


<b>aoxlab</b>	<b>Procedimiento de ensayo Determinación de Proteínas-Método Kjeldahl</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-052</b>
		<b>Revisión:</b> 9
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2025-12-19</b>

# Procedimiento de ensayo de Proteínas-Método Kjeldahl

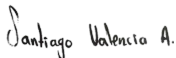
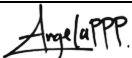

**AOXLAB S.A.S.**

	<b>Procedimiento de ensayo Determinación de Proteínas-Método Kjeldahl</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-052</b>
		<b>Revisión: 9</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2025-12-19</b>

## DOCUMENTO CONTROLADO


### PROC-TC-052 Procedimiento de Determinación de Proteínas- Método Kjeldahl

**Copia controlada No.: 1**


	Nombre	Puesto o función	Firma	Fecha
<b>Elaboró:</b>	Santiago Valencia	Coordinador técnico		2025-12-19
<b>Revisó:</b>	Angela P. Patiño Pérez	Directora de calidad		2025-12-19
<b>Aprobó:</b>	María Carmen Domínguez	Directora Técnica		2025-12-19
<b>Localización del documento:</b>		Plataforma SGC		

### Control de Cambios

Estado	Fecha de inicio de vigencia	Revisión	Descripción del cambio realizado	Realizó	Revisó	Aprobó
Obsoleto	2018/01/11	1	Ninguno (versión original).	WFR JMF	YELP	YELP
Obsoleto	2018/09/08	2	Cambios en objetivo, condiciones de la muestra para el análisis, condiciones específicas del ensayo, requisitos para el aseguramiento de la calidad del ensayo.	JMFR	YELP	YELP
Obsoleto	2019/06/20	3	Se revisaron las porciones de muestra, el control de calidad y los cálculos de acuerdo con la AOAC 2001.11	JEAI	DPP	YELP
Obsoleto	2020-12-28	4	Se organizaron las porciones de muestra de acuerdo con las diferentes AOAC referenciadas. Se modifica el alcance. Se cambia el logo y los colores	JEAI	DPP	YELP


	<b>Procedimiento de ensayo Determinación de Proteínas-Método Kjeldahl</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-052</b>
		<b>Revisión: 9</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2025-12-19</b>

Obsoleto	2021-07-09	5	Se modificó el programa de temperatura del digestor. Se modificó la preparación del hidróxido de sodio 30%. Se modificó el pH final de la titulación	JRM	DPP	YELP
Obsoleto	2023-05-17	6	Se modifica la referencia bibliográfica. Se ajusta el esquema de control de calidad a lo establecido en el documento normativo	DPP	APPP	DPP
Obsoleto	2023-09-11	7	Se modifica la curva de calentamiento del digestor y se reajusta consideraciones según el documento normativo	VOS MSMA	APPP	DPP
Obsoleto	2025-05-18	8	Se adiciona la matriz alimento para animal.	MSMA	APPP	JOZA
Vigente	2025-12-16	9	Se ajusta el criterio del blanco en el control de calidad	SVA	APPP	MCDG

	<b>Procedimiento de ensayo Determinación de Proteínas-Método Kjeldahl</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-052</b>
		<b>Revisión: 9</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2025-12-19</b>

