

# Validering av avfetting ved fiberanalysen A 104 Fiber ANKOM

Tor-Arne Krakeli





Nofima er et næringsrettet forskningsinstitutt som driver forskning og utvikling for akvakulturnæringen, fiskerinæringen og matindustrien.

Nofima har om lag 390 ansatte.

Hovedkontoret er i Tromsø, og forskningsvirksomheten foregår på fem ulike steder: Ås, Stavanger, Bergen, Sunndalsøra og Tromsø

**Hovedkontor Tromsø:**

Muninbakken 9–13  
Postboks 6122 Langnes  
NO-9291 Tromsø

**Ås:**

Osloveien 1  
Postboks 210  
NO-1433 ÅS

**Stavanger:**

Måltidets hus, Richard Johnsenegate 4  
Postboks 8034  
NO-4068 Stavanger

**Bergen:**

Kjerreidviken 16  
Postboks 1425 Oasen  
NO-5844 Bergen

**Sunndalsøra:**

Sjølsengvegen 22  
NO-6600 Sunndalsøra

**Alta:**

Kunnskapsparken, Markedsgata 3  
NO-9510 Alta

**Felles kontaktinformasjon:**

Tlf: 02140

E-post: [post@nofima.no](mailto:post@nofima.no)

Internett: [www.nofima.no](http://www.nofima.no)

**Foretaksnr.:**

**NO 989 278 835 MVA**



Creative commons gjelder når ikke annet er oppgitt

# Rapport

<i>Tittel:</i> <b>Validering av avfetting ved fiberanalysen A 104 Fiber ANKOM</b>	ISBN 978-82-8296-602-3 (pdf) ISSN 1890-579X
<i>Title:</i> Validation of degreasing by the fiber analysis A 104 Fiber ANKOM	<i>Rapportnr.:</i> 23/2019
<i>Forfatter(e)/Prosjektleder:</i> Tor-Arne Krakeli	<i>Tilgjengelighet:</i> <b>Åpen</b>
<i>Avdeling:</i> BioLab	<i>Dato:</i> 25. juni 2019
<i>Oppdragsgiver:</i> Nofima AS - Bergen	<i>Ant. sider og vedlegg:</i> 8 + 9
<i>Stikkord:</i> Fiber, ANKOM, fôr	<i>Oppdragsgivers ref.:</i>  <i>Prosjektnr.:</i> 11277
<i>Sammendrag/anbefalinger:</i>	
<p>Ved analyse av fiber i fettrike prøver via metoden A 104 Fiber ANKOM har det etter oppstarten 09.05.17 ved flere tilfeller blitt observert høye verdier og dårlige paralleller. Etter en reklamasjonssak med en kunde (høyere verdier enn forventet) ble det tatt initiativ til å gjennomføre en ytterligere validering der fokuset var å sjekke om en bedre avfettingsmetode gav mer stabile og korrekte resultat. Den tiltenkte avfettingsmetoden var som i metode A 03 Fett soxhlet.</p> <p>Etter uttesting med flere ringtester (SLP) konkluderes det med at en avfetting etter metoden A 03 Fett soxhlet, som har en lengre avfettingsperiode enn ordinært i A 104 Fiber ANKOM (AOCS Ba 6a-05), ikke påvirker riktigheten eller repeterbarheten negativt.</p> <p>Det er stor sannsynlighet for at avfettingsmetoden i AOCS Ba 6a-05 ikke har vært tilstrekkelig for de fete prøvene, og at dette har påvirket fiberresultatet til å gi høyere resultater enn det som var reelt. Samtidig har dette også ført til ekstra mange kontrollanalyser på grunn av dårlige paralleller.</p> <p>Metoden A 104 Fiber ANKOM vil fra og med 05.12.17 bli utført ved bruk av avfettingen fra kaldeksstraksjon med petroleumsbensin i henhold til metoden A 03 Fett soxhlet.</p>	
<i>English summary/recommendation:</i>	
<p>When analyzing for fiber by the method A 104 Fiber ANKOM after the startup (09.05.17) there has been observed high values and poor repeatability. After a customer complain (higher value than expected) there was an initiative to do an additional validation where the focus was to check if a better method for defatting gave more stable and correct results. The intended defatting method was like the method A 03 Fat Soxhlet.</p> <p>After testing with several comparative laboratory testing samples (SLP) it is concluded that a defatting by the method A 03 Fat Soxhlet, which has a longer defatting period than originally in A 104 Fiber ANKOM (AOCS Ba 6a-05), does not influence the correctness or the repeatability in a negative way.</p> <p>There is a large probability that the defatting method in AOCS Ba 6a-05 has not been enough for the fatty samples, and that this have influenced the fiber results to have higher results then what was real. At the same time this has also led to extra control analysis because of poor repeatability.</p> <p>The method A 104 Fiber ANKOM will as of 05.12.17 be done by using the defatting from the cold distillation with petroleum spirit in according to the method A 03 Fat Soxhlet.</p>	

