

**Marc Garcia Cots**

**VALIDACIÓ DE FIBRES DIETÈTIQUES TOTALS EN ALIMENTS PEL MÈTODE  
GRAVIMÈTRIC ENZIMÀTIC**

**TREBALL DE FI DE GRAU**

**dirigit pel Sr. David Rull Ferré**

**Grau de Química**



**UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI**

**Tarragona**

**2016**



## **RESUM**

En una societat on la salut del consumidor és de vital importància, s'ha de garantir que tots els aliments, durant la seva elaboració, producció, manipulació, emmagatzematge, i distribució siguin innocus, sans i aptes pel consum humà. Un control de la qualitat d'aquests aliments, evita barreres en transaccions comercials, facilita la cooperació tecnològica entre països i crea confiança entre fabricants, subministradors i clients.

Actualment, l'empresa Agrolab Ibérica S.L.U. ja està acreditada per determinar la fibra dietètica total (FDT) en la matriu cereals, farines i derivats però la gran demanda del mercat fa que sigui necessària una ampliació de l'acreditació a totes les matrius d'aliments.

En aquest treball de fi de grau, es realitza una validació de fibres dietètiques totals, pel mètode gravimètric - enzimàtic per acreditar-se segons la ISO 17025:2005 en diferents famílies d'aliments. El mètode d'anàlisi es basa en el mètode oficial AOAC 991.43. A partir de materials de referència certificats, sobrants d'exercicis interlaboratoris i mostres reals, es cobriran totes les possibles matrius en els aliments.

## **ABSTRACT**

In a society where the consumer health is vital, it must be ensured that all foods during their manufacturing process, production, handling, storage, and distribution are safe, healthy and are suitable for human consumption. The quality control of these foods, avoids barriers with business transactions, facilitates technological cooperation between countries and creates confidence among manufacturers, suppliers and customers.

The company Agrolab Ibérica S.L.U. is already accredited to determine the total dietary fiber (TDF) in the grains, flours and derivatives matrix. However, the large market demand makes it necessary to extend the certification to all food matrices.

In this bachelor's degree final project, it is performed a validation of total dietary fiber to the entire range of food, by gravimetric - enzymatic method accredited according to ISO 17025: 2005. The analysis method is based on the AOAC Official Method 991.43. Thanks to certified reference materials, of interlaboratory exercises and real food samples, the food triangle will be completed, covering all possibilities in food matrices.

## DEFINICIONS

- Exactitud: Grau de concordança entre el resultat d'un assaig i el valor de referència acceptat. Implica una combinació d'una component aleatòria (precisió) i una component d'error sistemàtica (veracitat).
- Veracitat: Grau de concordança existent entre el valor mitjà obtingut d'una gran sèrie de resultats i un valor acceptat com a referència.
- Precisió: El grau de concordança entre els resultats obtinguts al aplicar el procediment experimental repetides vegades sota les condicions establertes. La precisió depèn només de la distribució d'errors aleatoris i no té ninguna relació amb el valor verdader o valor especificat. Es calcula com la desviació estàndard dels resultats de les mesures. Una menor precisió es veu reflectida per una major desviació estàndard.
- Repetibilitat: Precisió sota condicions en les que els resultats d'una mesura s'obtenen amb el mateix mètode, amb el mateix operador, utilitzant el mateix instrument de mesura i durant un curt interval de temps.
- Reproductibilitat: Precisió sota condicions en les que els resultats d'una medicació s'obtenen amb el mateix mètode, amb diferents operadors, diferents equips de mesura, diferents laboratoris... Si es realitza en el mateix laboratori, s'anomena reproductibilitat intermèdia.
- Incertesa: Estimació que caracteritza el interval de valors en el que es situa, generalment amb una alta probabilitat donada, el valor verdader de la magnitud mesurada. Inclou diferents components, alguns poden estimar-se a partir de la distribució estadística dels resultats de sèries de mesura, i poden caracteritzar-se per la desviació típica mostral.
- Interval de treball: És el interval de concentració en el que es pot obtindre una exactitud i precisió adequats a l'objectiu del mètode. És necessari per definir l'abast del mètode.
- Límit de quantificació: El valor de concentració mínim que pot determinar-se amb un nivell acceptable d'exactitud i precisió.
- Material de referència certificat: Material de referència acompanyat d'un certificat, en el que un o més valors de les seves propietats estan certificats per un procediment que estableix la seva traçabilitat amb una realització exacta de la unitat en la que s'expressen els valors de la propietat i per la que cada valor certificat s'acompanya d'una incertesa amb una indicació d'un nivell de confiança.
- Outlier: és una observació que és significativament diferent a la resta de dades.
- Traçabilitat: Propietat del resultat d'una medicació o d'un patró tal que pot relacionar-se per mitjà d'una cadena ininterrompuda de comparacions tenint totes les incerteses determinades.
- Validació: Confirmació mitjançant examen i la aparició d'evidències objectives de que s'ha complert els requisits particulars per una utilització específica prevista.

# ÍNDIX

1.	DADES GENERALS .....	1
1.1.	Dades personals de l'alumne .....	1
1.2.	Dades de l'Empresa.....	1
2.	INTRODUCCIÓ.....	2
3.	OBJECTIUS .....	5
4.	HISTÒRIA DE LA FIBRA DIETÈTICA .....	6
4.1.	Composició de la fibra.....	7
4.1.1.	Composició de la paret cel·lular .....	7
4.1.2.	Mètodes enzimàtic-gravimètrics.....	7
5.	CONTROL I ASSEGURAMENT DE LA QUALITAT. VALIDACIÓ D'UN MÈTODE ANALÍTIC .....	10
5.1.	Generalitats d'una validació.....	10
5.2.	Esquema del procés de validació .....	10
5.2.1.	Definició del procés de validació.....	10
5.2.2.	Obtenció dels paràmetres de validació.....	12
5.2.3.	Avaluació dels resultats.....	12
5.3.	Estadística de validació .....	12
5.3.1.	Càlcul de l'exactitud .....	12
5.3.2.	Avaluació de l'Índex de Compatibilitat, IC .....	13
5.3.3.	Càlcul de la precisió.....	14
6.	METODOLOGIA I PLA DE TREBALL.....	15
6.1.	Principi.....	15
6.2.	Normes de seguretat.....	15
6.3.	Equips i material.....	15
6.4.	Reactius .....	15
6.5.	Mostreig, preparació i manipulació de mostres .....	16
6.6.	Procediment operatori.....	17
6.6.1.	Extracció de sucre / greix de la mostra .....	17
6.6.2.	Digestió enzimàtica de la mostra .....	17
6.6.3.	Digestió, destil·lació i valoració .....	18
6.7.	Calibratge de l'equip .....	18
6.7.1.	Calibratge del titrino .....	18
6.8.	Càlcul i expressió dels resultats.....	19
6.9.	Pla de treball .....	20

7. RESULTATS.....	22
8. CONCLUSIONS .....	29
9. ANNEX .....	30
10. BIBLIOGRAFIA .....	42

## 1. DADES GENERALS

### 1.1. Dades personals de l'alumne

Cognoms: Garcia Cots DNI: 39920132-K  
Nom: Marc  
Direcció: C/ Terra Alta, 14 C.P.: 43850  
Població: Cambrils  
Telf: 692 637 544  
e-mail: [marc.garciaco@estudiants.urv.cat](mailto:marc.garciaco@estudiants.urv.cat) / [marc.gar64@gmail.com](mailto:marc.gar64@gmail.com)  
Director treball: David Rull Ferré  
e-mail: [david.rull@agrolab-iberica.com](mailto:david.rull@agrolab-iberica.com)  
Tutora acadèmica: Marta Calull

### 1.2. Dades de l'Empresa

Nom de l'Empresa/Institució: Agrolab Ibérica S.L.U.  
Direcció: Ctra. Valencia, 205  
C.P.: 43006  
Població: Tarragona, Espanya  
Telèfon: 977 55 11 14

## 2. INTRODUCCIÓ

Les empreses alimentàries antigament realitzaven una producció continua i, una vegada acabat el producte, es realitzaven anàlisis sobre aquest producte acabat. Això suposava un gran risc, tan pel consumidor com per l'empresa, ja que si apareixia algun problema en aquests anàlisis, l'única solució que quedava era tirar tota la mercaderia produïda, i en el cas que ja estigués en el mercat, retirar-ho dels establiments, donant mala fama tan al producte com a l'empresa. A més, amb aquest tipus de control, l'única manera d'obtenir un anàlisi nutricional i microbiològic de tota la producció era analitzant-la al 100%, que òbviament, estava fora de l'abast de l'empresa i per tant no havia aquest control exhaustiu dels aliments.

A part del problema del control del producte final, s'ha d'afegir que la falta de control durant tota la producció fa augmentar l'aparició de productes defectuosos ja que si arriba un lot de matèria prima contaminada, afectarà a tot el procés i no es sabrà on ha sigut el focus contaminant.

Per aquestes raons, s'ha implantat en les empreses tota una estructura per gestionar la qualitat. Es va desenvolupar el 1970 un sistema conegut com "Anàlisi de Perills, Punts Crítics i de Control" conegut amb les sigles APPCC. Per exemple, els tipus de mostres analitzades en un programa de gestió de qualitat d'una empresa d'alimentació poden incloure matèries primes, les mostres de control de processos, productes acabats, les mostres de la competència i mostres de queixes del consumidor. Per a dur a terme aquesta tasca es realitzen activitats coordinades per dirigir, executar i controlar la política de qualitat.

A partir d'aquest punt, les empreses de qualsevol sector donen importància a la qualitat dels seus productes i en tot el procés que està involucrat. S'han definit uns indicadors de qualitat, que són uns paràmetres físics, químics o bioquímics mesurables que permeten verificar que el producte compleix amb l'estàndard de qualitat. Per a realitzar tots aquests índexs de qualitat hi ha organitzacions que estan acreditades per donar un reconeixement formal de que un organisme és competent per a dur a terme tasques específiques.

La indústria alimentària s'ha vist obligada a canviar els seus sistemes de control, especialment amb la introducció dels sistemes de gestió i assegurement de la qualitat segons les normes de la sèrie coneguda com ISO 9000.

L'Entitat Nacional d'Acreditació(ENAC), és una organització privada, independent i sense ànim de lucre que té com a objectiu coordinar un sistema d'acreditació segons els criteris i normes establerts internacionalment. Pot acreditar a laboratoris d'assaig i calibratge segons la norma UNE-EN ISO/IEC 17025:2005 en que aquests laboratoris poden certificar que el producte que analitzen és conforme a uns requisits establerts.

Aquesta norma té com a objectiu promoure la confiança dels laboratoris que treballin amb ella i només és aplicable a laboratoris d'assaig i calibratge els quals venen els seus serveis analítics i duen a terme tasques de rutina. Dóna informació tècnica sobre objectius, ús d'equips, mètode i instruccions, manipulació i presa de mostra, traçabilitat,...

Per obtenir aquesta ISO, s'han de validar els mètodes del laboratori, i sempre que es modifiqui algun dels paràmetres, tornar a validar el mètode amb la variable nova.

Per la realització d'aquest projecte de fi de grau, ha sorgit la oportunitat en l'empresa Agrolab Ibérica S.L.U., en la que s'ha realitzat les pràctiques externes durant dos mesos, de participar en un projecte per realitzar la validació de fibres dietètiques totals per a diferents matrius d'aliments. Actualment ja estan validats per la matriu cereals, farines i derivats. Per poder ampliar-ho a tots els aliments s'ha volgut completar el que es coneix com el triangle dels aliments. L'Associació de Químics Analítics Oficials (AOAC) va proposar aquest esquema per dividir els aliments

ens diferents matrius. Els vèrtexs del triangle conté grups d'aliments que són 100% greix, 100% proteïnes i 100% hidrats de carboni tal i com es veu en la figura 1. Aquests tres nutrients són els que tenen el major efecte en el funcionament del mètode analític. Es va subdividir el



Figura 1. Triangle dels aliments amb les 9 combinacions

triangle en 9 combinacions possibles de nivells segons el tan per cent de cada nutrient. Són col·locats en el triangle segons el seu contingut de greix, hidrats de carboni i proteïnes. En general, es busca un mètode el qual pugui realitzar l'anàlisi en qualsevol de les 9 combinacions del triangle sense haver d'alterar el mètode original.

En la taula 1 es pot observar les mostres que s'analitzen en aquesta validació i en quina posició del triangle ocupen.

Taula 1. Posició que ocupen les mostres en funció de la proteïna, greix i hidrats de carboni

Mostra	% proteïna	% greix	% hidrats de carboni	Número
Paté	26	66	8	1
Nutella	5	33,2	62	2
Mostassa	29	46	26	3
Cacauets	34	48	18	4
Sopa	8	24	68	5
Cordon bleu	30	29	40	6
Pollastre i noodle	41	4	56	7
Cacau	44	28	28	8
Pernil curat	80	17	3	9

Agrolab Group és una empresa multinacional d'àmbit europeu d'anàlisi químic que realitza anàlisis ràpids, eficients i altament especialitzats amb una gran competència en el sector analític. Té diferents seus repartides per tota Europa. La seu a Espanya és Agrolab Ibérica S.L.U.

Destaca per la seva elevada rapidesa en el processat de comandes, des de la presa de mostres fins l'avaluació dels resultats. Té un alt nivell de servei tècnic i pot adquirir gran quantitat de mostres i realitzar els anàlisis en temps curts.

Agrolab Ibérica S.L.U té tres Centres de Treball: Tarragona, València i Burgos. L'àrea de treball de Tarragona se centra en:

- Anàlisi d'aigües (potables i residuals)
- Anàlisi mediambiental i sòls contaminats
- Anàlisi d'aliments per consum humà
- Anàlisi de pinsos i matèries primes

El laboratori Agrolab Ibérica S.L.U. ubicat a Tarragona està acreditat i altament especialitzat. Garanteixen resultats fiables i temps d'anàlisi breus. A part, creen plans d'estudi individuals i organitzen el transport de mostres al laboratori. Els diferents reconeixements i acreditacions que té són:

- Títol d'Entitat Col·laboradora de la Administració Hidràulica. Expedient EC 036/1
- Laboratori acreditat per GAFTA en cereals i pinsos
- Laboratori acreditat per 258/LE529 per ENAC en la norma UNE-EN ISO/ 17025 en assaigs en el sector mediambiental.
- Laboratori acreditat per 258/LE530 per ENAC en la norma UNE-EN ISO/ 17025 en assaigs en el sector agroalimentari.
- Inscripció del laboratori LSAA-043-95
- Habilitació de laboratoris d'anàlisi de contaminants atmosfèrics
- Reconeixement de Laboratori Acreditat de forma conjunta Agrolab Ibérica + Agrolab Labor, GmbH (Bruckberg)
- Reconeixement de Laboratori Acreditat de forma conjunta Agrolab Ibérica + AWV DR BUSSE, GmbH (Plauen)
- Reconeixement com Establiment Tècnic Auxiliar de l'Agència Catalana d'Aigua. Nivell A
- Laboratori reconegut com Organisme de Control Acreditat
- Laboratori homologat per la realització d'anàlisis d'aigües residuals conforme a la ORDEN MAM/985/2006
- Laboratori acreditat nº AC.377/ III
- Laboratori acreditat com col·laborador del Institut Aragonès de l'Aigua. NºREC-19
- Laboratori Autoritzat com Organisme de Control en Matèria Mediambiental

### **3. OBJECTIUS**

- Validar el mètode oficial AOAC 991.43 per cobrir tot el triangle dels aliments i així completar la família "aliments" a partir d'obtenir els criteris d'acceptació d'exactitud, precisió i incertesa.