## ÍNDICE

<b>1. OBJETIVO Y ALCANCE.....</b>	<b>5</b>
<b>1.1 Objetivo.....</b>	<b>5</b>
<b>1.2 Alcance.....</b>	<b>5</b>
<b>2. DEFINICIONES Y NOTACIONES.....</b>	<b>5</b>
<b>2.1 Definiciones.....</b>	<b>5</b>
<b>2.2 Notaciones.....</b>	<b>6</b>
<b>3. REFERENCIAS.....</b>	<b>7</b>
<b>4. DESARROLLO.....</b>	<b>8</b>
<b>4.1 EQUIPOS DE MEDICIÓN.....</b>	<b>8</b>
<b>4.2 INSPECCIÓN VISUAL.....</b>	<b>8</b>
<b>4.2.1 Revisión general.....</b>	<b>8</b>
<b>4.2.2 Estabilización.....</b>	<b>8</b>
<b>4.2.3 Verificación de equipos.....</b>	<b>8</b>
<b>4.3 Manejo de la muestra.....</b>	<b>9</b>
<b>4.4 Medidas de seguridad.....</b>	<b>9</b>
<b>4.5 INSTRUCCIONES DE ENSAYO.....</b>	<b>10</b>
<b>4.5.1 Preparación de soluciones.....</b>	<b>10</b>
<b>4.5.2 Ensayo.....</b>	<b>11</b>
<b>4.6 INFORME.....</b>	<b>15</b>
<b>4.7 CONTROL DE LA CALIDAD.....</b>	<b>16</b>
<b>5. RESPONSABILIDADES.....</b>	<b>18</b>
<b>5.1 Director técnico.....</b>	<b>18</b>
<b>5.2 Director de Calidad.....</b>	<b>18</b>
<b>5.3 Líder de Laboratorio.....</b>	<b>18</b>
<b>5.4 Analista.....</b>	<b>19</b>
<b>6. FORMATOS RELACIONADOS.....</b>	<b>19</b>
<b>7. ANEXOS.....</b>	<b>20</b>

	<b>Procedimiento de ensayo Determinación de Proteínas-Método Kjeldahl</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-052</b>
		<b>Revisión:</b> 9
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2025-12-19</b>

## 1. OBJETIVO Y ALCANCE.

### 1.1 Objetivo.

Describir los pasos para realizar el ensayo análisis de Proteínas-Método Kjeldahl de acuerdo con los lineamientos establecidos en la Norma ISO 1871:2009 [2] y los requisitos establecidos por la norma ISO/IEC 17025:2017 [1].

### 1.2 Alcance.

Este procedimiento aplica a alimentos para consumo humano, alimentos destinados a animales y productos alimenticios que contienen compuestos nitrogenados que puedan ser determinados por el método Kjeldahl.

**Nota:** Este principio de medición no tiene en cuenta el nitrógeno procedente de los nitratos y nitritos.

El intervalo de medición del método de ensayo es 0,15 g/100 g a 80,6 g/100 g (0,15 % a 80,6 %)

## 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.

#### Proteínas [2].

Son moléculas formadas por cadenas lineales de aminoácidos. Las proteínas desempeñan un papel fundamental para la vida y son las biomoléculas más versátiles y diversas. Son imprescindibles para el crecimiento del organismo y realizan una enorme cantidad de funciones diferentes entre las que destacan: estructural, esta es la función más importante de una proteína (por ejemplo, colágeno), inmunológica (anticuerpos), enzimática (sacarosa y pepsina), contráctil (actina y miosina), homeostática: colaboran en el mantenimiento del pH (ya que actúan como un tampón químico), transducción de señales, protectora o defensiva (trombina y fibrinógeno).

#### Enlace peptídico [2].

	<b>Procedimiento de ensayo Determinación de Proteínas-Método Kjeldahl</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-052</b>
		<b>Revisión:</b> 9
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2025-12-19</b>

Es la unión de dos o más aminoácidos mediante enlaces amida (reacción del grupo carboxilo de un aminoácido con el grupo amino de otro, con eliminación de una molécula de agua) (Figura 1).

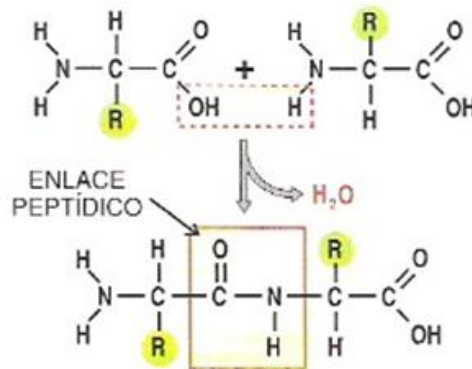


Figura 1. Reacción de formación de un enlace peptídico.