# Innhold

<b>1</b>	<b>Innledning.....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Teori.....</b>	<b>2</b>
2.1	Prinsipp i metoden .....	2
2.2	Grad av ekstern validering og nødvendig verifisering.....	2
2.3	Valideringsplan .....	2
2.3.1	Riktighet.....	2
2.3.2	Presisjon .....	3
<b>3</b>	<b>Eksperimentelt.....</b>	<b>4</b>
3.1	Avfetting .....	4
3.2	Riktighet.....	4
3.3	Repeterbarhet .....	4
<b>4</b>	<b>Resultat og diskusjon .....</b>	<b>5</b>
4.1	Avfetting .....	5
4.2	Riktighet.....	5
4.3	Repeterbarhet .....	5
4.4	Reanalyse av prøver for kunde.....	5
<b>5</b>	<b>Konklusjon .....</b>	<b>7</b>
<b>6</b>	<b>Referanser .....</b>	<b>8</b>

## Vedlegg

Vedlegg 1	Kollaborativ metodeutprøving (ANKOM Technology) .....	1
Vedlegg 2	Valideringsplan .....	2
Vedlegg 3	Avfetting av prøve 17-2038-01.....	4
Vedlegg 4	Ringtester tidligere utført ved A80 Råtrevler .....	5
Vedlegg 5	Ringtest tidligere utført ved A 104 Fiber ANKOM .....	6
Vedlegg 6	Test av repeterbarhet med ny avfetting for 17-2083-01 .....	7
Vedlegg 7	Reanalyser av prøver for kunde .....	8
Vedlegg 8	Fôrprøver fra kunden før og etter coating .....	9

# 1 Innledning

Før innkjøp av instrumentet ANKOM<sup>2000</sup> ble det sendt inn fettrike fôrprøver til analyse hos leverandøren ANKOM. Dette var for å se om denne metoden var egnet for analyse av prøver med dette høye innholdet av fett. Resultatet vi mottok fra ANKOM var tilsvarende som det vi hadde oppnådd selv ved den manuelle metoden A 80 Rårevler. Instrumentet ble dermed kjøpt inn og metoden validert (valideringsrapport 11-2016).

Ved analyse av fiber i fettrike prøver via metoden A 104 Fiber ANKOM har det etter oppstarten 09.05.17 ved flere tilfeller blitt observert høye verdier og dårlige paralleller. Etter en reklamasjonssak med en kunde (høyere verdier enn forventet) ble det tatt initiativ til å gjennomføre en ytterligere validering der fokuset var å sjekke om en bedre avfettingsmetode gav mer stabile og korrekte resultat.

## 2 Teori

### 2.1 Prinsipp i metoden

Prøven blir etter innveing avfettet. Etter dette blir prøven hydrolysert med syre og base via instrumentet ANKOM<sup>2000</sup> Fiberanalysator. Dette vil vaske vekk de fleste forbindelser med unntak av de som ikke er fordøyelige. Dette er hovedsakelig protein, stivelse, deler av de strukturelle karbohydratene og lignin. Etter dette blir prøven tørket, veid og så forbrent i en askeovn. Fiberinnholdet til prøven bestemmes på bakgrunn av denne metoden. For beregning se formel 2.1. Hvis avfettingen ikke er vellykket kan rester av fett bli med videre etter hydrolyseringen og gi en høyere vekt før foraskingen. Dette kan gi en falsk forhøyning i fiberinnholdet.

$$\text{Råtrevler}\% = \frac{100 \cdot (W_3 - (W_1 \cdot C_1))}{W_2} \quad (2.1)$$

$W_1$  = tara vekt fiberpose

$W_2$  = prøvevekt

$W_3$  = Vekt av tapt organisk materiale ved forbrenning av fiberpose og prøve.

$C_1$  = Korreksjonsfaktor ved forbrenning av tom fiberpose

### 2.2 Grad av ekstern validering og nødvendig verifisering

Metoden er ekstern validert gjennom en kollaborativ metodeavprøving (vedlegg 1) og den er intern validert gjennom valideringsrapporten 11-2016. Denne valideringen skal kun se på avfettingstrinnet.