#### 4. HISTÒRIA DE LA FIBRA DIETÈTICA

Des de principis del segle passat, s'han formulat diferents preguntes sobre la fibra: és un component obligatori en la dieta; pot tenir algun efecte perjudicial; un nutrient essencial o un modulador desitjable en el tracte gastrointestinal?

Totes aquestes preguntes també han estat formulades per les indústries alimentàries i per tant, es necessita saber quina i quanta fibra s'ha d'ingerir per tenir una dieta equilibrada, i com a conseqüència, quantificar-la de manera exacta en els aliments.

Pel consumidor, està associada amb alguns efectes beneficiosos per la salut, pel que manufactura cereals per l'esmorzar té un gran efecte de màrqueting, pel nutricionista és una característica beneficosa d'una dieta i per l'analista és un grup de substàncies químiques.

La fibra no constitueix un grup químic definit, sinó una combinació de substàncies químicament heterogènies com la cel·lulosa, hemicel·lulosa, lignina,...<sup>1</sup>

El desenvolupament de les investigacions sobre fibra permeten enriquir els coneixements sobre les propietats nutricionals i fisiològiques dels constituents fibrosos dels aliments, així com de les patologies digestives associades a la falta de fibra<sup>2</sup>, i actualment qualsevol estudi sobre composició d'aliments inclou el de fibra.

Per tant, constitueix avui en dia un component important dels aliments vegetals i rep una particular atenció mundial que es tradueix en una proliferació d'estudis relacionats amb les seves propietats, composició, aïllament i paper que exerceix en l'organisme.

Actualment la fibra dietètica representa fundamentalment un concepte nutricional, que inclou aspectes botànics (paret cel·lular de les plantes), fisicoquímics (matriu) i fisiològics (resistència a la digestió en l'intestí prim).<sup>3</sup>

En la taula 2 es veu reflectit les principals fites històriques en relació amb la fibra dietètica.

Taula 2. Principals fites en la història de l'estudi sobre la fibra dietètica.

<b>Autor</b>	<b>Any</b>	<b>Aportació</b>
<b>Hipòcrates</b>	400 a.C.	Efecte beneficiós
<b>Kellog</b>	1923	Altament beneficiós per l'organisme
<b>McCance y Lawrence</b>	1929	Carbohidrats inútils
<b>Walker</b>	1947	Funció de la fibra en l'aparell digestiu
<b>Hipsley</b>	1953	Conjunt de cel·lulosa, hemicel·lulosa i lignina
<b>Cleave</b>	1956	Síndrome de deficiència de fibra
<b>Walker</b>	1974	Relació entre consum de fibra i incidència d'arteriosclerosi, hemorroides i càncer de colon
<b>Trowell</b>	1978	Polisacàrids no digerits per secrecions endògenes del tracte digestiu humà
<b>AOAC</b>	1990	Mètodes oficials d'anàlisi
<b>Schweizer</b>	1991	Concepte nutricional amb aspectes botànics, fisicoquímics i fisiològics
<b>Cho et al.</b>	1997	Polisacàrids no midó de la paret cel·lular de les plantes
<b>Mongeau et al.</b>	1999	Condicions perquè un material sigui considerat fibra

#### 4.1. Composició de la fibra

La paret cel·lular (PC) de fruites, vegetals, llegums i cereals constitueix quasi tota la fibra de la dieta.

##### 4.1.1. Composició de la paret cel·lular

Els constituents fonamentals de la fibra són components estructurals de la PC dels vegetals. Es distingeixen una fase fibril·lar constituïda per cel·lulosa i una altra d'amorfa de composició química complexa.<sup>3</sup>

- Fase fibril·lar: La cel·lulosa és un homopolímer lineal d'alt pes molecular i amb un grau de polimerització superior a 15.000 unitats. Està estabilitzat per ponts d'hidrogen intra i intermoleculars amb una orientació paral·lela o antiparal·lela.
- Fase amorfa: Tot i ser de composició heterogènia formada per una gran varietat de polisacàrids, es poden distingir dos tipus de grups.
  - o Les hemicel·luloses, el qual és un conjunt d'heteropolisacàrids complexos que contenen entre dos i quatre tipus de sucres. L'esquema de la taula 3 dóna una relació dels principals polisacàrids inclosos en aquest grup.

Taula 3. Quadre resum de les diferents hemicel·luloses que formen la paret cel·lular.

Hemicel·lulosa	Unitats	Fonts
<b>Xilà</b>	$\beta$ -1,4-xilosa	Sègol, fusta, tomàquet, oliva
<b>Glucomanà</b>	$\beta$ -1,4-glucosa	
<b>Galactoglucomanà</b>	$\beta$ -1,4-manosa $\alpha$ -1,6-galactosa	Llavor d'espàrrec, móra
<b>Manà</b>	$\beta$ -1,4-manosa	Llavor de cafè, gira-sol,
<b>Galactomanà</b>	$\alpha$ -1,6-galactosa	bleda-rave
<b>Glucuronomanà</b>	$\alpha$ -1,2-manosa $\beta$ -1,4-glucurònic	Tabac
<b>Xiloglucà</b>	$\beta$ -1,4-glucosa $\alpha$ -1,6-xilosa $\beta$ -1,2-galactosa $\alpha$ -1,2-fructosa	Fesol, col, carabassa, ceba
<b><math>\beta</math>-1,3-b-1,4-glucà</b>	$\beta$ -1,3-glucosa $\beta$ -1,4-glucosa	Blat, ordi
<b>Arabinogalactà II</b>	$\beta$ -1,3-galactosa $\beta$ -1,6-galactosa 1,3-arabonisa 1,6-arabinosa	Llavor de cafè

- o La lignina i altres compostos fenòlics els quals determinen les característiques de la fibra. És la responsable de la dificultat de degradar la fibra ja que forma una espècie de pantalla que dificulta l'accessibilitat d'agents químics o enzimàtics als altres components de la fibra.

##### 4.1.2. Mètodes enzimàtic-gravimètrics

Els primers intents d'utilitzar enzims per eliminar proteïnes i midó van ser l'any 1975 utilitzant pepsina i pancreatina pel mètode Hellendoorn<sup>4</sup> el qual amb un atac àcid i amb correcció de pH es podia obtenir la fibra insoluble de la mostra. Més endavant es van desenvolupar altres mètodes capaços d'aïllar per separat la fibra insoluble i la soluble, obtenint aquesta última per

precipitació amb etanol. Tots aquests mètodes canvien el tipus d'enzim, els tampons utilitzats o les correccions de pH però tenen la mateixa base. Aquests sistemes permeten tenir una valoració de la fibra dietètica total, suma de les dos, així com poder conèixer la composició química i les propietats fisiològiques de cada una de elles.<sup>5</sup>

Alguns d'aquests mètodes, han sigut reconeguts internacionalment com vàlids per l'anàlisi de la fibra i de les seves diferents fraccions en vegetals i aliments de la dieta humana o animal. Per a que un mètode sigui reconegut oficialment per la AOAC ha de tenir bona reproductibilitat i ha de estar validat per estudis interlaboratoris, en els que es compara el mètode en qüestió amb altres ja acceptats. A continuació es resumeix els mètodes oficials d'anàlisi de la AOAC sobre la fibra dietètica.<sup>3,6</sup>

- Fibra dietètica total. Mètode enzimàtic-gravimètric, referència 985.29: Les mostres seques i desengreixades, per duplicat, es gelatinitzen amb  $\alpha$ -amilasa i es realitza una digestió amb proteasa i amiloglucosidasa per eliminar proteïnes i midó. S'afegeix un volum determinat d'etanol per precipitar la fibra dietètica soluble. El residu total es filtra, es neteja amb etanol al 78%, etanol al 95% i acetona. Després del secat es pesa. En un dels duplicats es quantifica el contingut de proteïnes i en l'altre les cendres per incineració. El pes del residu es corregeix amb el contingut de proteïnes i cendres, obtenint la quantitat de fibra dietètica total.
- Fibra dietètica insoluble. Mètode enzimàtic-gravimètric, tampó fosfat, referència 991,42: El mètode és similar a l'anterior encara que separant el sobrenedant (fibra dietètica soluble) per filtració després de la digestió amb proteasa i amiloglucosidasa. Amb el residu es continua igual que en el mètode anterior obtenint la quantitat de fibra dietètica insoluble.
- Fibra dietètica total, soluble i insoluble. Mètode enzimàtic-gravimètric, tampó MES-TRIS, referència 991.43: El mètode és similar a l'anterior però precipitant la fibra soluble en el filtrat de la digestió per addició d'un volum determinat d'etanol.
- $\beta$ -D-glucà en fraccions d'ordi i civada i en flocs de cereals, referència 992.28, 995.16: Després de moldre, les mostres es tracten amb liquenasa per convertir els  $\beta$ -glucans mixtes en una mescla de  $\beta$ -oligosacàrids. Els polisacàrids insolubles s'eliminen per centrifugació. El sobrenedant es tracta amb  $\beta$ -glucosidasa, completant la hidròlisi dels  $\beta$ -glucans fins a glucosa. A l'afegir la peroxidasa-glucosa oxidasa a la glucosa es transforma en un producte acolorit que es determina espectrofotomètricament a 505 nm.
- Fructans en aliments. Mètode de cromatografia d'intercanvi iònic, referència 997.08: Aquest mètode s'aplica a fructans afegits a aliments elaborats. S'extreuen de la mostra amb aigua bullint. Una alíquota de l'extracte s'hidrolitza utilitzant amiloglucosidasa liofilitzada per eliminar el midó present. Posteriorment, part d'aquest hidrolitzat es tracta amb inulinasa i es determina els sucres alliberats. La mostra inicial, el primer i el segon hidrolitzats s'analitzen per cromatografia d'intercanvi iònic d'alta resolució, quantificant la quantitat de glucosa i fructosa alliberats pel tractament amb inulinasa.
- Polidextrosa en aliments, referència 2000.11: La polidextrosa s'extreu de l'aliment amb aigua calenta i després es centrifuga. El sobrenedant es tracta amb una mescla d'enzims. Per detectar i quantificar fraccions d'alt pes molecular de polidextrosa s'utilitza cromatografia d'intercanvi aniònic d'alta pressió.

A més de tots aquests mètodes de determinació directa de fibra, també existeixen altres mètodes per determinar substàncies relacionades com el midó en plantes, cereals, fruites i cacau; la lignina en plantes i pinsos; farines amilàcies en derivats carnis; gomes en formatges i gelats; i agar en productes carnis. Cada una d'aquestes determinacions té mètodes oficials diferents. En la figura 2 es pot observar esquemàticament alguns dels mètodes oficials i els components de fibra dietètica que determina. Com es pot veure, l'anàlisi és complex per culpa de la complexitat de la fibra, que fa que encara no hagi un mètode oficial que determini tots els components de la fibra.

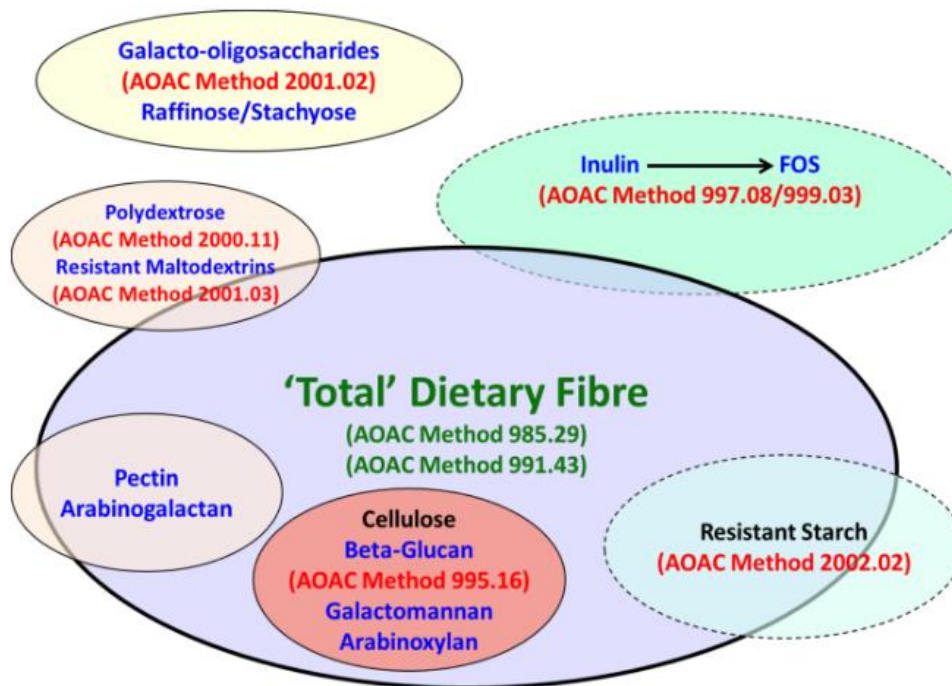


Figura 2. Diagrama amb els diferents mètodes oficials i els components que determina

## **5. CONTROL I ASSEGURAMENT DE LA QUALITAT. VALIDACIÓ D'UN MÈTODE ANALÍTIC**

El control de la qualitat i l'assegurament de la qualitat tenen un paper central en l'assegurament de la fiabilitat dels resultats analítics.<sup>7</sup> El control de la qualitat fa referència a les activitats que es duen a terme per a assegurar l'exactitud i la precisió dels resultats analítics. El control de la qualitat es basa en procediments normalitzats de treball<sup>8</sup> documentats que especifiquen exactament les etapes que s'han de seguir des de la presa de mostra fins al càlcul dels resultats a partir de les dades primàries. L'assegurament de la qualitat fa referència a les indicacions quantitatives que serveixen per a avaluar si s'han assolit els requeriments de qualitat. Pot incloure dades que mostrin que uns blancs apropiats donen uns senyals baixos, que els anàlisis replicats són reproductibles,... A part, pot incloure la creació de documentació que provi que les mostres s'han conservat de manera adequada, que s'han dut a terme el manteniment dels instruments, que les variacions dels resultats són petites i degudes a l'atzar,...