## 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.

	<b>Procedimiento de ensayo Determinación de Proteínas-Método Kjeldahl</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-052</b>
		<b>Revisión:</b> 9
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2025-12-19</b>

### 3. REFERENCIAS.

- [1] International Organization for Standardization. (2023). General requirements for the competence of testing and calibration laboratories / Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración. (ISO standard No.17025:2017)
- [2] International Organization for Standardization. (2023). Food and feed products — General guidelines for the determination of nitrogen by the Kjeldahl method (ISO Standard No. 1871:2009).
- [3] International Organization for Standardization. (2023). Quality management systems — Fundamentals and vocabulary. (ISO standard No. 9000:2015)
- [4] VIM: 2012, International vocabulary of metrology -- Basic and general concepts and associated terms.
- [5] International Organization for Standardization. (2023). Conformity assessment — Vocabulary and general principles. (ISO standard No. ISO/IEC 17000:2020)

	<b>Procedimiento de ensayo Determinación de Proteínas-Método Kjeldahl</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-052</b>
		<b>Revisión:</b> 9
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2025-12-19</b>

## 4. DESARROLLO

### 4.1 EQUIPOS DE MEDICIÓN.

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

<b>Patrones (o materiales), equipos y/o componentes clave</b>
Balanza analítica con resolución de 0,1 mg
Digestor de grafito capaz de alcanzar y mantener una temperatura de 420 °C
Scrubber para captura de vapores ácidos conectado herméticamente al digestor
Destilador Kjeldahl para destilación por arrastre con vapor
Tubos Kjeldahl de 250 mL
Titulador Potenciométrico con bureta de 20 mL con resolución en medición de volumen de 0,01 mL

### 4.2 INSPECCIÓN VISUAL.

#### 4.2.1 Revisión general.

Al recibirse la muestra en el Laboratorio, ésta es inspeccionada con el fin de verificar que las condiciones de cantidad, empaque y preservación se mantienen, 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 se cuenta con mínimo 10 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- 042 "Formato para el registro de datos primarios de ensayo de Proteínas", e informar de inmediato al líder comercial a través del Líder de laboratorio.

#### 4.2.2 Estabilización.

Los ítems de ensayo, patrones y controles de calidad deben atemperarse con suficiente antelación de tal manera que se encuentren en equilibrio térmico con el ambiente en el cual se ejecutarán los ensayos.

La balanza analítica y otros equipos electrónicos que realicen mediciones de alguna magnitud correspondiente a condiciones de influencia en la ejecución del ensayo deben encenderse por lo menos media hora antes de su uso. Así mismo, deben verificarse los equipos, de acuerdo con lo establecido en el número 0.

#### 4.2.3 Verificación de equipos.

	<b>Procedimiento de ensayo Determinación de Proteínas-Método Kjeldahl</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-052</b>
		<b>Revisión:</b> 9
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2025-12-19</b>

Antes de iniciar el ensayo, debe verificarse que el estado de funcionamiento de los equipos sea adecuado. Esto puede llevarse a cabo revisando que cuenten con la etiqueta de mantenimiento vigente y que estos no tengan alguna etiqueta que lo identifique como "Fuera de servicio". Además, en el caso en el cual se lleve el control de uso, deben registrarse los últimos registros consignados en el formato FOR-TC-017, con el propósito de verificar que no se han registrado fallas en el funcionamiento. Si algún equipo es utilizado para la medición de alguna magnitud de influencia en el ensayo, este debe estar calibrado. Por tanto, se debe verificar la etiqueta de calibración adherida a este, y comprobar que se encuentre vigente.

Así mismo, debe verificarse que se haya realizado y registrado la verificación diaria de la balanza analítica en el formato FOR-TC-005

Además de lo anterior, debe verificarse la fecha de expiración de los patrones, materiales de referencia y controles de calidad empleados en el ensayo con el fin de evitar el uso de materiales vencidos.

#### **4.3 Manejo de la muestra.**

Para la ejecución del ensayo, la muestra no requiere condiciones especiales de manejo. La identificación, manejo, transporte, almacenamiento y descarte de la muestra, deben realizarse de acuerdo con los lineamientos establecidos en el procedimiento PROC-TC-008 Procedimiento de aseguramiento de integridad de las muestras bajo servicio.