Avfettingen av prøvene blir i dag gjort etter metodereferansen AOCS Ba 6a-05. Det beskrives som å dekke fiberposene med prøve av petroleumbensin og la de ligge i 10 minutter. Deretter tørkes prøven og de analyseres videre.

Det skal gjøres en mer omfattende avfetting. Fra før har BioLab en avfettingsmetode A 03 Fett soxhlet, der prøvene avfettes med kaldekstraksjon av petroleumbensin. En tilsvarende fettekstraksjon ønskes. I denne valideringen kommer A 03 Fett soxhlet til å bli benyttet, men senere vil det bli vurdert alternative men tilsvarende løsninger.

### 2.3 Valideringsplan

Valideringsplanen (vedlegg 2) oppgir hvilke parametere som skal evalueres. Disse parameterne er oppgitt i de påfølgende underavsnittene. Den eksperimentelle utførelsen og resultatet er oppgitt i henholdsvis kapittel 3 og 4.

#### 2.3.1 Riktighet

*'Riktighet er graden av overenstemmelse mellom en prøves sanne innhold av en bestemt analytt og resultatet av en analyse'* (NMKL 2009).

En prøves sanne innhold er ofte en ukjent størrelse, som igjen er avhengig av hvilken metode som er benyttet ved analysen. Det er vanlig å velge enten en referanseprøve med et sertifisert innhold, en

prøve fra en sammenliknende laboratorieprøving (SLP) eller en prøve fra en kollaborativ metodeavprøving.

### 2.3.2 Presisjon

Presisjon er definert som *'graden av overenstemmelse mellom uavhengige analyseresultater framkommet under spesifikke forhold'* (NMKL, 2009). Begrepet må ikke forveksles med riktighet, som er nevnt i avsnitt 2.3.1. Presisjonen uttrykkes vanligvis som standardavviket til analyseresultatet. Det er to måter å bestemme presisjonen på:

- **Repeterbarhet:** Resultatene er framskaffet av å analysere den samme prøven, med det samme utstyret og innenfor et relativt kort tidsrom.
- **Reproduserbarhet:** Resultatene er framskaffet ved å analysere den samme prøven og den samme metoden, men på ulike laboratorier.

Repeterbarheten uttrykkes ofte som repeterbarhetsgrensen ( $r$ ), som er et uttrykk for den absolutte differansen mellom to uavhengige analyser med et konfidensintervall oppnådd med like betingelser (ISO, 1994 a). Slike beregninger kalles dobbeltbestemmelser (NMKL, 2009).  $r$  beregnes som vist i formell 2.2:

$$r = f \sqrt{2} S_r \quad (2.2)$$

$f$  er den kritiske utvalgsfaktoren som er avhengig av valg av konfidensintervall.  $S_r$  er standardavviket til repeterbarheten (ISO, 1994 b), og beregnes som vist i formel 2.3:

$$S_r = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - y_i)^2}{2n}} \quad (2.3)$$

$X_i$  og  $y_i$  er de to målingene fra dobbeltbestemmelsen, og  $n$  er antall par av dobbeltbestemmelser (NMKL, 2009). Vanligvis antas det en normal distribusjon og et konfidensintervall på 95%, som gir en verdi  $f = 1,96$ .  $r$  beregnes da som vist i formel 2.4:

$$r = 2,8 S_r \quad (2.4)$$



### **3 Eksperimentelt**

#### **3.1 Avfetting**

For å teste ut påstanden om at avfettingen er årsaken bak de høye verdiene og dårlige parallellene så analyseres det 10 stk fiberposer (F57) som vanlig. Posene blir avfettet i metoden A 03 Fett soxhlet (uten hylse), tørkes og deretter benyttes posene videre i fiberanalysen. Tilsvarende så veies det inn 10 stk fiberposer, men de avfettes etter metoden A 104 Fiber ANKOM. Samtlige av disse 20 stk fiberposene hydrolyseres og foraskes sammen i den samme analyseserien.

Fôrprøven 2017-2038-01 velges ut siden den har et høyt fettinnhold (A 56 Bligh&Dyer: 35,1%) og er visuelt lite homogen.

#### **3.2 Riktighet**

Det ble analysert 4 stk ringtester ved bruk av metoden A 104 Fiber ANKOM, men ved bruk av avfettingen fra metoden A 03 Fett soxhlet. 3 av disse ringtestene har tidligere blitt analysert for fiber ved metoden A 80 Råtevler (16-5202-01, 17-0177-01, 17-0700-01) mens den siste har tidligere blitt analysert for fiber ved metoden A 104 Fiber ANKOM (17-2555-01).