Els mètodes analítics se seleccionen segons els requeriments específics, com ara la qualitat de les dades, les limitacions econòmiques i la disponibilitat d'equipament. Una vegada triat el mètode, s'ha de seleccionar les condicions per a la preparació de la mostra i el procediment analític.<sup>8</sup>

La validació del mètode és un procés que serveix per a provar que un mètode analític és apropiat per a l'objectiu que pretén assolir.<sup>9</sup> A continuació es mostra com validar un mètode.

### **5.1. Generalitats d'una validació**

Per realitzar una validació, s'ha d'assignar un responsable, de manera que la validació s'efectua de manera metòdica, ordenada, traçable i fiable.

La validació té com a objectiu comprovar que un mètode és apropiat per atendre les necessitats del tipus o camp d'aplicació donats:

- *Mètodes estandarditzats que s'apliquen exactament com es descriu en un mètode oficial:* La finalitat de la validació és una verificació per evidenciar que el laboratori coneix el mètode i l'aplica correctament (participant en exercicis interlaboratoris, analitzant una substància de control amb gràfics de control, verificant alguna característica del procés com incertesa, límits,...).
- *Mètodes estandarditzats en els que es realitza una modificació significativa al procediment descrit en el estàndard, que pot influir en la qualitat dels resultats:* la finalitat de la validació serà evidenciar que aquella modificació no compromet la fiabilitat ni l'exactitud del mètode original, i que el laboratori coneix el mètode i l'aplica correctament.
- *Mètodes interns desenvolupats pel laboratori:* la finalitat de la validació és evidenciar amb fonament estadístic que el mètode és adequat per l'ús previst.

### **5.2. Esquema del procés de validació**

#### **5.2.1. Definició del procés de validació**

Abans de començar amb els assajos de validació, s'ha d'establir les proves que es realitzaran tenint en compte el mètode, la matriu a validar, la legislació que s'aplica,... A continuació es detallen els següents punts del procés de validació.

### 5.2.1.1. Paràmetres de validació i els seus criteris d'acceptació

S'estableixen en funció dels requisits legals, l'ús previst, l'experiència sobre la tècnica,...

Si és una comprovació del mètode, aquest ha de complir els criteris acceptats en la validació prèvia.

Per demostrar que un mètode és vàlid per l'ús previst, seleccionarem els paràmetres a determinar en funció del tipus d'assaig tal i com es veu en la taula 4:

Taula 4. Paràmetres de validació segons el tipus d'anàlisi

Tipus d'anàlisi	Paràmetre
<b>Determinació quantitativa d'un component</b>	Rang de treball
	Límit de quantificació
	Linealitat/Funció resposta
	Precisió (repetibilitat/reproductibilitat)
	Exactitud
	Incertesa
<b>Determinació qualitativa</b>	Interferències
	Límit detecció

Sempre que es produeixi una modificació del mètode validat (canvis de patrons de linealitat, de senyal analítica per la quantificació, de la quantitat de mostra en la preparativa, de canvis de matriu,...) s'haurà de comprovar els paràmetres de validació.

### 5.2.1.2. Tipus de mostres a validar

Per validar mètodes quantitativs és indispensable partir de materials que tinguin assignats un valor de referència: material de referència certificat, mostra sobrant amb valor assignat d'exercicis interlaboratoris, addicions de substàncies pures,...

Tots els valors tindran una incertesa coneguda i compatible amb els requisits especificats.

Els materials que s'utilitzen corresponen a mostres amb matriu representativa de l'abast que té el mètode.

Si no es disposa de cap material de referència certificat o sobrant d'exercici interlaboratori, es pot validar amb una mostra real pels criteris de matriu i concentració requerides. S'estimarà la incertesa avaluant la precisió.

Les mostres que es validen en aquest mètode provenen d'organitzacions que distribueixen materials de referència certificats (MRC), sobrants d'exercicis interlaboratoris, etc.

Les mostres provenen de:

- LGC standards: Poma, pastanaga i fesols (MRC). Pollastre i noodle, pernil curat i paté (sobrants d'exercicis interlaboratoris)
- Bipea: Cordon bleu, mostassa, Nutella, sopa (sobrants d'exercicis interlaboratoris)
- Mostra real: cacau (es desconeix el valor de referència)

A continuació es mostra en la taula 5 els valors de referència i la seva incertesa per cada mostra:

Taula 5. Valor de referència i incertesa per cada tipus de mostra

Mostra	Valor de referència	Incertesa
Mostassa	4,1	0,2
Nutella	2,7	0,3
Sopa	1,5	0,1
Cacau	~32	-
Pollastre i noodle	1	0,06
Cordon bleu	1,5	0,2
Pernil curat	1	0,13
Paté	0,8	0,26
Poma	14,9	1,0
Pastanaga	29,5	0,4
Fesols	25,9	1,5

*Nota: No s'ha pogut validar la mostra cacauets i per tant en aquest treball no s'ha tingut en compte a la hora de donar resultats.*

### 5.2.1.3. Disseny experimental i estadístic de la validació

Les validacions dels mètodes quantitius es realitzen:

- En tot el rang de treball o d'aplicació del mètode
- Amb diverses matrius representatives
- Inclouran:
  - o Com a mínim dos mostres que es corresponen al càlcul d'incertesa en el límit de quantificació i en el rang alt.
  - o Analitzar les mostres per duplicat en condicions de repetibilitat seguin el mètode analític complet. Mínim 10 dies en condicions de repetibilitats i reproductibilitat.

### 5.2.2. Obtenció dels paràmetres de validació

Tots els resultats obtinguts en la validació seran utilitzats en el tractament estadístic. Únicament es descartaran resultats outliers fruit d'algun tipus d'error humà o de l'equip. S'haurà d'anotar la justificació del per què es descarta.

Es crearà una fulla de dades de validació on s'introduiran els criteris dels paràmetres de validació i els resultats finals obtinguts.

### 5.2.3. Avaluació dels resultats

Quan ja es tinguin els resultats dels paràmetres de validació del mètode, s'han d'analitzar per comprovar si compleixen o no amb els objectius fixats. Si es compleixen es declararà el mètode vàlid i apropiat pel seu ús. Es pot declarar vàlid però amb restriccions, en quant a l'abast o les matrius que són permeses, si no s'han complert algun dels requisits.

## 5.3. Estadística de validació

Amb els resultats obtinguts es pot calcular els paràmetres de validació<sup>10</sup>, procedint segons la següent seqüència<sup>11</sup>:

### 5.3.1. Càlcul de l'exactitud

Es comença calculant l'exactitud mitjançant la fórmula següent:

$$\text{Exactitud} = \frac{V_{Ri} - \bar{X}_i}{V_{Ri}} \times 100\%$$

On:

$V_{Ri}$  = Valor de referència

$X_i$  = Valor mitjà

### 5.3.2. Avaluació de l'Índex de Compatibilitat, IC

Aquest valor dóna informació sobre si existeixen o no diferències estadísticament significatives entre el valor acceptat com a referència i el valor mitjà obtingut pel laboratori (veracitat), en funció de si compleix o no la següent fórmula:

$$\frac{|V_{Ri} - \bar{X}_i|}{\sqrt{u_{V_{Ri}}^2 + u_m^2}} \leq 1$$

On:

$V_{Ri}$  = Valor de referència

$X_i$  = Valor mitjà

$u_{V_{Ri}}^2$  = Incertesa del valor de referència

$u_m^2$  = Incertesa de la mitjana

- Si la exactitud compleix amb els criteris d'acceptació:
  - $IC \leq 1$ : significa que no existeixen diferències significatives entre el valor de referència i el obtingut pel laboratori. El mètode és exacte en el rang.
  - $IC \geq 1$ : significa que existeixen diferències significatives entre el valor de referència i el obtingut pel laboratori. En aquest cas es tindrà en compte la component de la correcció en la estimació de la incertesa del mètode:

$$U = \frac{|Correcció|}{\sqrt{3}}$$

On:

$$\text{Correcció} = |V_{Ri} - \bar{X}_i|$$

$V_{Ri}$  = Valor de referència

$X_i$  = Valor mitjà

- Si la exactitud no compleix amb els criteris d'acceptació:
  - $IC \leq 1$ : L'índex de compatibilitat resulta satisfactori si algun dels dos components del denominador és excessivament gran:
    - Incertesa del valor de referència excessiu: material de referència no és adequat. S'hauria de realitzar proves amb un material de referència amb menor incertesa per comprovar la exactitud.
    - Incertesa de la mitjana elevada: pot ser que s'hagi realitzat un número insuficient de mesures.

- $IC \geq 1$ : significa que el mètode no és exacte, ja que existeixen diferències significatives entre les mesures. Comprovar que el mètode compleix amb els criteris de precisió, on el laboratori es pot plantejar accions de correcció de resultats com aplicar un factor de correcció als resultats per proporcionar dades suficientment exactes. S'haurà de confirmar amb proves complementàries la idoneïtat del factor.

### 5.3.3. Càlcul de la precisió

Per conèixer la desviació estàndard de la repetibilitat ( $S_r$ ), s'avaluarà per cada dia, la desviació estàndard dels resultats. Es calcula amb la següent fórmula:

$$S_r = \sqrt{\frac{\sum (S_i)^2}{n}}$$

On:

$S_i$ : desviació estàndard de repetibilitat obtingudes en 10 dies

$n$  = número de dies

També es calcula la desviació estàndard de reproductibilitat ( $S_R$ ), com:

$$S_R = \sqrt{S_r^2 + S_m^2}$$

On:

$S_r$  = desviació estàndard de repetibilitat

$S_m$  = Desviació estàndard de les mitjanes dels 10 dies

La precisió pot expressar-se de diferents formes:

- *Com coeficient de variació*: Per cada una de les mostres es calcula segons la fórmula següent:

$$CV = \frac{S_i}{X_i} \times 100\%$$

- *Com repetibilitat i reproductibilitat ( $r$  i  $R$ )*: S'entén aquesta "r" o "R" com la diferència màxima entre dos valors en el mateix nivell de concentració.

$$r = 2 \times \sqrt{2} \times S_r$$

$$R = 2 \times \sqrt{2} \times S_R$$

## **6. METODOLOGIA I PLA DE TREBALL**

Com s'ha dit anteriorment, aquesta validació es realitza aplicant el mètode oficial AOAC 991.43 per la determinació de la fibra dietètica total (FDT) en aliments.<sup>12</sup>

### **6.1. Principi**

La mostra per duplicat, prèviament desengreixada, és sotmesa a una digestió enzimàtica amb calor per eliminar el midó i la proteïna. Després de la digestió enzimàtica, es tracta amb alcohol per precipitar la fibra dietètica soluble abans de filtrar. El residu total és rentat amb alcohol i acetona, secat i pesat. El resultat de FDT s'obté a partir del contingut de la fracció fibra + proteïna i la fracció proteïna. Als resultats empírics es resta el valor obtingut pel blanc. La massa restant és el contingut de FDT en el producte.

### **6.2. Normes de seguretat**

- Àcid bòric: Pot perjudicar a la fertilitat. Pot danyar al fetus. Utilitzar equip de protecció individual obligatori (ulleres, guants, bata i mascareta).

### **6.3. Equips i material**

- Balança analítica de resolució 0,1 mg
- Balança granetari de resolució 0,01 g
- Rampa filtració
- Equip de filtració
- Bomba de buit
- Bany d'aigua de  $98\pm 2^{\circ}\text{C}$  i  $60\pm 1^{\circ}\text{C}$ , amb mobilitat a 100 rpm.
- Placa calefactora
- Estufa  $103\pm 2^{\circ}\text{C}$
- Mufla  $525\pm 5^{\circ}\text{C}$
- Dessecador
- Nevera entre  $3^{\circ}\text{C}$  i  $7^{\circ}\text{C}$
- Termòmetre
- Digestor
- Destil·lador
- Titrino (valorador automàtic potenciomètric)
- Micropipetes
- Gerres
- Material variat de laboratori (tubs de destil·lador, erlenmeyers, gots precipitats,...)
- Paper alumini
- Tubs de 50 mL de plàstic
- Dosificadors
- Gresols filtrants de vidre, amb una placa filtrant de porositat n<sup>o</sup>4.
- Gresols de vidre, amb una placa filtrant de porositat n<sup>o</sup>2.

### **6.4. Reactius**

- Etanol absolut al 99,9%
- Acetona
- Èter de petroli
- Èter dietílic

- Celite 545 (terra de diatomees)
  - MES: àcid 2-morfolinoetanolsulfònic monohidratat
  - TRIS: tris (hidroximetil)aminometà
  - Hidròxid de sodi 1M
  - $\alpha$ -amilasa
  - Proteasa
  - Amiloglucosidasa
  - Àcid clorhídric 1M
  - Àcid clorhídric 0,25M
  - Àcid sulfúric al 95%
  - Pastilles catalitzadores (3,5g  $K_2SO_4$ / 0,4g  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ )
  - Ataronjat de metil
  - Àcid bòric
  - Hidròxid de sodi al 32%
  - Solucions tampó pH 7,00, pH 4,00, pH 9,22, pH 12,00
  - Solució Buffer MES-TRIS: dissoldre en aigua destil·lada 6,1g de TRIS i 9,76g de MES en 1L d'aigua. Ajustar pH a 8,2 amb NaOH 1M. Preparar-ho diàriament.
- Nota: si la temperatura del buffer no és de 24°C, ajustar pH segons la taula 6:*

Taula 6. Ajustar pH segons la temperatura del buffer

Temperatura	Lectura pH	Temperatura	Lectura pH
20	8,30	25	8,18
21	8,28	26	8,15
22	8,25	27	8,13
23	8,23	28	8,10
24	8,20		

- Etanol al 95% (v/v): 950 mL etanol absolut i enrasar a 1L amb aigua destil·lada.
- Etanol al 85% (v/v): 850 mL etanol absolut i enrasar a 1L amb aigua destil·lada.
- Etanol al 78% (v/v): 780 mL etanol absolut i enrasar a 1L amb aigua destil·lada.
- Àcid clorhídric 0,325M: Dissoldre 325 ml HCl 1M i enrasar a 1L amb aigua destil·lada.
- Solució àcid bòric al 2%: Dissoldre 20g d'àcid bòric i enrasar a 1L amb aigua destil·lada.