Sí la muestra es líquida, mezclar hasta homogeneidad aparente mediante agitación magnética, y con la ayuda de un gotero o una pipeta tomar la cantidad necesaria de muestra, mientras se continúa con la agitación.

Sí la muestra es sólida, moler, macerar o licuar en seco la muestra de laboratorio hasta obtener un acabado homogéneo.

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.

#### **4.4 Medidas de seguridad.**

	<b>Procedimiento de ensayo Determinación de Proteínas-Método Kjeldahl</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-052</b>
		<b>Revisión:</b> 9
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2025-12-19</b>

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

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 Preparación de soluciones

- **Hidróxido de sodio (NaOH 30%).** Pesar 300 g de Hidróxido de sodio de pureza mínima de 98%, aforar con agua tipo I a 1 L, realizar la solución con precaución en cabina evitando la exposición a vapores, haciendo el montaje sobre un baño de agua fría, emplear guantes, gafas y careta de ser necesario.

- **Ácido sulfúrico concentrado (95-97%).** Tomar con extrema precaución la cantidad necesaria de ácido sulfúrico de pureza (95-97%) y dispensar directamente en el tubo de digestión donde se encuentra la muestra. Realizar esta adición en cabina, emplear guantes, mascara de vapores y gafas.


- **Tableta catalizadora Kjeldahl. (3,5 g/tableta, especificación, sin adición de Se y Hg), marca Merck, Referencia 118348 o equivalente)** Tomar una tableta catalizadora y adicionar al tubo de digestión donde se encuentra la muestra, emplear guantes, mascara de vapores y gafas.

- **Solución de rojo de metilo (0,1%).** Pesar 0,1 g de rojo de metilo, disolver con metanol y aforar a 100 mL. Tener precaución, emplear guantes, gafas y mascara de vapores de ser necesario.

- **Solución de verde de bromocresol (0,1%).** Pesar 0,1 g de verde de bromocresol, disolver con metanol y aforar a 100 mL. Tener precaución, emplear guantes, gafas y mascara de vapores de ser necesario.

- **Ácido bórico (4%).** Pesar 40 g de ácido bórico de pureza 99,5 % y disolver el reactivo inicialmente en aproximadamente 600 mL de agua tipo I caliente, homogenizar con agitación magnética constante y completar el volumen de la solución a 998 mL usando agua tipo I. Enfriar la solución suavemente y adicionar 10 mL de solución de verde de bromocresol y 7 mL de solución de rojo de metilo. Aforar a 1 L. Usar guantes, tapa bocas y gafas.

- **Ácido clorhídrico 0,1 N para Titulación.** Se transfiere HCl 0,1 N grado estándar en el frasco dosificador del titulador automático, realizar la transferencia con precaución, emplear guantes, tapa bocas y gafas.

	<b>Procedimiento de ensayo Determinación de Proteínas-Método Kjeldahl</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-052</b>
		<b>Revisión:</b> 9
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2025-12-19</b>

- **Verificación de la eficiencia de la digestión.** Pesar 0,18 g de triptófano (%N 13,72) o 0,3 g de acetanilida (%N 10,36), con 0,67 g de sacarosa. Utilizar como control de calidad ejecutando todo el ensayo sobre esta mezcla.

- **Verificación de la eficiencia de la destilación.** Pesar 0,12 g de Cloruro de amonio o de Sulfato de amonio, Realizar la destilación y titulación sobre este estándar. El porcentaje teórico de nitrógeno es de 21,2 %

**NOTA:** la preparación de estas soluciones debe registrarse en el formato FOR-TC-045, de acuerdo con los lineamientos establecidos en el procedimiento PROC-TC-056

## 4.5.2 Ensayo

### 4.5.2.1 Digestión de la muestra:

Encienda el digestor de bloques y caliente a 420 °C. Pesar Materiales, como se indica a continuación, registre cada peso de la porción de prueba (W) en el formato de datos primarios FOR-TC-042 "Formato para el registro de datos primarios del ensayo de proteínas".


- **Muestra sólida:** Pesar en un vidrio reloj entre 0,3 g - 1,0 g (El peso se determina por diferencia) teniendo en cuenta la cantidad esperada de nitrógeno en la matriz a analizar y transferirla al tubo Kjeldahl. Adicionar 1 tableta de catalizador Kjeldahl y 12 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 95 % - 97 %.

**Nota:** Procurar pesar lo más cercano posible a 0,3 g para matrices de carnes, suplementos alimenticios, leche y productos derivados. Como también evitar pesar más de 0,5 g para muestras que se evidencien probabilidad de alto contenido de materia orgánica

- **Muestra líquida:** Pesar una porción de muestra ligeramente >1 g redondeado a 1 mg en una jeringa. Verter el contenido de la jeringa en el tubo Kjeldahl, y pesarla nuevamente. La diferencia entre el peso inicial y el peso del residuo corresponderá al peso de la muestra en el tubo de reacción. Adicionar 1 tableta de catalizador Kjeldahl y 12 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 95 % - 97 %.
- Si al adicionar el ácido sulfúrico la mezcla forma burbujas, adicionar lentamente 3 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, dejar reposar el sistema.
- Ubicar el tubo Kjeldahl en la gradilla correspondiente y ubicar en la placa de calentamiento del digestor.

### 4.5.2.2 Procedimiento de digestión

- Ubicar sobre los tubos y la gradilla la capucha de absorción de gases.

	<b>Procedimiento de ensayo Determinación de Proteínas-Método Kjeldahl</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-052</b>
		<b>Revisión:</b> 9
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2025-12-19</b>

- Verificar que las conexiones del scrubber y el digestor se encuentren correctamente dispuestas y revisar que los reactivos del scrubber aún no hayan virado a pH ácido (cambio de color verde a amarillo que puede observarse en los tubos del scrubber), de lo contrario se debe preparar nuevo reactivo según el manual del equipo.
- Seleccionar el método “*curve heating*” en el digestor y presionar *enter*.
- Presionar el botón “*flecha abajo*” e inmediatamente se cargarán los siguientes parámetros del método predeterminado:

**Parámetros de la curva de calentamiento predeterminados:**

No.	Target Temp.	Preset time
01	150 °C	00:30
02	250°C	01:00
03	350°C	01:00
04	390°C	01:30
05	420 °C	02:00


- Presionar *enter* y la digestión iniciará según los parámetros correspondientes.
- Cuando la digestión finalice el equipo mostrará el anuncio correspondiente.

**Nota:** Si la coloración final de la muestra no es translúcida o aún se encuentra opaca, prolongar el tiempo de digestión a 420 °C durante 1 hora más de la siguiente forma:

1. Seleccionar el “*lineal Heating*” y presionar *enter*.
2. Programar el Preset time a 01:00 horas.
3. Programar el Preset temp a 420 °C.

Este procedimiento se debe realizar cuantas veces sea necesario hasta que la muestra esté totalmente translúcida.

- Retirar la gradilla de la placa de calentamiento del digestor y ubicar en el soporte del digestor.

	<b>Procedimiento de ensayo Determinación de Proteínas-Método Kjeldahl</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-052</b>
		<b>Revisión:</b> 9
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2025-12-19</b>

- Apagar el digestor y dejar los tubos de reacción en reposo durante 20 a 30 minutos más sobre el soporte correspondiente, mientras el scrubber aún se encuentra encendido.
- Apagar el scrubber y retirar la gradilla con los tubos.

**Nota:** En caso de querer modificar la rampa de calentamiento, esta es programada directamente en el panel de control del equipo (**Ver ficha de uso rápido I-028**).

- Enfriar los tubos durante un periodo de 30 minutos.

#### 4.5.2.2 Destilación de la muestra:


El proceso de destilación se realiza directamente en el equipo de autodestillación, con los parámetros establecidos y configurados en la Guía rápida de uso.

- Verificar que los recipientes de almacenamiento de agua, ácido bórico e hidróxido de sodio tengan suficiente reactivo para las destilaciones a realizar y que se encuentren debidamente cerrados.
- Conectar el autodestillador a la toma 220 v ubicado al lado del equipo, abrir el suministro de agua y encender el equipo.
- Se debe realizar una destilación previa a las muestras para realizar un precalentamiento del caldero interno del equipo y para realizar una purga del sistema. Para ello se debe seguir el siguiente procedimiento:

1. Ubicar un tubo vacío en el compartimiento correspondiente asegurándose que la manguera del equipo quede dentro del tubo.
2. Ubicar un beaker vacío en la salida del destilado.
3. Seleccionar "automatic" y presionar enter.
4. Verificar que los parámetros de destilación sean los siguientes:

100 mL H<sub>2</sub>O dilución (tubo)  
 0 mL H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 4 % (Beaker)  
 0 mL NaOH 40 % (tubo)  
 12 min de destilación  
 0 mL H<sub>2</sub>O lavado (Beaker)

5. Presionar *enter*.
  6. Al finalizar la destilación se descarta el destilado y el agua remanente en el tubo.
- Se realiza un lavado del equipo, posterior al precalentamiento de equipo esta vez teniendo en cuenta los siguientes parámetros:

	<b>Procedimiento de ensayo Determinación de Proteínas-Método Kjeldahl</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-052</b>
		<b>Revisión:</b> 9
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2025-12-19</b>


100 mL H<sub>2</sub>O dilución (tubo)  
10 mL H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 4 % (Beaker)  
0 mL NaOH 40 % (tubo)  
7 min de destilación  
0 mL H<sub>2</sub>O lavado (Beaker)

- Luego de la destilación previa se ubica el tubo que contiene la muestra en el compartimiento correspondiente asegurándose que la manguera del equipo quede dentro del tubo.
- Ubicar un beaker vacío en la salida del destilado.
- Seleccionar “test” y presionar enter, luego seleccionar “automatic” y presionar enter.
- Verificar que los parámetros de destilación sean los siguientes:

40 mL H<sub>2</sub>O dilución (tubo)  
30 mL H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 4% (Beaker)  
60 mL NaOH 40% (tubo)  
7 min de destilación  
2 mL H<sub>2</sub>O lavado (Beaker)

- Presionar “enter”. La destilación finalizará en 7 minutos y la pantalla mostrará nuevamente el menú inicial.
- Retirar el tubo del destilador con guantes de carnaza con el fin de evitar accidentes por quemaduras. Dejar reposar el tubo en el soporte y disponer el residuo en el recipiente de desechos.
- Retirar el beaker que contiene el destilado para posterior titulación.
- Si se van a destilar más muestras, se debe realizar una limpieza de la manguera de salida con agua purificada lavando tanto el interior como el exterior las veces que sea necesario para asegurar la limpieza de los ductos. Si la muestra contiene nitrógeno el viraje de la solución del beaker debería cambiar de violeta a verde.
- Realizar el mismo procedimiento para las siguientes muestras.
- Realizar el mismo procedimiento de destilación previa para realizar una limpieza final del sistema y cubrir el extremo de ambas mangueras con un tubo plástico.


#### 4.5.2.3 Titulación de la muestra:

	<b>Procedimiento de ensayo Determinación de Proteínas-Método Kjeldahl</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-052</b>
		<b>Revisión:</b> 9
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2025-12-19</b>

- Titular el destilado obtenido con solución de ácido clorhídrico 0,1 N utilizando el titulador automático y agitación constante hasta el punto final con un pH aproximado de 4,6.
- Lavar el electrodo las veces que sea necesario para asegurar la limpieza de este con agua purificada entre cada muestra.
- Al finalizar la titulación de las muestras, se debe limpiar el electrodo con agua purificada para la eliminación total del colorante.

#### 4.6 INFORME

Los resultados se analizan de la siguiente manera:  
 Los datos serán registrados en el formato FOR-TC- 042 "Formato para el registro de datos primarios para el ensayo de proteínas" la cual contiene la siguiente información.


	<b>Formato para el registro de datos primarios del ensayo de proteínas</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>				<b>Identificación:</b> FOR-TC-042
					<b>Revisión:</b> 2
					<b>Inicio de vigencia:</b> 2022-09-16 <small><sup>(1)</sup> Consecutivo No.</small>
<b>Ensayo de Proteínas AOAC 2001.11</b>					
<small><sup>(3)</sup> Reactivos utilizados en el análisis</small>	<small>Estándar de Digestión/Lote</small>	<small>Acido sulfúrico 95-97%</small>	<small>Solución HCl 0,1 N</small>	<small>Sacarosa</small>	
	<small>Estándar de Titulación/Lote</small>	<small>Solución de ácido Bórico 4%</small>	<small>Solución Hidróxido de Sodio 30%</small>	<small>Catalizador Kjeldahl</small>	
<small><sup>(4)</sup> Equipos utilizados en el análisis</small>	<small>Equipo/Nº Inventario Balanza Analítica /</small>	<small>Equipo/Nº Inventario Digestor / 153</small>	<small>Equipo/Nº Inventario Autodestilador Kjeldahl / 154</small>		
	<small>Equipo/Nº Inventario Titulador Potenciométrico / 152</small>		<small><sup>(2)</sup> Almacenamiento del registro: Archivador SGC / 206</small>		
<small><sup>(5)</sup> Fecha</small>	<small><sup>(7)</sup> Hora Inicio de análisis (HH:MM)</small>	<small><sup>(8)</sup> Hora fin de análisis (HH:MM)</small>	<small><sup>(12)</sup> Realizó</small>		
<small><sup>(6)</sup> Id Muestra</small>	<small><sup>(9)</sup> Posición</small>	<small><sup>(10)</sup> Peso de la muestra (g)</small>		<small><sup>(11)</sup> Volumen HCl 0,1N (mL)</small>	

Estos resultados son registrados en el cuadro de mando de Excel del laboratorio para análisis fisicoquímicos, SOFT-TC-024 Formato cuadro de mando de análisis de Proteína en alimentos, en la ruta de acceso \laboratorio\REGISTROS\REGISTROS RT.

En el cuadro de mando de Excel están programados:  
 El cálculo del porcentaje de nitrógeno:

$$\%N = \frac{[(V_s - V_b) \times N \times 14,01]}{W \times 10}$$

El cálculo del porcentaje de proteína total de la muestra:

	<b>Procedimiento de ensayo Determinación de Proteínas-Método Kjeldahl</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-052</b>
		<b>Revisión:</b> 9
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2025-12-19</b>

$$\%Proteína = \%kjeldahl N \times F$$

Donde:

$V_S$  = Volumen (ml) de ácido clorhídrico estándar

$V_B$  = Volumen (ml) de ácido estandarizado usado para titular el blanco.

$N_a$  = Normalidad del ácido clorhídrico estándar.

14,01 = Peso atómico del N

W = Peso (g) de la porción de muestra o estándar

10 = Factor para convertir mg a g

F = Factores relacionados en la tabla siguiente para convertir N a proteína.

#### Tabla de factores de conversión para diferentes productos.


Factor de conversión (F)	Muestra
6,25	General
5,70	Trigo, pan, harina y productos derivados
5,18	Almendras
5,46	Maní
5,30	Nueces de árbol y coco
6,38	Productos lácteos
5,55	Colágeno

El resultado obtenido en el cuadro de mando expresado con dos decimales es ingresado por el analista en el software analítica en el módulo Resultados del área fisicoquímica. Además del resultado, debe consignarse los criterios de cumplimiento, CUMPLE / NO CUMPLE basados en la normativa vigente.

#### 4.7 CONTROL 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 reactivos	Cada lote de análisis	Se debe restar el gasto del HCl de la titulación del blanco en las muestras
Duplicado	Cada lote de análisis	No se evidencian tendencias en la carta

	<b>Procedimiento de ensayo Determinación de Proteínas-Método Kjeldahl</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-052</b>
		<b>Revisión: 9</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2025-12-19</b>

CONTROL	PERIODICIDAD	CRITERIO
		control de duplicados (por matriz)
Verificación de la eficiencia de la digestión	Cada lote de análisis	La recuperación corregida por pureza del reactivo utilizado debe estar entre 98% - 101%
Verificación de la eficiencia de la destilación	Cada lote de análisis	La recuperación corregida por pureza del reactivo utilizado debe estar entre 99% - 101%
Material de referencia certificado MRC*	Trimestral	El resultado del ensayo debe estar en el intervalo de valores establecidos como aceptables en el certificado del material
Participación en Interlaboratorio (Rotación de matriz)	Anual	Debe obtenerse una calificación satisfactoria en la participación.