#### **3.3 Repeterbarhet**

For å teste repeterbarhet ble det valgt ut en fet fôrprøve (17-2038-01). Prøven ble analysert etter metoden A 104 Fiber ANKOM, men avfettingen ble gjort etter metoden A 03 Fett soxhlet. I denne analyseserien ble det analysert 8 stk innveinger. For å teste eventuelle begrensninger i antall fiberposer i hver hylseposisjon i destillasjonsoppsatsen til metoden A 03 så ble en hylseposisjon fylt med 6 stk fiberposer og en posisjon fylt med 2 stk fiberposer.

## **4 Resultat og diskusjon**

### **4.1 Avfetting**

Under analysen var det en visuell forskjell mellom de 10 stk fiberposene som hadde blitt avfettet ved ordinær prosedyre under A 104 og de som hadde blitt avfettet ved A 03. Ved avfetting med A 03 hadde fiberposene en lysere farge, og det spekuleres i om dette kunne vært forårsaket av mer restfett i de posene som hadde blitt avfettet etter A 104.

I analyseserien var det tydelig forskjell på de fiberposene som hadde blitt analysert med avfettingen fra A 104 eller A 03. Resultatene fra prøvene etter avfettingen til A 104 hadde høye verdier og dårlige paralleller, mens de for A 03 hadde lave verdier og gode paralleller. Se vedlegg 3 for resultater.

### **4.2 Riktighet**

De fire ringtestene som tidligere hadde blitt analysert ved metoden A 03 Råtvler ble ved reanalyse med A 104 Fiber ANKOM, og med avfettingen fra A 03, godkjent innenfor kravene satt i ringtesten. Se vedlegg 4.

Ringtesten som tidligere hadde blitt analysert etter A 104 Fiber ANKOM fikk ved reanalyse med avfettingen fra A 03 et resultat som kom nærmere kravene til ringtesten. Begge resultatene var fortsatt utenfor kravene satt til ringtesten. Se vedlegg 5.

### **4.3 Repeterbarhet**

Det ingen forskjell på resultatene fra avfettingen med en hylseposisjon med 6 stk fiberposer eller en hylseposisjon med 2 stk fiberposer. I framtidige analyser kan det da benyttes opp til 6 stk fiberposer i en enkelt hylseposisjon under metoden A 03 Fett soxhlet.

Resultatene for prøven 17-2038-01 fra test av repeterbarhet (8 innveiinger) og fra avfettingen (10 stk innveiinger) ble kombinert. Basert på disse 18 innveiingene gav dette en repeterbarhet (r) på 0,16. I valideringen av metoden (11-2016) er det for dette nivået beregnet en repeterbarhet på 0,17, mens det i metoden A 104 Fiber ANKOM for dette nivået er en akseptert repeterbarhetsgrense på 0,3. Se vedlegg 6.

### **4.4 Reanalyse av prøver for kunde**

Kunden som kom med reklamasjonssaken som er nevnt i innledningen har tidligere kalibrert sine NIR instrumenter etter BioLab sin metode A 80 Råtvler. På bakgrunn av utførte NIR analyser hadde de en formening om hvilke resultater de skulle få på sine fiber analyser. BioLab skulle som en del av reklamasjonssaken reanalysere de fleste av tidligere analyserte prøver, men ved bruk av avfettingen til metoden A 03. Se vedlegg 7.

Generelt ble resultatene lavere og for de fleste reanalysene ble også resultatet nærmere eller likt det som ville vært forventet ut ifra kundens egne NIR målinger.

Under de innledende diskusjonene med kunden ønsket de å sende 4 stk prøver av fôr både før og etter coating. Det vil si både før og etter at prøvene har blitt tilsatt fett. BioLab skulle da utføre avfettingen av disse prøvene etter metode A 03 og fiberanalyse etter A 104. Se vedlegg 8.

Fiberinnholdet til coatet og ikke coatet prøver ble like, men med noen små forskjeller. Det var ingen åpenbar trend i disse forskjellene og de var også innenfor det som aksepteres mellom paralleller i metoden.

## 5 Konklusjon

Etter uttesting med ringtester konkluderes det med at en avfetting etter A 03, som har en lengre avfettingsperiode enn ordinært i A 104 (AOCS Ba 6a-05), gir likt eller bedre resultat mhp riktigheten og repeterbarheten.

Det er stor sannsynlighet for at avfettingsmetoden i AOCS Ba 6a-05 ikke har vært tilstrekkelig for de fete prøvene, og at dette har påvirket fiberresultatet til å gi høyere resultater enn det som var reelt. Samtidig har dette også ført til ekstra mange kontrollanalyser på grunn av dårlige paralleller.