### 6.5. Mostreig, preparació i manipulació de mostres

Les mostres es reben en el departament, pre-dessecades en els casos que sigui necessari, homogeneïtzades i triturades. Cada mostra es troba continguda en un envàs de plàstic, identificat amb una etiqueta amb informació general de la mostra com la referència, data d'obertura, analista que l'ha obert, data de finalització de la mostra,...Tota la informació relativa de cada mostra és traçable a través de la referència associada.

Les mostres s'obtenen d'organismes distribuïdors de materials de referència certificats, materials de referència, sobrants d'exercicis interlaboratoris,...

Les mostres obtingudes per aquesta validació són:

- Materials de referència certificats: poma, pastanaga i fesols.
- Sobrants d'exercicis interlaboratoris: mostassa, Nutella, sopa, pollastre and noodle, cordon bleu, paté i pernil curat
- Mostres reals: cacau

## 6.6. Procediment operatori

### 6.6.1. Extracció de sucre / greix de la mostra

- Pesar en la balança analítica per duplicat (per poder quantificar la fracció fibra + proteïna i la fracció proteïna) en un gresol de placa porosa nº4, 1g de mostra. La diferència dels pesos en els duplicats no ha de ser major que 0,0020g.  
Com es realitza una validació i es necessita obtenir els termes de precisió, es pesarà per duplicat (per tant, per cada mostra, obtindrem 4 gresols).
- Realitzar un assaig en blanc, en el que pesem 1g de celite 545 per duplicat en un gresol de placa porosa nº4, sense superar la diferència de pesos de 0,0020g.
- Col·locar els gresols en la rampa de filtració.
- Afegir aproximadament 20 mL d'etanol al 85% i agitar amb una vareta de vidre fins homogeneïtzar la mostra.
- Repetir el procés.
- Afegir aproximadament 20 mL d'èter etílic i agitar amb una vareta de vidre fins homogeneïtzar la mostra.
- Repetir el procés.
- Afegir aproximadament 20 mL d'èter de petroli i agitar amb una vareta de vidre fins homogeneïtzar la mostra.
- Repetir el procés.
- Assecar durant una nit a l'estufa de 40°C per eliminar els dissolvents.

### 6.6.2. Digestió enzimàtica de la mostra

- Traspasar la mostra desengreixada del gresol a un erlenmeyer de 250 mL amb l'ajuda d'una espàtula.
- Afegir 40 mL de solució buffer MES-TRIS.
- Afegir 50,00 µL de  $\alpha$ -amilasa i homogeneïtzar. Tapar amb paper d'alumini.
- Incubar amb agitació entre 50-80 rpm durant 15 minuts en un bany de  $98 \pm 2^\circ\text{C}$ .
- Refredar els erlenmeyers durant 10 minuts a temperatura ambient.
- Afegir 10 mL d'aigua a temperatura ambient.
- Afegir 100,00 µL de proteasa i homogeneïtzar. Tapar amb paper d'alumini.
- Incubar amb agitació entre 50-80 rpm durant 30 minuts en un bany de  $60 \pm 1^\circ\text{C}$ .
- Immediatament després de treure les mostres del bany, afegir 10,00 mL de HCl 0,325M i ajustar a pH  $4,5 \pm 0,2$  amb NaOH 1M en el titrino.
- Afegir 300,00 µL de amiloglucosidasa i homogeneïtzar. Tapar amb paper d'alumini.
- Incubar 30 minuts en el bany de  $60 \pm 1^\circ\text{C}$  amb agitació entre 50-80 rpm.
- 10 minuts abans de retirar les mostres del bany a  $60 \pm 1^\circ\text{C}$ , ficar a escalfar 4L d'etanol al 95% en plaques calefactores fins que la temperatura sigui aproximadament  $60^\circ\text{C}$ .
- Passat els 30 minuts del bany i tenint la solució d'etanol calenta, retirar del bany i afegir al erlenmeyer aproximadament 225 mL de l'etanol al 95%.
- Tapar amb paper d'alumini i deixar precipitar durant 1 hora a temperatura ambient.
- Pesar 1g de celite 545 en un gresol filtrant de vidre de porositat nº2 per cada erlenmeyer (a excepció dels gresols del blanc que estaran buits).
- Acoblar els gresols en l'equip de filtració.
- Un cop passada la hora de precipitació, afegir la mostra del erlenmeyer en el tub de l'equip amb el gresol corresponent.

- Filtrar al buit el residu.
- Netejar el residu del gresol i agitar amb la vareta de vidre:
  - o 15 mL Etanol 78% (3 vegades)
  - o 10 mL Etanol 95% (2 vegades)
  - o 10 mL Acetona (5 vegades)
- Treure els gresols de l'equip de filtració i secar-los durant tota una nit en la estufa de  $103\pm 2^{\circ}\text{C}$ .
- El gresol per determinar la Fracció Fibra + Proteïna:
  - o Refredar en el dessecador i pesar (pes mostra seca).
  - o Posar el gresol en la mufla a  $525\pm 5^{\circ}\text{C}$  durant 5 hores
  - o Refredar en el dessecador i pesar (pes mostra calcinada).
- El gresol per determinar la Fracció Proteïna seguir l'apartat 6.6.3.

### 6.6.3. Digestió, destil·lació i valoració

#### 6.6.3.1. Digestió

- Refredar en el dessecar fins a temperatura ambient els gresols de la Fracció Proteïna.
- Traspasar el residu del gresol a un tub de destil·lació amb l'ajuda d'una espàtula.
- Apuntar la referència del tub i comprovar que concorda amb la referència del gresol.
- Afegir 2 pastilles catalitzadores.
- Afegir 18 mL d'àcid sulfúric al 95%.
- Inserir els tubs en la gradeta de l'equip digestor i seleccionar el programa específic per l'anàlisi FDT.
- Extreure els tubs de l'equip.

#### 6.6.3.2. Destil·lació

- Introduir el tub de vapor en l'interior del tub de destil·lació, acoblant-lo en l'equip tal i com es veu en la figura 3.
- En la part dreta, col·locar un got de precipitats amb 50,0 mL de la solució d'àcid bòric al 2% introduint el conducte de sortida del destil·lat en el seu interior.
- Un cop acabat el programa, retirar el got de precipitats amb el destil·lat.

#### 6.6.3.3. Valoració amb HCl 0,25M

- Introduir un iman en el got de precipitats amb el destil·lat i col·locar-lo en un agitador magnètic.
- Submergir l'elèctrode i la bureta de HCl en el got de precipitats.
- Seleccionar el programa i realitzar la valoració.
- Imprimir les dades obtingudes i enregistrar el volum consumit de HCl.

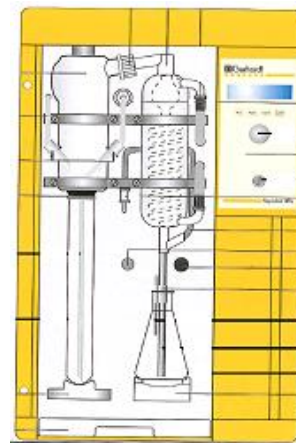


Figura 3. Equip de destil·lació automàtic

### 6.7. Calibratge de l'equip

#### 6.7.1. Calibratge del titrino

- Cada dia, al encendre el Titrino, realitzar el calibratge.
- Encendre impressora i el Titrino.

- Seleccionar programa de calibratge.
- El Titrino indicarà la solució tampó pH 7,00, pH 4,00, pH 9,22, pH 12,00.
- Netejar l'elèctrode amb aigua destil·lada.
- Submergir la solució tampó 1, pH 7,00.
- Quan la lectura sigui estable, l'equip indicarà submergir el següent tampó.
- Repetir el procés pels altres tampons.
- Al finalitzar el calibratge es mostraran les dades obtingudes: lectura de pH i pendent.
- Imprimir el calibratge.
- Enregistrar els valors de pH i la seva pendent i verificar si el calibratge és acceptable segons criteris interns de qualitat.
- Si no és acceptable, repetir el calibratge amb tampons nous.

### 6.8. Càlcul i expressió dels resultats

El resultat del contingut de FDT es calcula de la següent manera:

$$\%F+P = \frac{M_{rs} - M_{rc}}{M_{m1}} \times 100\%$$

On:

%F+P= Fracció Fibra + Proteïna, en %.

$M_{rs}$ = Pes del residu sec (Estufa 103±2°C), en g.

$M_{rc}$ = Pes del residu cendres (Mufla 525±5°C), en g.

$M_{m1}$ = Pes mostra de la fracció Fibra + Proteïna, en g.

$$\%P = \frac{V_{HCl} \times 0,25 \times 6,25 \times 0,014}{M_{m2}} \times 100\%$$

On:

%P= Fracció Proteïna, en %.

$V_{HCl}$ = Volum de HCl 0,25M gastats en la valoració.

0,25= Molaritat del HCl.

6,25= Factor de conversió de nitrogen a Proteïna.

0,014= Pes molecular del nitrogen × factor de conversió de mg a g.

$M_{m2}$ = Pes mostra de la fracció Proteïna, en g.

$$\%FD_b = \%F+P - \%P$$

$$\%FD_m = \%F+P - \%P$$

On:

% $FD_b$ = Fibra Dietètica blanc, en %.

% $FD_m$ = Fibra Dietètica de la mostra, en %.

$$\%FDT = \%FD_m - \%FD_b$$

On:

%FDT= Fibra Dietètica Total, en %.

Enregistrar les dades de pesada, intermedis i el resultat final en la fulla de càlcul del registre de dades.

## 6.9. Pla de treball

Per validar cada mostra s'ha d'obtenir un total de 10 resultats per duplicat per poder calcular els paràmetres de qualitat. En el laboratori es poden analitzar entre 3 i 5 mostres a la vegada. En la taula 7 i taula 8 es pot observar el pla de treball diari que es realitza per validar 3 mostres durant 10 dies. El procés es repeteix per cada grup de 3-5 mostres diferents.

Taula 7. Pla de treball diari al laboratori per validar una mostra

	<b>Dia 1</b>	<b>Dia 2</b>	<b>Dia 3</b>	<b>Dia 4</b>	<b>Dia 5</b>	<b>Dia 6</b>
<b>Mostra 1</b>	<u>Duplicat 1:</u> Desengreixar (1 nit estufa 40°C)	<u>Duplicat 1:</u> Digestió enzimàtica (1 nit estufa 103°C) <u>Duplicat 2:</u> Desengreixar (1 nit estufa 40°C)	<u>Duplicat 1:</u> Fracció Fibra+Proteïna: pesar, mufla 525°C (5h), pesar. Fracció Proteïna: Digestor+destil·lació+valoració <u>Duplicat 2:</u> Digestió enzimàtica (1 nit estufa 103°C) <u>Duplicat 3:</u> Desengreixar (1 nit estufa 40°C)	<u>Duplicat 2:</u> Fracció Fibra+Proteïna: pesar, mufla 525°C (5h), pesar. Fracció Proteïna: Digestor+destil·lació+valoració <u>Duplicat 3:</u> Digestió enzimàtica (1 nit estufa 103°C) <u>Duplicat 4:</u> Desengreixar (1 nit estufa 40°C)	<u>Duplicat 3:</u> Fracció Fibra+Proteïna: pesar, mufla 525°C (5h), pesar. Fracció Proteïna: Digestor+destil·lació+valoració <u>Duplicat 4:</u> Digestió enzimàtica (1 nit estufa 103°C) <u>Duplicat 5:</u> Desengreixar (1 nit estufa 40°C)	<u>Duplicat 4:</u> Fracció Fibra+Proteïna: pesar, mufla 525°C (5h), pesar. Fracció Proteïna: Digestor+destil·lació+valoració <u>Duplicat 5:</u> Digestió enzimàtica (1 nit estufa 103°C) <u>Duplicat 6:</u> Desengreixar (1 nit estufa 40°C)
<b>Mostra 2</b>	<u>Duplicat 1:</u> Desengreixar (1 nit estufa 40°C)	<u>Duplicat 1:</u> Digestió enzimàtica (1 nit estufa 103°C) <u>Duplicat 2:</u> Desengreixar (1 nit estufa 40°C)	<u>Duplicat 1:</u> Fracció Fibra+Proteïna: pesar, mufla 525°C (5h), pesar. Fracció Proteïna: Digestor+destil·lació+valoració <u>Duplicat 2:</u> Digestió enzimàtica (1 nit estufa 103°C) <u>Duplicat 3:</u> Desengreixar (1 nit estufa 40°C)	<u>Duplicat 2:</u> Fracció Fibra+Proteïna: pesar, mufla 525°C (5h), pesar. Fracció Proteïna: Digestor+destil·lació+valoració <u>Duplicat 3:</u> Digestió enzimàtica (1 nit estufa 103°C) <u>Duplicat 4:</u> Desengreixar (1 nit estufa 40°C)	<u>Duplicat 3:</u> Fracció Fibra+Proteïna: pesar, mufla 525°C (5h), pesar. Fracció Proteïna: Digestor+destil·lació+valoració <u>Duplicat 4:</u> Digestió enzimàtica (1 nit estufa 103°C) <u>Duplicat 5:</u> Desengreixar (1 nit estufa 40°C)	<u>Duplicat 4:</u> Fracció Fibra+Proteïna: pesar, mufla 525°C (5h), pesar. Fracció Proteïna: Digestor+destil·lació+valoració <u>Duplicat 5:</u> Digestió enzimàtica (1 nit estufa 103°C) <u>Duplicat 6:</u> Desengreixar (1 nit estufa 40°C)
<b>Mostra 3</b>	<u>Duplicat 1:</u> Desengreixar (1 nit estufa 40°C)	<u>Duplicat 1:</u> Digestió enzimàtica (1 nit estufa 103°C) <u>Duplicat 2:</u> Desengreixar (1 nit estufa 40°C)	<u>Duplicat 1:</u> Fracció Fibra+Proteïna: pesar, mufla 525°C (5h), pesar. Fracció Proteïna: Digestor+destil·lació+valoració <u>Duplicat 2:</u> Digestió enzimàtica (1 nit estufa 103°C) <u>Duplicat 3:</u> Desengreixar (1 nit estufa 40°C)	<u>Duplicat 2:</u> Fracció Fibra+Proteïna: pesar, mufla 525°C (5h), pesar. Fracció Proteïna: Digestor+destil·lació+valoració <u>Duplicat 3:</u> Digestió enzimàtica (1 nit estufa 103°C) <u>Duplicat 4:</u> Desengreixar (1 nit estufa 40°C)	<u>Duplicat 3:</u> Fracció Fibra+Proteïna: pesar, mufla 525°C (5h), pesar. Fracció Proteïna: Digestor+destil·lació+valoració <u>Duplicat 4:</u> Digestió enzimàtica (1 nit estufa 103°C) <u>Duplicat 5:</u> Desengreixar (1 nit estufa 40°C)	<u>Duplicat 4:</u> Fracció Fibra+Proteïna: pesar, mufla 525°C (5h), pesar. Fracció Proteïna: Digestor+destil·lació+valoració <u>Duplicat 5:</u> Digestió enzimàtica (1 nit estufa 103°C) <u>Duplicat 6:</u> Desengreixar (1 nit estufa 40°C)



## 7. RESULTATS

A continuació es mostren els resultats en funció de l'ordre d'anàlisi de les mostres. En la taula 9 les mostres són la mostassa, Nutella, sopa i cacau. En la taula 10 les mostres són de la família de fruites i verdures. En la taula 11 les mostres són carns i derivats. Els resultats son en tan per cent de fibra dietètica total respecte la mostra natural.

Taula 9. Resultats dels anàlisis per duplicat de les mostres mostassa, Nutella, sopa i cacau durant els 10 dies

<b>MATRIU: Aliments</b>								
	<b>Mostassa</b>		<b>Nutella</b>		<b>Sopa</b>		<b>Cacau</b>	
<b>DIA 1</b>	3,38 %	3,83 %	2,52 %	2,43 %	1,22 %	1,63 %	29,67 %	29,20 %
<b>DIA 2</b>	3,25 %	3,28 %	2,27 %	2,07 %	1,10 %	1,30 %	31,92 %	30,94 %
<b>DIA 3</b>	3,32 %	3,50 %	2,49 %	2,50 %	1,26 %	1,27 %	30,69 %	31,21 %
<b>DIA 4</b>	3,44 %	3,89 %	2,46 %	2,23 %	1,06 %	1,14 %	31,35 %	29,57 %
<b>DIA 5</b>	2,77 %	3,19 %	2,20 %	2,18 %	1,19 %	1,44 %	29,60 %	29,79 %
<b>DIA 6</b>	3,13 %	3,44 %	2,27 %	2,51 %	1,26 %	1,55 %	30,10 %	29,97 %
<b>DIA 7</b>	3,16 %	3,64 %	2,77 %	2,82 %	1,26 %	1,09 %	30,21 %	29,42 %
<b>DIA 8</b>	2,95 %	3,26 %	2,15 %	2,50 %	1,26 %	1,00 %	30,19 %	30,05 %
<b>DIA 9</b>	3,22 %	3,64 %	2,38 %	2,09 %	-	-	30,81 %	31,16 %
<b>DIA 10</b>	3,09 %	2,77 %	2,18 %	2,06 %	-	-	31,50 %	31,71 %

Taula 10. Resultats dels anàlisis per duplicat de les mostres fruites i verdures durant els 10 dies

<b>MATRIU: Fruitas i verdures</b>						
	<b>Poma</b>		<b>Pastanaga</b>		<b>Fesols</b>	
<b>DIA 1</b>	15,28 %	15,58 %	31,08 %	30,76 %	26,04 %	25,11 %
<b>DIA 2</b>	16,32 %	16,54 %	30,35 %	31,12 %	26,11 %	26,82 %
<b>DIA 3</b>	16,08 %	16,25 %	30,45 %	31,34 %	26,44 %	25,96 %
<b>DIA 4</b>	15,20 %	15,93 %	30,44 %	29,88 %	26,31 %	26,10 %
<b>DIA 5</b>	16,15 %	16,03 %	29,77 %	30,67 %	26,27 %	27,44 %
<b>DIA 6</b>	15,79 %	15,85 %	30,99 %	30,11 %	25,21 %	27,00 %
<b>DIA 7</b>	15,55 %	14,79 %	30,35 %	31,29 %	25,23 %	26,51 %
<b>DIA 8</b>	15,28 %	15,60 %	31,03 %	30,24 %	26,10 %	25,53 %
<b>DIA 9</b>	15,36 %	15,23 %	30,83 %	31,18 %	26,18 %	26,73 %
<b>DIA 10</b>	15,14 %	15,22 %	30,34 %	30,83 %	25,77 %	26,61 %

Taula 11. Resultats dels anàlisis per duplicat de les mostres carns i derivats durant els 10 dies

<b>MATRIU: Carns i derivats</b>								
	<b>Pollastre i noddle</b>		<b>Cordon bleu</b>		<b>Pernil curat</b>		<b>Paté</b>	
<b>DIA 1</b>	1,04 %	0,96 %	1,20 %	1,37 %	0,63 %	0,68 %	1,12 %	1,22 %
<b>DIA 2</b>	0,81 %	1,06 %	0,98 %	0,99 %	0,30 %	0,29 %	0,26 %	0,26 %
<b>DIA 3</b>	1,09 %	1,21 %	1,25 %	1,43 %	0,74 %	0,37 %	0,97 %	0,97 %
<b>DIA 4</b>	1,08 %	0,76 %	1,75 %	1,21 %	1,03 %	1,06 %	0,42 %	0,56 %
<b>DIA 5</b>	1,02 %	0,81 %	0,98 %	0,97 %	0,02 %	0,29 %	0,31 %	0,95 %
<b>DIA 6</b>	0,79 %	1,10 %	1,32 %	0,92 %	0,50 %	0,55 %	0,50 %	0,93 %
<b>DIA 7</b>	1,16 %	0,97 %	0,96 %	1,07 %	0,30 %	0,28 %	0,10 %	0,61 %
<b>DIA 8</b>	1,05 %	1,12 %	0,72 %	1,72 %	-	-	0,39 %	0,12 %
<b>DIA 9</b>	1,00 %	1,05 %	1,39 %	1,04 %	-	-	0,38 %	0,73 %
<b>DIA 10</b>	1,06 %	0,95 %	1,09 %	0,95 %	-	-	0,23 %	0,26 %

Per avaluar els resultats, es va seguir els criteris acceptats segons el registre de validació del 2013 de la matriu Cereals Farines i Derivats (CFD) tal i com es mostra en la taula 12:

Taula 12. Criteris acceptats segons Registre de Validació 2013 de CFD

<b>Matriu</b>	Cereals, farines i derivats				
<b>Assaig</b>	Fibra dietètica				
<b>Mètode</b>	Mètode oficial 991.43				
<b>Rang</b>	<b>Exactitud % acceptada</b>	<b>CV<sub>r</sub> % acceptat</b>	<b>CV<sub>R</sub> % acceptat</b>	<b>U % acceptat</b>	<b>Data registre validació</b>
1%	10	10	15	34	17-05-13
>1-4%	10	10	15	24	17-05-13
>4-15%	8	10	10	17	17-05-13
>15-30%	4	4	5	9	17-05-13

A continuació es mostren els resultats de la validació per cada mostra. En la taula 13 hi ha els criteris de validació de la mostassa, Nutella, sopa i cacau. En la taula 14 de les mostres fruites i verdures, i en la taula 15 per les mostres de carn i derivats.

Taula 13. Resultats paràmetres validació per la les mostres mostassa, Nutella, sopa i cacau

Paràmetres		Mostassa	Nutella	Sopa	Cacau
Exactitud	Requerida	8	10	10	-
	Obtinguda	19,33	13,52	18,04	-
	Resultat	<i>No compleix</i>	<i>No compleix</i>	<i>No compleix</i>	-
Índex de compatibilitat	Valor	3,45	1,12	2,00	-
	Resultat	Hi ha dif. sig.	Hi ha dif. sig.	Hi ha dif. sig.	-
Precisió repetibilitat	CV requerida	10	10	10	4
	CV obtinguda	7,76	5,87	13,51	1,8
	r	0,73	0,39	0,48	1,56
	Resultat	<i>Compleix</i>	<i>Compleix</i>	<i>No compleix</i>	<i>Compleix</i>
Precisió Reproductibilitat	CV requerida	10	15	15	5
	CV obtinguda	10,74	10,34	16,66	2,9
	R	1,01	0,69	0,59	2,5
	Resultat	<i>No compleix</i>	<i>Compleix</i>	<i>No compleix</i>	<i>Compleix</i>
Incertesa	Expandida	1,19	0,81	0,49	1,5
	Relativa	36,08%	34,29%	39,52%	4,9%

Taula 14. Resultats paràmetres validació per les mostres fruites i verdures

Paràmetres		Poma	Pastanaga	Fesols
Exactitud	Requerida	8	4	4
	Obtinguda	5,16	3,91	2,08
	Resultat	<i>Compleix</i>	<i>Compleix</i>	<i>Compleix</i>
Índex de compatibilitat	Valor	0,75	2,60	0,18
	Resultat	No hi ha dif. sig.	Hi ha dif. sig.	No hi ha dif. sig.
Precisió repetibilitat	CV requerida	10	4	4
	CV obtinguda	1,70	1,70	2,59
	r	0,75	1,45	1,92
	Resultat	<i>Compleix</i>	<i>Compleix</i>	<i>Compleix</i>
Precisió Reproductibilitat	CV requerida	10	5	5
	CV obtinguda	3,31	1,90	2,95
	R	1,46	1,70	2,18
	Resultat	<i>Compleix</i>	<i>Compleix</i>	<i>Compleix</i>
Incertesa	Expandida	2,12	1,90	3,17
	Relativa	13,51	6,04	12,11

Taula 15. Resultats paràmetres validació per les mostres carns i derivats

Paràmetres		Pollastre i noodle	Cordon bleu	Pernil curat	Paté
Exactitud	Requerida	10	10	10	10
	Obtinguda	9,95	25,43	51,00	46,44
	Resultat	<i>Compleix</i>	<i>No compleix</i>	<i>No compleix</i>	<i>No compleix</i>
Índex de compatibilitat	Valor	0,06	1,50	2,79	0,82
	Resultat	No hi ha dif. sig.	Hi ha dif. sig.	Hi ha dif. sig.	No hi ha dif. sig.
Precisió repetibilitat	CV requerida	10	10	10	10
	CV obtinguda	13,75	24,8	24,71	41,17
	r	0,39	0,82	0,35	0,66
	Resultat	<i>No compleix</i>	<i>No compleix</i>	<i>No compleix</i>	<i>No compleix</i>
Precisió Reproductibilitat	CV requerida	15	15	15	15
	CV obtinguda	15,81	28,8	64,05	69,48
	R	0,45	0,90	0,91	1,11
	Resultat	<i>No compleix</i>	<i>No compleix</i>	<i>No compleix</i>	<i>No compleix</i>
Incertesa	Expandida	0,29	0,80	0,86	0,81
	Relativa	28,52	66,1	170,93	143,52

### Discussió dels resultats:

#### - Mostassa i Nutella:

Observant les dades d'aquestes dues mostres es pot observar que cap de les dues compleixen l'exactitud. En termes de precisió, si compleixen la repetibilitat però no compleixen la reproductibilitat. En els dos casos, tenen incerteses semblants, d'un 35% aproximadament.

Ens indica que tot i tenir resultats molt semblants entre duplicats, al realitzar de nou l'anàlisi el següent dia, no compleix els criteris establerts ja que no s'aproxima el valor entre dies diferents. A part, al no complir amb l'exactitud, vol dir que no s'aproxima el valor calculat amb el valor esperat i per tan la diferència és massa gran com per poder ser acceptat aquest paràmetre.

Per millorar els resultats obtinguts, s'ha repetit dos duplicats més per la mostassa optimitzant el mètode. En comptes de pesar 1g, s'ha pesat 2,5g ja que al contenir un alt % d'humitat, es minimitza l'error per aquest factor. A part, no s'ha desengreixat la mostra al principi, per comprovar si es perdia mostra o no en aquest pas.

Realitzant aquesta optimització del mètode, es pot comprovar en la taula 16 com han millorat els resultats dels anteriors anàlisis.

Taula 16. Resultats de la mostra mostassa per optimització del mètode

<b>MATRIU: Aliments</b>		
	<b>Mostassa</b>	
<b>DIA 1</b>	4,44 %	4,32 %
<b>DIA 2</b>	4,26 %	4,41 %

Realitzant aquests canvis, els paràmetres de validació es veuen reflectits en la taula 17.

Taula 17. Resultats paràmetres validació per la mostra mostassa amb optimització del mètode

<b>Paràmetres</b>		<b>Mostassa</b>
<b>Exactitud</b>	<b>Requerida</b>	8
	<b>Obtinguda</b>	6,28
	<b>Resultat</b>	<i>Compleix</i>
<b>Índex de compatibilitat</b>	<b>Valor</b>	1,21
	<b>Resultat</b>	Hi ha dif. sig.
<b>Precisió repetibilitat</b>	<b>CV requerida</b>	10
	<b>CV obtinguda</b>	2,20
	<b>r</b>	0,27
	<b>Resultat</b>	<i>Compleix</i>
<b>Precisió Reproductibilitat</b>	<b>CV requerida</b>	10
	<b>CV obtinguda</b>	2,32
	<b>R</b>	0,29
	<b>Resultat</b>	<i>Compleix</i>
<b>Incertesa</b>	<b>Expandida</b>	0,61
	<b>Relativa</b>	13,96%

L'exactitud, la precisió (tan la repetibilitat com la reproductibilitat) i la incertesa han millorat considerablement i compleixen tots els criteris marcats *a priori*. Donat que la Nutella tenia valors molt semblants i el tipus de matriu de la mostra també era de característiques similars, es pot plantejar repetir la validació per les dues mostres, mostassa i Nutella, optimitzant el mètode d'aquesta manera.

- *Sopa:*

En la mostra de sopa, tot i no complir cap dels criteris de validació, es pot observar com la precisió s'aproxima bastant al valor requerit. S'ha plantejat les possibles causes d'aquests resultats i al comprovar l'estat de la mostra, es pot veure com s'ha deteriorat en el temps, fent dubtar de la integritat dels nutrients de l'aliment. Una possible causa d'aquesta deterioració de la mostra, pot ser deguda a les diferències de temperatures que ha patit. La mostra es va comprar congelada, a l'arribar es va descongelar i es va guardar en nevera. Cada dia que

s'analitzava, es deixava una hora a temperatura ambient perquè estigués a 25°C i un cop pesada, es tornava a guardar en nevera a 4-6°C. Tots aquests canvis de temperatura poden ser la causa d'aquest deteriorament.

Al finalitzar la validació per aquesta mostra, es va voler repetir dos duplicats més pesant 5g de mostra, ja que el % d'humitat era molt elevat. Es pot observar en la taula 18 i en la taula 19 els resultats d'aquesta optimització.

Taula 18. Resultats de la mostra sopa per optimització del mètode

<b>MATRIU: Aliments</b>		
<b>Sopa</b>		
<b>DIA 1</b>	1,77 %	1,63 %
<b>DIA 2</b>	1,78 %	1,51 %

Taula 19. Resultats paràmetres validació per la mostra sopa amb optimització del mètode

<b>Paràmetres</b>		<b>Sopa</b>
<b>Exactitud</b>	<b>Requerida</b>	10
	<b>Obtinguda</b>	11,50
	<b>Resultat</b>	<i>No compleix</i>
<b>Índex de compatibilitat</b>	<b>Valor</b>	1,15
	<b>Resultat</b>	Hi ha dif. sig.
<b>Precisió repetibilitat</b>	<b>CV requerida</b>	10
	<b>CV obtinguda</b>	9,09
	<b>r</b>	0,43
	<b>Resultat</b>	<i>Compleix</i>
<b>Precisió Reproductibilitat</b>	<b>CV requerida</b>	15
	<b>CV obtinguda</b>	9,38
	<b>R</b>	0,44
	<b>Resultat</b>	<i>Compleix</i>
<b>Incertesa</b>	<b>Expandida</b>	0,59
	<b>Relativa</b>	35,04%

Tot i millorar la precisió, l'exactitud encara està fora dels criteris d'acceptació i la seva incertesa molt elevada. Per l'estat de la mostra, es vol repetir la validació aplicant un canvi a la hora de realitzar els anàlisis: quan arribi la mostra de Bipea, es descongelarà i es guardarà en alíquotes de 5g independents en la nevera. Així la mostra no tindrà tants canvis de temperatura al llarg de la validació.

- *Cacau:*

Per la mostra de cacau, al ser una mostra real i per tant no tenir cap certificat amb el valor de referència i la seva incertesa, no s'ha pogut calcular la exactitud d'aquesta mostra. Tot i això, compleix la precisió (tant la repetibilitat com la reproductibilitat) i la seva incertesa és molt baixa.

- *Poma, pastanaga i fesols:*

Aquestes tres mostres són MRC i per tant els resultats que s'obtinguin són molt importants per validar el mètode.

Els resultats obtinguts compleixen tots els criteris d'acceptació marcats, i les seves incerteses són baixes. En el cas de la pastanaga, hi ha diferències significatives en l'índex de compatibilitat i per tant s'aplica un factor de correcció en el càlcul de la incertesa.

- *Carns i derivats:*

En el cas del pollastre i noodle, els resultats són els que s'aproximen més en els criteris de validació. Tot i no complir amb la precisió, els resultats no s'allunyen dels esperats. L'exactitud si que compleix, per tant els resultats que ens dona són verçosos.

En el cas del cordon bleu, el pernil curat i el paté, cap dels resultats es pot ajustar en els criteris de validació i s'allunyen dels valors esperats. Els últims resultats del pernil curat donaven negatius i ja no s'han tingut en compte.

Al obtenir uns valors tant diferents de totes les altres matrius, s'ha plantejat una problemàtica respecte el tipus de matriu que és, i per tant s'haurà d'optimitzar el mètode.

Les possibles optimitzacions del mètode són:

- Preparativa de mostra: homogeneïtzar la mostra en el departament de preparativa ja que pot ser que vingués poc triturada o no homogeneïtzada.
- Pesar 2,5g de mostra: al ser mostres amb un % d'humitat elevat, es podria minimitzar l'error en aquest factor.
- No desengreixar la mostra: com en el cas de mostres anteriors, el desengreixat és un pas clau que pot causar problemes i per tant, s'ha d'obtenir resultats sense aquesta etapa per veure si aquest factor afecta al resultat.

## **8. CONCLUSIONS**

- Les incerteses tant elevades de les mostres de mostassa, Nutella i carns i derivats han obligat a realitzar una optimització del mètode per minimitzar els errors.
- S'ha pogut aconseguir mostres d'aliments representatives per cobrir tot el triangle dels aliments, tot i que falta repetir les validacions que han causat problemes i que no compleixen amb els criteris de validació.
- La família fruites i verdures ha estat validada pel mètode.
- El desengreixat de la mostra s'ha comprovat que és un pas clau en el mètode i alguns tipus de mostres s'haurà d'optimitzar modificant aquest pas.
- Les condicions d'emmagatzematge durant la validació són importants per no malmetre la mostra.
- S'ha de tenir en compte la humitat de la mostra. En mostres que tinguin un alt % d'humitat, s'haurà de pesar més quantitat de mostra.

## **CONCLUSION**

- The high uncertainties of mustard, Nutella and meat derivatives samples have forced an optimization method to be performed in order to minimize errors.
- Representative food samples have been successfully obtained for covering the food triangle. However, the validations causing issues and not following the criteria must be repeated.
- The fruits and vegetables families have been successfully validated by the method.
- The degreasing of the samples has proven to be a key step in the method. Therefore, this step must to be optimized for specific samples.
- Storage conditions are important during the validation procedure to not damage the sample.
- Humidity has to be taken into account, as samples with high % humidity, need the quantity displayed should be outweighed.

## 9. ANNEX

A continuació es mostren en les taules 20-30 tots els resultats intermedis per arribar al % de fibra dietètica total.

Taula 20. Dades primàries de la mostra mostassa

	% Fibra + % Proteïna		% Proteïna		% Fibra dietètica		% FD mostra - % FD blanc	
	<b>DIA 1</b>	6,71 %	6,90 %	3,16 %	2,89 %	3,55 %	4,00 %	3,38 %
<b>DIA 2</b>	6,81 %	6,74 %	2,85 %	2,75 %	3,96 %	3,99 %	3,25 %	3,28 %
<b>DIA 3</b>	6,42 %	6,54 %	2,80 %	2,75 %	3,61 %	3,79 %	3,32 %	3,50 %
<b>DIA 4</b>	6,71 %	7,14 %	2,87 %	2,85 %	3,84 %	4,29 %	3,44 %	3,89 %
<b>DIA 5</b>	5,86 %	6,38 %	2,76 %	2,86 %	3,10 %	3,52 %	2,77 %	3,19 %
<b>DIA 6</b>	6,08 %	6,43 %	2,68 %	2,72 %	3,40 %	3,71 %	3,13 %	3,44 %
<b>DIA 7</b>	6,65 %	6,92 %	3,10 %	2,91 %	3,54 %	4,02 %	3,16 %	3,64 %
<b>DIA 8</b>	6,45 %	6,63 %	3,17 %	3,05 %	3,28 %	3,59 %	2,95 %	3,26 %
<b>DIA 9</b>	6,65 %	7,06 %	2,92 %	2,91 %	3,73 %	4,15 %	3,22 %	3,64 %
<b>DIA 10</b>	6,31 %	5,97 %	2,61 %	2,65 %	3,69 %	3,33 %	3,09 %	2,77 %

Taula 21. Dades primàries de la mostra Nutella

	% Fibra + % Proteïna		% Proteïna		% Fibra dietètica		% FD mostra - % FD blanc	
	<b>DIA 1</b>	6,09 %	6,17 %	3,40 %	3,58 %	2,69 %	2,60 %	2,52 %
<b>DIA 2</b>	6,19 %	6,34 %	3,21 %	3,56 %	2,98 %	2,78 %	2,27 %	2,07 %
<b>DIA 3</b>	6,21 %	6,22 %	3,43 %	3,43 %	2,78 %	2,79 %	2,49 %	2,50 %
<b>DIA 4</b>	6,13 %	6,06 %	3,27 %	3,43 %	2,86 %	2,63 %	2,46 %	2,23 %
<b>DIA 5</b>	5,89 %	5,84 %	3,36 %	3,33 %	2,53 %	2,51 %	2,20 %	2,18 %
<b>DIA 6</b>	5,85 %	5,96 %	3,31 %	3,18 %	2,54 %	2,78 %	2,27 %	2,51 %
<b>DIA 7</b>	6,33 %	6,47 %	3,18 %	3,27 %	3,15 %	3,20 %	2,77 %	2,82 %
<b>DIA 8</b>	6,19 %	6,60 %	3,71 %	3,78 %	2,48 %	2,83 %	2,15 %	2,50 %
<b>DIA 9</b>	6,36 %	6,04 %	3,47 %	3,44 %	2,89 %	2,60 %	2,38 %	2,09 %
<b>DIA 10</b>	6,04 %	6,00 %	3,26 %	3,34 %	2,78 %	2,66 %	2,18 %	2,06 %

Taula 22. Dades primàries de la mostra Sopa

	% Fibra + % Proteïna		% Proteïna		% Fibra dietètica		% FD mostra - % FD blanc	
	<b>DIA 1</b>	3,83 %	4,17 %	2,41 %	2,35 %	1,41 %	1,82 %	1,22 %
<b>DIA 2</b>	3,77 %	3,83 %	2,17 %	2,01 %	1,61 %	1,81 %	1,10 %	1,30 %
<b>DIA 3</b>	3,82 %	3,75 %	2,29 %	2,23 %	1,52 %	1,53 %	1,26 %	1,27 %
<b>DIA 4</b>	3,79 %	3,81 %	2,44 %	2,37 %	1,36 %	1,44 %	1,06 %	1,14 %
<b>DIA 5</b>	4,05 %	4,32 %	2,44 %	2,45 %	1,62 %	1,87 %	1,19 %	1,44 %
<b>DIA 6</b>	4,11 %	4,42 %	2,43 %	2,45 %	1,68 %	1,97 %	1,26 %	1,55 %
<b>DIA 7</b>	4,16 %	3,62 %	2,47 %	2,10 %	1,70 %	1,53 %	1,26 %	1,09 %
<b>DIA 8</b>	3,91 %	3,89 %	2,18 %	2,42 %	1,73 %	1,47 %	1,26 %	1,00 %
<b>DIA 9</b>	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>DIA 10</b>	-	-	-	-	-	-	-	-

Taula 23. Dades primàries de la mostra Cacao

	% Fibra + % Proteïna		% Proteïna		% Fibra dietètica		% FD mostra - % FD blanc	
<b>DIA 1</b>	44,72 %	44,16 %	14,82 %	14,74 %	29,90 %	29,43 %	29,67 %	29,20 %
<b>DIA 2</b>	46,41 %	46,00 %	14,29 %	14,86 %	32,12 %	31,14 %	31,92 %	30,94 %
<b>DIA 3</b>	45,04 %	45,50 %	14,11 %	14,05 %	30,93 %	31,45 %	30,69 %	31,21 %
<b>DIA 4</b>	46,39 %	44,63 %	14,20 %	14,81 %	31,60 %	29,82 %	31,35 %	29,57 %
<b>DIA 5</b>	44,51 %	44,52 %	14,64 %	14,46 %	29,87 %	30,06 %	29,60 %	29,79 %
<b>DIA 6</b>	45,34 %	45,10 %	14,91 %	14,81 %	30,43 %	30,30 %	30,10 %	29,97 %
<b>DIA 7</b>	44,75 %	44,07 %	14,19 %	14,29 %	30,57 %	29,78 %	30,21 %	29,42 %
<b>DIA 8</b>	44,47 %	44,86 %	14,19 %	14,72 %	30,28 %	30,14 %	30,19 %	30,05 %
<b>DIA 9</b>	46,18 %	45,77 %	14,93 %	14,18 %	31,24 %	31,59 %	30,81 %	31,16 %
<b>DIA 10</b>	46,12 %	46,66 %	14,42 %	14,76 %	31,69 %	31,90 %	31,50 %	31,71 %

Taula 24. Dades primàries de la mostra Poma

	% Fibra + % Proteïna		% Proteïna		% Fibra dietètica		% FD mostra - % FD blanc	
<b>DIA 1</b>	18,1 %	18,80 %	3,20 %	2,99 %	15,51 %	15,81 %	15,28 %	15,58 %
<b>DIA 2</b>	20,38 %	20,27 %	3,86 %	3,53 %	16,52 %	16,74 %	16,32 %	16,54 %
<b>DIA 3</b>	19,71 %	20,41 %	3,39 %	3,92 %	16,32 %	16,49 %	16,08 %	16,25 %
<b>DIA 4</b>	19,58 %	19,45 %	4,13 %	3,27 %	15,45 %	16,18 %	15,20 %	15,93 %
<b>DIA 5</b>	19,87 %	19,69 %	3,45 %	3,39 %	16,42 %	16,30 %	16,15 %	16,03 %
<b>DIA 6</b>	19,60 %	19,48 %	3,48 %	3,30 %	16,12 %	16,18 %	15,79 %	15,85 %
<b>DIA 7</b>	19,07 %	18,41 %	3,16 %	3,25 %	15,91 %	15,15 %	15,55 %	14,79 %
<b>DIA 8</b>	18,26 %	18,73 %	2,89 %	3,05 %	15,37 %	15,69 %	15,28 %	15,60 %
<b>DIA 9</b>	19,55 %	18,99 %	3,76 %	3,32 %	15,79 %	15,66 %	15,36 %	15,23 %
<b>DIA 10</b>	19,08 %	19,15 %	3,43 %	3,43 %	15,65 %	15,73 %	15,14 %	15,22 %

Taula 25. Dades primàries de la mostra Pastanaga

	% Fibra + % Proteïna		% Proteïna		% Fibra dietètica		% FD mostra - % FD blanc	
<b>DIA 1</b>	35,19 %	35,07 %	3,88 %	4,08 %	31,31 %	30,99 %	31,08 %	30,76 %
<b>DIA 2</b>	34,94 %	35,88 %	4,39 %	4,56 %	30,55 %	31,32 %	30,35 %	31,12 %
<b>DIA 3</b>	34,72 %	35,60 %	4,03 %	4,02 %	30,69 %	31,58 %	30,45 %	31,34 %
<b>DIA 4</b>	34,99 %	34,77 %	4,15 %	4,49 %	30,84 %	30,28 %	30,44 %	29,88 %
<b>DIA 5</b>	34,37 %	34,25 %	4,35 %	3,32 %	30,02 %	30,92 %	29,77 %	30,67 %
<b>DIA 6</b>	35,52 %	34,88 %	4,26 %	4,50 %	31,26 %	30,38 %	30,99 %	30,11 %
<b>DIA 7</b>	34,71 %	35,55 %	4,03 %	3,92 %	30,68 %	31,62 %	30,35 %	31,29 %
<b>DIA 8</b>	35,50 %	34,73 %	4,11 %	4,12 %	31,39 %	30,60 %	31,03 %	30,24 %
<b>DIA 9</b>	34,49 %	35,29 %	3,57 %	4,02 %	30,92 %	31,27 %	30,83 %	31,18 %
<b>DIA 10</b>	35,57 %	35,54 %	4,80 %	4,29 %	30,77 %	31,26 %	30,34 %	30,83 %

Taula 26. Dades primàries de la mostra Fesols

	% Fibra + % Proteïna		% Proteïna		% Fibra dietètica		% FD mostra - % FD blanc	
<b>DIA 1</b>	34,74 %	34,12 %	8,46 %	8,78 %	26,27 %	25,34 %	26,04 %	25,11 %
<b>DIA 2</b>	34,95 %	35,82 %	8,65 %	8,80 %	26,31 %	27,02 %	26,11 %	26,82 %
<b>DIA 3</b>	34,25 %	33,24 %	7,57 %	7,04 %	26,68 %	26,20 %	26,44 %	25,96 %
<b>DIA 4</b>	34,62 %	34,85 %	7,91 %	8,35 %	26,71 %	26,50 %	26,31 %	26,10 %
<b>DIA 5</b>	35,31 %	36,41 %	8,79 %	8,72 %	26,52 %	27,69 %	26,27 %	27,44 %
<b>DIA 6</b>	34,01 %	35,87 %	8,53 %	8,60 %	25,48 %	27,27 %	25,21 %	27,00 %
<b>DIA 7</b>	34,09 %	35,16 %	8,53 %	8,31 %	25,56 %	26,84 %	25,23 %	26,51 %
<b>DIA 8</b>	34,01 %	34,28 %	7,55 %	8,39 %	26,46 %	25,89 %	26,10 %	25,53 %
<b>DIA 9</b>	34,36 %	34,78 %	8,08 %	7,96 %	26,27 %	26,82 %	26,18 %	26,73 %
<b>DIA 10</b>	34,73 %	35,14 %	8,52 %	8,09 %	26,20 %	27,04 %	25,77 %	26,61 %

Taula 27. Dades primàries de la mostra Pollastre i noodle

	% Fibra + % Proteïna		% Proteïna		% Fibra dietètica		% FD mostra - % FD blanc	
<b>DIA 1</b>	3,95 %	3,91 %	2,68 %	2,71 %	1,27 %	1,19 %	1,04 %	0,96 %
<b>DIA 2</b>	3,90 %	4,10 %	2,89 %	2,84 %	1,01 %	1,26 %	0,81 %	1,06 %
<b>DIA 3</b>	4,22 %	3,98 %	2,88 %	2,53 %	1,33 %	1,45 %	1,09 %	1,21 %
<b>DIA 4</b>	4,18 %	4,11 %	2,85 %	3,10 %	1,33 %	1,01 %	1,08 %	0,76 %
<b>DIA 5</b>	3,96 %	3,99 %	2,61 %	2,85 %	1,35 %	1,14 %	1,02 %	0,81 %
<b>DIA 6</b>	3,76 %	3,99 %	2,89 %	2,80 %	0,88 %	1,19 %	0,79 %	1,10 %
<b>DIA 7</b>	4,04 %	4,61 %	2,45 %	3,21 %	1,59 %	1,40 %	1,16 %	0,97 %
<b>DIA 8</b>	3,73 %	3,97 %	2,42 %	2,59 %	1,31 %	1,38 %	1,05 %	1,12 %
<b>DIA 9</b>	4,12 %	4,38 %	2,82 %	3,02 %	1,30 %	1,35 %	1,00 %	1,05 %
<b>DIA 10</b>	4,13 %	4,22 %	2,65 %	2,85 %	1,49 %	1,38 %	1,06 %	0,95 %

Taula 28. Dades primàries de la mostra Cordon bleu

	% Fibra + % Proteïna		% Proteïna		% Fibra dietètica		% FD mostra - % FD blanc	
<b>DIA 1</b>	4,93 %	5,14 %	3,54 %	3,58 %	1,39 %	1,56 %	1,20 %	1,37 %
<b>DIA 2</b>	4,45 %	4,82 %	2,96 %	3,31 %	1,49 %	1,50 %	0,98 %	0,99 %
<b>DIA 3</b>	4,79 %	5,18 %	3,28 %	3,49 %	1,51 %	1,69 %	1,25 %	1,43 %
<b>DIA 4</b>	4,87 %	4,74 %	2,82 %	3,23 %	2,05 %	1,51 %	1,75 %	1,21 %
<b>DIA 5</b>	5,02 %	5,08 %	3,60 %	3,68 %	1,41 %	1,40 %	0,98 %	0,97 %
<b>DIA 6</b>	4,98 %	4,89 %	3,23 %	3,55 %	1,74 %	1,34 %	1,32 %	0,92 %
<b>DIA 7</b>	4,77 %	4,89 %	3,37 %	3,38 %	1,40 %	1,51 %	0,96 %	1,07 %
<b>DIA 8</b>	4,52 %	5,15 %	3,37 %	2,99 %	1,16 %	2,16 %	0,72 %	1,72 %
<b>DIA 9</b>	4,84 %	4,70 %	2,98 %	3,19 %	1,86 %	1,51 %	1,39 %	1,04 %
<b>DIA 10</b>	4,78 %	4,80 %	3,36 %	3,53 %	1,41 %	1,27 %	1,09 %	0,95 %

Taula 29. Dades primàries de la mostra Pernil curat

	% Fibra + % Proteïna		% Proteïna		% Fibra dietètica		% FD mostra - % FD blanc	
<b>DIA 1</b>	6,36 %	6,76 %	5,53 %	5,88 %	0,82 %	0,87 %	0,63 %	0,68 %
<b>DIA 2</b>	6,48 %	6,40 %	5,68 %	5,61 %	0,81 %	0,80 %	0,30 %	0,29 %
<b>DIA 3</b>	6,68 %	6,26 %	5,67 %	5,64 %	1,00 %	0,63 %	0,74 %	0,37 %
<b>DIA 4</b>	6,36 %	6,18 %	5,03 %	4,82 %	1,33 %	1,36 %	1,03 %	1,06 %
<b>DIA 5</b>	6,26 %	6,90 %	5,81 %	6,19 %	0,44 %	0,71 %	0,02 %	0,29 %
<b>DIA 6</b>	6,95 %	7,63 %	6,02 %	6,67 %	0,92 %	0,97 %	0,50 %	0,55 %
<b>DIA 7</b>	6,96 %	7,11 %	6,23 %	6,39 %	0,74 %	0,72 %	0,30 %	0,28 %
<b>DIA 8</b>	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>DIA 9</b>	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>DIA 10</b>	-	-	-	-	-	-	-	-

Taula 30. Dades primàries de la mostra Paté

	% Fibra + % Proteïna		% Proteïna		% Fibra dietètica		% FD mostra - % FD blanc	
<b>DIA 1</b>	4,93 %	5,17 %	3,62 %	3,76 %	1,31 %	1,41 %	1,12 %	1,22 %
<b>DIA 2</b>	3,96 %	3,92 %	3,19 %	3,15 %	0,77 %	0,77 %	0,26 %	0,26 %
<b>DIA 3</b>	4,45 %	4,43 %	3,21 %	3,21 %	1,23 %	1,23 %	0,97 %	0,97 %
<b>DIA 4</b>	3,99 %	4,11 %	3,27 %	3,25 %	0,72 %	0,86 %	0,42 %	0,56 %
<b>DIA 5</b>	4,41 %	4,71 %	3,67 %	3,33 %	0,74 %	1,38 %	0,31 %	0,95 %
<b>DIA 6</b>	4,21 %	5,16 %	3,28 %	3,81 %	0,92 %	1,35 %	0,50 %	0,93 %
<b>DIA 7</b>	4,16 %	4,43 %	3,62 %	3,38 %	0,54 %	1,05 %	0,10 %	0,61 %
<b>DIA 8</b>	4,23 %	4,37 %	3,37 %	3,77 %	0,86 %	0,59 %	0,39 %	0,12 %
<b>DIA 9</b>	4,33 %	4,58 %	3,49 %	3,38 %	0,85 %	1,20 %	0,38 %	0,73 %
<b>DIA 10</b>	4,16 %	4,30 %	3,61 %	3,72 %	0,55 %	0,58 %	0,23 %	0,26 %

- Certificats
  - o Pollastre i noodle

Scheme: QFCS - Quality in Food Chemistry PT Scheme

Round: 235

Sample: 772 - Nutritional analysis - Mixed Matrix

Analyte: Total Dietary Fibre

Lab ID	Method	Result (%)	z score
FC0043	AOAC 985.29	1.00	0.00
FC0073	Other	0.26	-1.48
FC3969	AOAC 991.43	2.62	3.24
FC3983	AOAC 985.29	<0.10	
FC4011	AOAC 985.29	1.60	1.20
FC4039	Fibre analyser (e.g. Fibertec)	0.17	-1.66
FC4067	Other	2.09	2.18
FC4107	Fibre analyser (e.g. Fibertec)	0.96	-0.08
FC4333	Other	1.11	0.22
FC4336	AOAC 991.43	0.66	-0.68
FC4368	Other	0.95	-0.10
FC4512	AOAC 991.43	0.80	-0.40
FC4615	AOAC 985.29	1.06	0.12
FC4615	AOAC 991.43	0.90	-0.20
FC4615	Other	0.92	-0.16
FC4874	AOAC 991.43	1.00	0.00
FC4877	AOAC 991.43	1.26	0.52
FC4941	AOAC 991.43	1.00	0.00
FC4946	Fibre analyser (e.g. Fibertec)	1.88	1.76
FC4948	AOAC 991.43	1.10	0.20
FC5018	Other	0.00	
FC5076	AOAC 991.43	1.22	0.44

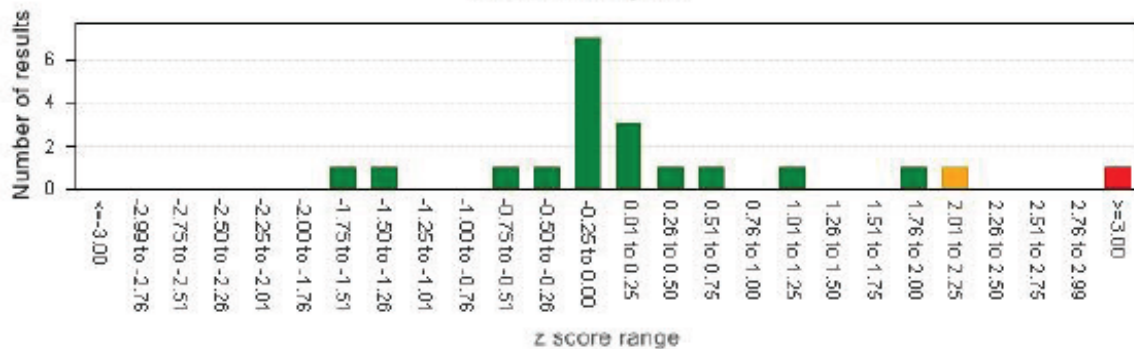
Data Statistics

	Value
Number of Results	22
Number of Excluded Results	2
Mean	1.13 %
Median	1.00 %
Standard Deviation	0.570 %
Robust Standard Deviation	0.230 %
Result Range	0.00 to 2.62 %

Performance Statistics

	Value
Assigned Value	1.00 %
Uncertainty of Assigned Value	0.06 %
SDPA	0.5 %
Satisfactory Range	>0 to 2.00 %
Satisfactory z scores	90.0%
Questionable z scores	5.0%
Unsatisfactory z scores	5.0%

z score Histogram



- Sopa



**Soupe Valeur calorique Minéraux - Echantillon 03-5520**  
**Soup Caloric value Minerals - Sample 03-5520**

CRITERE / CRITERION	FTOT*		FTOTA*		FINS*		FINS*		FSOL*		FSOLA*			
Unité / Unit	g		g		g		g		g		g			
VALEUR ASSIGNEE / ASSIGNED VALUE														
X	1,5		1,5		1,7		1,7							
u <sub>x</sub>	0,1		0,1		0,2		0,2							
s <sup>*</sup> <sub>x</sub>	0,5		0,5		0,3		0,3							
p <sub>x</sub>	22		22		7		7							
APTITUDE / PROFICIENCY														
SDPA	0,3		0,3		0,3		0,3							
VT = 2 x SDPA	0,6		0,6		0,6		0,6							
X + 2 x SDPA	2,1		2,1		2,3		2,3							
X - 2 x SDPA	0,9		0,9		1,1		1,1							
p <sub>D</sub>	4		0		1		2							
LAB.	x	z	x		z		x		z		x		z	
1017	1,3	-0,67												
1076														
1104	1,2	-1,00												
1195														
1234	1,9	1,33												
1266														
1268			AGAC 995.39 and AGAC 995.43	1,1	-1,33									
1357														
1405	1,1	-1,33												
1568							1,0	-2,33						
1582														
1612	1,8	1,00					1,9	0,67			< 0,5			
1656														
1705	1,3	-0,67												
1746														
1787	2,5	3,33					1,8	0,33			< 0,5			
1798	0,9	-2,00												
1810														
1854														
1897														
1952														
1983														
2246														
2401					1,8	1,00	1,8	0,33			< 0,7			
2405														
2520			AGAC 993.19	1,3	-0,67			AGAC 991.42	0,8	-3,00		AGAC 993.19	0,4	
2590														
2600	1,2	-1,00					< 0,5				0,6			
2607	1,4	-0,33												
2640			AGAC 995.43 (mod)	1,7	0,67			AGAC 995.43 (mod)	0,7	-3,33		AGAC 995.43 (mod)	0,9	
2645														
2789	1,3	-0,67												
3033	1,8	1,00												
3061														
3165	1,6	0,33												
3202	1,5	0,00												
3240														
3261														
3307	5,7	14,00					2,0	1,00			3,7			
3308														

**FSOL:** Plus de 25 % des résultats sont exprimés en limite de quantification. La proportion importante de valeurs non quantitatives ne permet pas que la moyenne calculée soit représentative de l'ensemble des résultats reçus. Aucune valeur assignée n'a été estimée.

**FSOL:** More than 25% of the results are expressed as limit of quantification. Due to the high proportion of non-quantitative values, the calculated mean is not representative of all the received results. No assigned value was estimated.

- Mostassa



**Moutarde Valeur calorique - Minéraux - Acides gras - Echantillon 02-6020**  
**Mustard seeds Caloric value - Minerals - Fatty acids - Sample 02-6020**

CRITERE / CRITERION	FTOT*	FTOTA*		FINS*		FINS*		FSOL*		FSOLA*		
Unité / Unit	g	g		g		g		g		g		
VALEUR ASSIGNEE / ASSIGNED VALUE												
X	4,1	4,1		2,9		2,9		0,9		0,9		
u <sub>x</sub>	0,2	0,2		0,2		0,2		0,1		0,1		
s <sup>*</sup> <sub>x</sub>	0,7	0,7		0,4		0,4		0,2		0,2		
p <sub>x</sub>	21	21		8		8		8		8		
APTITUDE / PROFICIENCY												
SDPA	0,6	0,6		0,5		0,5		0,3		0,3		
VT = 2 x SDPA	1,2	1,2		0,9		0,9		0,6		0,6		
X + 2 x SDPA	5,3	5,3		3,8		3,8		1,5		1,5		
X - 2 x SDPA	2,9	2,9		2,0		2,0		0,3		0,3		
p <sub>b</sub>	5	2		1		1		0		0		
LAB.	x	z	x	z	x	z	x	z	x	z	x	z
1012												
1059												
1090	4,0	-0,17										
1094												
1186	4,1	0,00										
1235	5,0	1,50										
1434												
1479												
1611	9,7	9,33			8,3	12,00			0,8	-0,33		
1656												
1752												
1854	3,6	-0,83										
1870												
1895												
1928	3,9	-0,33			2,5	-0,89			1,0	0,33		
1959												
2184	4,1	0,00										
2196												
2201	6,2	3,50										
2254												
2260												
2298												
2344			internal method	3,5	-1,00	2,6	-0,67		0,8	-0,33		
2398												
2420												
2478												
2576	2,3	-3,00										
2723												
2899	4,4	0,50										
2905												
3125												
3136	2,6	-2,50										
3251												
3326												
3365												
3381	4,1	0,00										
3417												
3418												
3428	3,4	-1,17			2,5	-0,89			0,8	-0,33		
3490												

- Nutella



**Pâte à tartiner Valeur calorique Minéraux Acides gras - Echantillon 02-6220**  
**Spread Caloric value Minerals Fatty acids - Sample 02-6220**

CRITERE / CRITERION	FTOT*		FTOTA*		PERO20*		AOLE20*	
Unité / Unit	g		g		meq.kg <sup>-1</sup>		%	
<b>VALEUR ASSIGNEE / ASSIGNED VALUE</b>								
X	2,7		2,7		2,2		0,33	
u <sub>x</sub>	0,3		0,3		0,2		0,06	
s <sup>2</sup> <sub>x</sub>	0,9		0,9		0,8		0,17	
p <sub>x</sub>	15		15		16		11	
<b>APTITUDE / PROFICIENCY</b>								
SDPA	0,5		0,5		0,5		0,07	
VT = 2 x SDPA	1,0		1,0		1,0		0,13	
X + 2 x SDPA	3,7		3,7		3,2		0,46	
X - 2 x SDPA	1,7		1,7		1,2		0,20	
p <sub>0</sub>	5		2		4		4	
LAB.	x	z	x	z	x	z	x	z
1012								
1059								
1090					(A) 2,7	1,00		
1094								
1186	3,6	1,80						
1235	1,0	-3,40						
1434								
1479					(P) 0,2		(Z) 0,15	-2,77
1611					(A) 0,6	-3,20		
1656								
1752								
1854			1,3	-2,80	(Z) 2,0	-0,40		
1870								
1895								
1928								
1959								
2184					(P) 0,4	-3,60		
2196								
2201	2,9	0,40			(A) 2,2	0,00	(J) 0,28	-0,77
2254								
2260	2,6	-0,20						
2298								
2344	2,6	-0,20			(Z) 2,7	1,00	(J) 0,42	1,38
2398								
2420								
2478								
2576	3,6	1,80						
2723			ENZYMATIC	2,3 -0,80				
2858								
2899								
2905								
3125	2,8	0,20					(J) 2,52	
3136	1,5	-2,40			(A) < 0,6		(Z) 0,52	2,92
3251								
3326					(Z) 2,0	-0,40	(J) 0,21	-1,85
3365								
3381	2,7	0,00						
3417								
3418								
3428	2,3	-0,80						

FTOT et AOLE20 : La valeur de tolérance a été exceptionnellement élargie pour tenir compte de l'incertitude-type sur la valeur assignée.

FTOT and AOLE20: The tolerance value was exceptionally widened to take into account the standard uncertainty of the assigned value.

- Cordon bleu



**Cordon bleu Valeur calorique Minéraux - Echantillon 01-7120**  
**Cordon bleu Caloric value Minerals - Sample 01-7120**

CRITERE / CRITERION	GLUD20*		AMIE20*		FTOT*		FTOTA*	
Unité / Unit	g		g		g		g	
<b>VALEUR ASSIGNEE / ASSIGNED VALUE</b>								
X	16,8		12,3		1,5			1,5
u <sub>x</sub>	0,2		0,9		0,2			0,2
s <sup>2</sup> <sub>x</sub>	0,9		2,8		0,6			0,6
p <sub>x</sub>	40		14		26			26
<b>APTITUDE / PROFICIENCY</b>								
SDPA	0,8		2,8		0,4			0,4
VT = 2 x SDPA	1,5		5,6		0,7			0,7
X + 2 x SDPA	18,3		17,9		2,2			2,2
X - 2 x SDPA	15,3		6,7		0,8			0,8
p <sub>0</sub>	5		0		6			3
LAB.	x	z	x	z	x	z	x	z
1017	16,9	0,13			1,4	-0,29		
1076								
1104	17,0	0,27			1,2	-0,86		
1195	15,6	-1,60						
1234								
1266			(E) 13,9	0,57	1,2	-0,86		
1268	16,9	0,13					AOAC 985.29 and AOAC 991.43	1,3 -0,57
1357								
1405	17,7	1,20			2,2	2,00		
1568	17,7	1,20	(E) 13,6	0,46	1,0	-1,43		
1582								
1612	18,3	2,00	(E) 11,6	-0,25	1,3	-0,57		
1656								
1705	17,5	0,93	(E) 10,5	-0,64	0,9	-1,71		
1746	17,5	0,93						
1787	16,7	-0,13	(E) 12,4	0,04	1,3	-0,57		
1798	16,2	-0,80						
1810	17,4	0,80			4,4	8,29		
1854			(Z) 11,7	-0,21	1,1	-1,14		
1897								
1922							AOAC 991.43	0,6 -2,57
1952	16,6	-0,27	(E) 16,5	1,50			AOAC 991.43	1,5 0,00
1983	18,7	2,53						
2246								
2252								
2349	16,3	-0,67						
2401			(Z) 17,2	1,75				1,0 -1,43
2405					1,2	-0,86		
2503	16,6	-0,27	(E) 11,7	-0,21				
2520	17,0	0,27			0,0	-4,29		
2590	16,5	-0,40			3,0	4,29		
2600	16,7	-0,13	(E) 14,0	0,61	1,3	-0,57		
2607								
2610	16,2	-0,80	(E) 13,0	0,25			internal method	1,5 0,00
2640	15,9	-1,20	(Z) 13,7	0,50			AOAC 991.42 (MOD)	1,3 -0,57
2645								
2789	17,6	1,07			1,3	-0,57		
2922	17,2	0,53					§64 LFGB L00.00-18, mod.	1,0 -1,43
3033								
3061								
3165	17,6	1,07			1,0	-1,43		
3183					< 1,0			
3202	16,9	0,13			1,3	-0,57		
3240								
3261								
3307	15,8	-1,33						
3308	16,1	-0,93			0,2	-3,71		
3313								
3385								
3568								
3590	15,6	-1,60						

**FTOT et FTOTA :** La valeur de tolérance a été exceptionnellement élargie pour tenir compte de l'incertitude-type sur la valeur assignée.

**FTOT and FTOTA:** The tolerance value was exceptionally widened to take into account the standard uncertainty of the assigned value.

# CERTIFICATE OF ANALYSIS

## ERM® - BC514

DRIED HARICOT BEANS		
Dietary fibre according to	Mass fraction	
	Certified value <sup>1)</sup> [g/kg]	Uncertainty <sup>2)</sup> [g/kg]
AOAC 1990 <b>985.29</b> [1]	256	5
Englyst (by GC) [2]	198	10
Uppsala <b>994.13</b> [3]	237	15
AOAC 1992 MES-TRIS <b>991.43</b> [4]	259	15
Englyst (by Colorimetry) [2]	201	6

1) The certified value is the unweighted mean of the means of the accepted sets of results. The values are expressed on dry mass basis. The certified values are traceable to the specific method of analysis.  
2) The certified uncertainty is the half-width of the 95 % confidence interval of the mean defined in 1). k-factors were chosen according to the t-distribution depending of the number of accepted sets of results and ranged from 2.4 to 3.2.

This certificate is valid for one year after purchase.

Sales date: 17. MRZ. 2016


The minimum sample intake is 1 g for the AOAC procedures and 0.3 g for the Englyst and Uppsala procedures.

### NOTE

European Reference Material ERM® - BC514 was originally certified as BCR-514. It was produced and certified under the responsibility of the IRMM according to the principles laid down in the technical guidelines of the European Reference Materials® co-operation agreement between BAM-IRMM-LGC. Information on these guidelines is available on the Internet (<http://www.erm-crm.org>).

Accepted as an ERM®, Geel, April 2004  
Revised: November 2007

Signed: \_\_\_\_\_



Prof Dr. Hendrik Emons  
Unit for Reference Materials  
EC-DG JRC-IRMM  
Retieseweg 111  
2440 Geel, Belgium

All following pages are an integral part of the certificate.



# CERTIFICATE OF ANALYSIS

ERM® - BC515

DRIED CARROT		
Dietary fibre according to	Mass fraction	
	Certified value <sup>1)</sup> [g/kg]	Uncertainty <sup>2)</sup> [g/kg]
AOAC 1990 <b>985.29</b> [1]	311	6
Englyst (by GC) [2]	271	6
Uppsala <b>994.13</b> [3]	298	11
AOAC 1992 MES-TRIS <b>991.43</b> [4]	295 (*)	4
Englyst (by Colorimetry) [2]	252	12

1) The certified value is the unweighted mean of the means of the accepted sets of results.  
 (\*) In this one case the value is calculated as the mean of all pooled observations. The values are expressed on dry mass basis. The certified values are traceable to the specific method of analysis.

2) U The certified uncertainty is the half-width of the 95 % confidence interval of the mean defined in 1). k-factors were chosen according to the t-distribution depending of the number of accepted sets of results and ranged from 2.4 to 3.2.

This certificate is valid for one year after purchase.

Sales date: 17. MRZ. 2016

The minimum sample intake is 1 g for the AOAC procedures and 0.3 g for the Englyst and Uppsala procedures.

**NOTE**

European Reference Material ERM® - BC515 was originally certified as BCR-515. It was produced and certified under the responsibility of the IRMM according to the principles laid down in the technical guidelines of the European Reference Materials® co-operation agreement between BAM-IRMM-LGC. Information on these guidelines is available on the Internet (<http://www.erm-crm.org>).

Accepted as an ERM®, Geel, April 2004  
 Revised: November 2007

Signed: 

Prof Dr. Hendrik Emons  
 Unit for Reference Materials  
 EC-DG JRC-IRMM  
 Retieseweg 111  
 2440 Geel, Belgium

All following pages are an integral part of the certificate.

# CERTIFICATE OF ANALYSIS

## ERM® - BC516

DRIED APPLE		
Dietary fibre according to	Mass fraction	
	Certified value <sup>1)</sup> [g/kg]	Uncertainty <sup>2)</sup> [g/kg]
AOAC 1990 <b>985.29</b> [1]	164	4
Englyst (by GC) [2]	137	5
Uppsala <b>994.13</b> [3]	162	8
AOAC 1992 MES-TRIS <b>991.43</b> [4]	149	10
Englyst (by Colorimetry) [2]	134	5

1) The certified value is the unweighted mean of the means of the accepted sets of results. The values are expressed on dry mass basis. The certified values are traceable to the specific method of analysis.  
2) The certified uncertainty is the half-width of the 95 % confidence interval of the mean defined in 1). k-factors were chosen according to the t-distribution depending of the number of accepted sets of results and ranged from 2.4 to 3.2.

This certificate is valid for one year after purchase.

Sales date: 17. MRZ. 2016

The minimum sample intake is 1 g for the AOAC procedures and 0.3 g for the Englyst and Uppsala procedures.

### NOTE

European Reference Material ERM® - BC516 was originally certified as BCR-516. It was produced and certified under the responsibility of the IRMM according to the principles laid down in the technical guidelines of the European Reference Materials® co-operation agreement between BAM-IRMM-LGC. Information on these guidelines is available on the Internet (<http://www.erm-crm.org>).

Accepted as an ERM®, Geel, April 2004  
Revised: November 2007

Signed: \_\_\_\_\_

Prof Dr. Hendrik Emons  
Unit for Reference Materials  
EC-DG JRC-IRMM  
Retieseweg 111  
2440 Geel, Belgium

## 10. BIBLIOGRAFIA

---

- <sup>1</sup>MacRitchie, Finlay; *Concepts in cereal chemistry*; Taylor&Francis Group; Florida, EE.UU.; **2010**; 162
- <sup>2</sup>Serna-Saldivar, Sergio; *Cereal Grains. Properties, processin and nutritional attributes*; Taylor&Francis Group; Florida, EE.UU; **2010**; 574
- <sup>3</sup>Cho, Sungsoo; W. Devries Jonathan; Prosky Leon; *Dietary fiber analysis and Applications*; AOAC International; Gaithersburg, Maryland; **1997**; 1-7, 36-41, 77-113
- <sup>4</sup>Rodríguez Arcos, R; Guillén Bejarano R.; Fernández-Bolaños Guzmán J.; Jiménez Araujo A.J.; Heredia Moreno A.; *Fibra alimentaria*; Consejo superior de investigaciones científicas; Madrid; **2002**; 75-84
- <sup>5</sup>ASP, N.G.; Schweizer, T.F.; Southgate, D.A.T.; Theander, O.; *Dietary fiber. A component of food*; Springer-Verlag; Londres; 57-101
- <sup>6</sup>ASP, N.J.; Johansson, H.; Hallmer, H.; Siljeström, M; *J. Agric. Food Chem*; **1983**; 476-482
- <sup>7</sup>F.M. Garfield; E. Klesta; J. Hirsch; *Quality Assurance Principles for Analytical Laboratories*, AOAC International; 3a ed; Gaithersburg; **2000**
- <sup>8</sup>Christian, Gary D.; *Química analítica*; McGraw-Hill; 6a ed.; México; **2009**; 14, 125-128
- <sup>9</sup>Green, J. M.; "A practical guide to analytical method validation", *Anal. Chem*; **1996**; 68
- <sup>10</sup>Skoog Douglas, A.; West Donald, M.; James Holler, F.; Crouch Stanley, R.; *Química analítica*; McGraw-Hill; 7a ed.; México; **2000**; 109-113
- <sup>11</sup>Fritz, James; Schenk, George; *Química analítica cuantitativa*; Grupo Noriega editores; México, **1993**; 41
- <sup>12</sup>AOAC Official Method 991.43 Total, Soluble, and Insoluble Dietary Fibre in Foods