\*El material de referencia será utilizado si se encuentra disponible en el mercado. De igual manera se puede realizar el análisis con muestras retenidas, como por ejemplo pruebas interlaboratorio.

El seguimiento de los resultados obtenidos del control de calidad listado en la tabla control debe realizarse y analizarse mediante el uso de cartas control, de acuerdo con los lineamientos establecidos en el procedimiento PROC-TC-077.

	<b>Procedimiento de ensayo Determinación de Proteínas-Método Kjeldahl</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-052</b>
		<b>Revisión:</b> 9
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2025-12-19</b>

## 5. RESPONSABILIDADES.

### 5.1 Director técnico.


- Asegurar la aplicación del presente documento y tomar decisiones en casos especiales no contemplados.
- Revisar y aprobar los informes técnicos una vez han sido revisados por el Líder de Laboratorio.
- Asesorar y orientar los analistas en la resolución de dudas e inconvenientes surgidos durante el desarrollo de los ensayos.
- Realizar o revisar las investigaciones pertinentes a los trabajos no conformes derivados de la ejecución del método y autorizar las indicaciones a seguir.
- Establecer los casos en los cuales se realiza la retención de muestras.

### 5.2 Director de Calidad.

- Asegurar la aplicación del presente documento y tomar decisiones en casos especiales no contemplados.
- Realizar y registrar las investigaciones pertinentes a los trabajos no conformes derivados de la ejecución del método.
- Revisar los resultados obtenidos del aseguramiento de calidad del método.
- Archivar los registros técnicos relacionados con los ensayos.

### 5.3 Coordinador técnico/operativo.

- 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 (Cuadros de mando, formato de solicitud de servicio y salvaguardia de muestras, formatos de datos primarios) antes de enviar el informe final al director técnico.
- Realizar la revisión de resultados teniendo en cuenta la normativa vigente si esta aplica.
- Informar al director técnico las desviaciones que se den durante el desarrollo del método.

	<b>Procedimiento de ensayo Determinación de Proteínas-Método Kjeldahl</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-052</b>
		<b>Revisión:</b> 9
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2025-12-19</b>

- Reportar y registrar los trabajos no conformes derivados del análisis al líder de calidad y al director técnico.
- Informar los casos en los que se deben de retener las muestras.
- Supervisar el cumplimiento de las actividades de aseguramiento de calidad.

#### 5.4 Analista.

- Seguir todas las instrucciones establecidas en este procedimiento y en el reglamento del laboratorio
- Ingresar y entregar todos los resultados en los tiempos pactados.
- Entregar formatos de datos primarios completamente diligenciados al líder del laboratorio.
- Realizar revisión de datos primarios y cálculos realizados en los cuadros de mandos, informar al líder del laboratorio en caso de observar alguna desviación en los resultados obtenidos teniendo en cuenta las cartas control.
- Registrar los resultados de los ensayos de control de calidad y hacer el análisis de tendencias de estos.
- Realizar la revisión de resultados teniendo en cuenta la normativa vigente si esta aplica.
- Informar al líder de laboratorio las desviaciones que se den durante el desarrollo del método.
- Reportar y registrar los trabajos no conformes derivados del análisis al líder del laboratorio.
- Informar cualquier incidente que suceda durante la realización del método.
- Revisar que los equipos usados en el desarrollo del método tengan mantenimiento, calibración y/o verificación vigente, de acuerdo con el programa de mantenimiento y calibración.

#### 6. FORMATOS RELACIONADOS.

SOFT-TC-024 Formato cuadro de mando para el ensayo de Proteína en alimentos

FOR-TC- 042 "Formato para el registro de datos primarios para el ensayo de Proteínas-Método Kjeldahl "

<b>aoxlab</b>	<b>Procedimiento de ensayo Determinación de Proteínas-Método Kjeldahl</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-052</b>
		<b>Revisión: 9</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2025-12-19</b>

## 7. ANEXOS.

No aplica.