Metoden A 104 Fiber ANKOM vil fra og med 05.12.17 bli utført ved bruk av avfettingen fra kaldekstraksjon med petroleumbensin i henhold til metoden A 03 Fett soxhlet.

## 6 Referanser

- American Oil Chemists' Society (AOAC), Ba 6a-05, 'Crude Fiber Analysis in Feeds by Filter Bag Technique, godkjent 2005.'
- ISO (1994 a), Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results – Part 1: General principles and definitions (5725-1), International Organization for Standardization, 17 s.
- ISO (1994 b), Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results – Part 6: Use in practice of accuracy values (5725-6), International Organization for Standardization, 41 s.
- Krakeli, T.-A. (2016) Validering av ny metode for råtevler – ANKOM<sup>2000</sup> Fiberanalysator. Nofima-rapport 11/2016.
- NMKL (Nordisk metodikkomité for næringsmidler), (2009), NMKL-Prosedyre NR.4, "Validering av kjemiske analysemetoder", 46 s.

V E D L E G G

# Vedlegg 1 Kollaborativ metodeutprøving (ANKOM Technology)



## Crude Fiber Method

Method 1

**Table 1. Results of the international collaborative study of the Filter Bag Technique for crude fiber compared with three laboratories using an Official Crude Fiber Method.**

Collaborative Laboratory No.	Rep	Whole Corn	Cattle Feed	Alfalfa	Whole Soy	Poultry Starter	Calf Starter	Swine Feed	Horse Feed	Soy Meal	Pig Starter	Dog Food
% Crude Fiber												
1	1	2.1	14.5	22.6	9.8	4.7	11.0	17.5	6.4	3.7	2.8	1.3
	2	1.8	14.2	22.4	9.9	4.9	10.7	17.2	6.5	4.0	2.9	1.3
2	1	1.7	14.8 C	22.5	7.2 C	4.4	10.4	17.4	5.8	3.4	2.6	7.1 C
	2	2.0	20.2 C	23.0	10.1 C	4.7	11.1	17.4	6.0	3.5	2.8	1.0 C
3	1	1.6	14.1	22.5	10.1	4.6	10.8	17.6	6.6	3.9	3.1	2.0
	2	1.9	14.6	22.5	10.3	4.7	10.9	17.6	6.8	4.0	3.2	1.6
4	1	1.6	14.2	22.2	9.5	4.4	10.6	17.1	6.2	3.4	3.0	1.3
	2	1.7	14.7	22.2	9.9	4.7	10.5	16.9	6.4	3.7	2.9	1.3
5	1	1.5	13.9	22.7	9.5	4.8	10.5	17.3	5.9	3.6	2.8	1.3
	2	1.8	14.5	22.4	10.1	4.7	10.5	17.6	6.0	3.5	2.7	1.4
6	1	1.8	14.1	22.6	9.3	4.7	10.9	17.2	6.3	3.7	2.8	1.2
	2	2.0	14.3	21.9	9.4	4.5	10.4	17.2	6.1	3.8	3.0	1.3
7	1	1.7	14.5	24.0	10.0	4.8	10.7	17.4	6.1	3.7	3.0	1.2
	2	1.5	14.8	23.6	10.0	4.3	10.4	17.4	6.2	4.0	2.9	1.1
8	1	1.6	15.0	22.3	9.3	4.6	10.7	17.4 C	6.0 C	3.7	2.5	0.5
	2	1.6	14.4	22.9	10.0	4.3	10.8	2.4 C	5.2 C	3.4	2.6	1.1
9	1	1.4	14.4	21.9	8.9	4.6	10.4	17.0	5.9	3.4	2.7	1.3
	2	1.8	14.3	22.6	9.6	4.2	10.4	16.6	5.9	3.7	2.7	1.2
10	1	1.7	14.1	21.4	9.3	4.5	10.8	17.0	6.3	3.8	2.9	1.4
	2	1.7	14.2	22.1	9.8	4.8	10.9	17.3	6.3	3.6	2.8	1.4
11	1	1.4	14.3	23.3	8.5	4.7	10.9	17.7 C	6.1	3.6	2.8	1.3
	2	1.5	15.9	24.1	8.9	5.5	11.9	19.1 C	6.2	4.2	2.9	0.6
Mean		1.69	14.44	22.62	9.60	4.65	10.73	17.27	6.21	3.70	2.83	1.25
Official Method Laboratories <sup>a</sup>												
% