar el volumen con agua destilada hasta completar 2,5L. El valor del pH debe estar entre 6,9 y 7,1

	Procedimiento de ensayo Determinación de Fibra en detergente ácido y en detergente neutro AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-039
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2023-08-26

(si es necesario, estandarizar con ácido fosfórico, ácido acético o solución de hidróxido de sodio).


4.5.2.2.4 α -Amilasa:

Pesar 10 g de α -amilasa en un balón volumétrico de 100 mL. Agitar hasta disolver y aforar.

4.6 Ensayo

4.6.1 Fibra en detergente ácido


- Pesar los FibreBag vacíos y registrar su peso en el formato FORT-TC-063. Como los FibreBags suelen ser estables en masa, no es necesario secarlos previamente en el horno de secado. Los separadores de vidrio se introducen en las FibreBags y se colocan en un beacker para pesar la muestra. Se pesa aproximadamente $1,0000 \pm 0,0010$ g de la muestra directamente en los FibreBags y se registra su peso en el formato FORT-TC-063.
- Agregue una cantidad de solución de detergente ácido suficiente para cubrir los FibreBags con muestra. Caliente hasta que ebulle de 5 a 10 minutos y, si es necesario, reduzca ligeramente el calor para evitar la formación de espuma, agite manualmente de forma moderada. En caso de producirse espuma, agregue unas gotas de agente antiespumante. Dejar el sistema en reflujo durante 60 ± 5 min a partir del momento del inicio de la ebullición y agitar cada 10 minutos. Retire el soporte con las muestras, descarte la solución ácida del recipiente donde se está realizando el calentamiento y enjuague con agua todo el sistema.
- Realice el montaje nuevamente y agregue una cantidad de agua suficiente para cubrir los FibreBags con muestra. Caliente hasta que ebulle de 5 a 10 minutos. Pasado este tiempo descartar el agua de enjuague y repetir el proceso dos veces más. Asegurarse de que se eliminen todos los rastros de ácido verificando los lavados con papel indicador, garantizando que el pH esté por encima de 6,00 (cualquier ácido residual se concentrará durante el secado y provocará la carbonización de los residuos y valores bajos de fibra).
- Agregue de 30 a 40 ml de acetona, revuelva manualmente para deshacer todos los grumos y así exponer todas las partículas de la muestra a la acetona, remoje de 3 a 5 minutos y repita hasta que no se elimine el color (por lo general, 2 remojos de acetona son suficientes).

	Procedimiento de ensayo Determinación de Fibra en detergente ácido y en detergente neutro AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-039
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2023-08-26

- Los FibreBags se retiran de los soportes de vidrio y se transfieren a los crisoles de porcelana (Estos se encuentran contramarcados con grafito) asegurar que toda la muestra sea transferida al FibreBag realizando un lavado del soporte con agua tipo 1 dentro del crisol y registrar el número del crisol correspondiente en el formato FORT-TC-063. Luego se secan en la estufa a 105 °C durante al menos 4 horas o toda la noche. A continuación, los crisoles con las FibreBags se colocan en el desecador hasta que se enfríen a temperatura ambiente y se pesan. Realizar este procedimiento hasta que la variación en los pesos sea inferior a 0,0100g. Pesar el crisol y registrar el peso en el formato FORT-TC-063.

4.6.2 Fibra en detergente neutro

- Pesar los FibreBag vacíos y registrar su peso en el formato FORT-TC-063. Como los FibreBags suelen ser estables en masa, no es necesario secarlos previamente en el horno de secado. Los separadores de vidrio se introducen en las FibreBags y se colocan en un beacker para pesar la muestra. Se pesa aproximadamente 1,0000 ± 0,0010 g de la muestra directamente en los FibreBags y se registra su peso en el formato FORT-TC-063.
- Agregue una cantidad de solución de detergente neutro suficiente para cubrir los FibreBags con muestra. Adicione también 2 mL de la solución de α -amilasa por muestra. Caliente hasta que ebulle de 5 a 10 minutos y, si es necesario, reduzca ligeramente el calor para evitar la formación de espuma, agite moderadamente. En caso de producirse espuma, agregue unas gotas de agente antiespumante. Dejar el sistema en reflujo durante 60 ± 5 min a partir del momento del inicio de la ebullición y agitar cada 10 minutos. Retire el soporte con las muestras, descarte la solución neutra del recipiente donde se está realizando el calentamiento y enjuague con agua todo el sistema.
- Realice el montaje nuevamente y agregue una cantidad de agua suficiente para cubrir los FibreBags con muestra. Caliente hasta que ebulle de 5 a 10 minutos. Pasado este tiempo descartar el agua de enjuague y repetir el proceso dos veces más.
- Los FibreBags se retiran de los soportes de vidrio y se transfieren a los crisoles de porcelana (Estos se encuentran contramarcados con grafito) asegurar que toda la muestra sea transferida al FibreBag realizando un lavado del soporte con agua tipo 1 dentro del crisol y registrar el número del crisol correspondiente en el formato FORT-TC-063. Luego se secan en la estufa a 105 °C durante toda la noche. A continuación, los crisoles con las FibreBags se colocan en el desecador hasta que se enfríen a temperatura ambiente y se pesan. Realizar este procedimiento hasta que la variación

	Procedimiento de ensayo Determinación de Fibra en detergente ácido y en detergente neutro AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-039
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2023-08-26

en los pesos sea inferior a 0,0100g. Pesarse el crisol y registrar el peso en el formato FORT-TC-063.

- A continuación, calcinar los crisoles con tapa en la mufla a 550°C durante 6 horas. Una vez finalizado este tiempo esperar que la mufla baje y llegue a los 200°C para comenzar a abrir de forma gradual la puerta, esto con el fin de evitar que se dañe la resistencia del equipo por el choque térmico.
- Retirar los crisoles de la mufla utilizando las pinzas con cuidado. Enfriar los crisoles en el desecador durante 20 minutos, pesar y registrar el peso en el formato FORT-TC-063.

4.7 informe

Los resultados se analizan de la siguiente manera:

Los datos serán registrados en el formato FOR-TC- 063 "Formato para el registro de datos primarios del ensayo de fibra Detergente neutro y ácido" el cual contiene la siguiente información.


FECHA	ID MUESTRA	MASA FIBREBAG (g)	MASA MUESTRA (g)	NÚMERO DEL CRISOL	MASA CRISOL + MUESTRA DIGERIDA + FIBREBAG (g)	MASA DEL CRISOL + CENIZAS (g)

Estos resultados son registrados en el cuadro de mando de Excel del laboratorio para análisis fisicoquímicos, SOFT-TC-093 "Cuadro de mando para el ensayo de Fibra en detergente ácido en alimentos" en la ruta de acceso \laboratorio\REGISTROS\REGISTROS RT.

En el cuadro de mando de Excel están programados:

$$\% \text{ Fibra} = \frac{M_3 - M_4 - M_1 - M_5}{M_2} \times 100$$

El cálculo del contenido de fibra cruda para muestras analizadas después de un secado y desengrasado se realiza de la siguiente forma:

	Procedimiento de ensayo Determinación de Fibra en detergente ácido y en detergente neutro AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-039
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2023-08-26

$$\% \text{ Fibra} = \frac{M_3 - M_4 - M_1 - M_5}{M_2} \times (100 - \% \text{de humedad} - \% \text{grasa})$$

Donde:


- **M₁**: Masa de FibreBag (g)
- **M₂**: masa de muestra (g)
- **M₃**: masa del crisol, muestra seca y FibreBag (g)
- **M₄**: masa del crisol y las cenizas
- **M₅**: blanco (g)

4.8 Aseguramiento de la calidad

El tipo, periodicidad y criterios de aceptación para los resultados obtenidos de los ensayos para el control de calidad se resumen en la tabla siguiente:

CONTROL	PERIODICIDAD	CRITERIO
Blanco de FibreBag	Al iniciar un nuevo paquete de FibreBags	No debe ser mayor a 0.001 g
Duplicado por matriz	Cada que se realiza el ensayo	El coeficiente de variación obtenido debe ser menor o igual al 10%

Estos datos son registrados en las cartas control, lo que permite realizar el análisis de tendencias, de acuerdo con PROC -TC – 077.

	Procedimiento de ensayo Determinación de Fibra en detergente ácido y en detergente neutro AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-039
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2023-08-26

5. RESPONSABILIDADES.

5.1 Director técnico.

Asegurar la aplicación del presente documento y tomar decisiones en casos especiales no contemplados.

Aprobar los informes técnicos una vez han sido revisados por el Líder de Laboratorio.

5.2 Líder de Calidad.

Asegurar la aplicación del presente documento

5.3 Líder de Laboratorio.

Asegurar la aplicación del presente documento por el personal subordinado o supervisado.

Revisar los resultados ingresados por el analista, haciendo seguimiento de la trazabilidad del análisis.

5.4 Analista.

Aplicar el presente documento.

6. FORMATOS RELACIONADOS.

SOFT-TC-093 "Cuadro de mando para el ensayo de Fibra en detergente ácido en alimentos"

SOFT-TC-124 "Cuadro de mando para el ensayo de Fibra en detergente neutro en alimentos 2023-01"

FOR-TC- 063 "Formato para el registro de datos primarios del ensayo de fibra Detergente neutro y ácido"

7. ANEXOS.

No Aplica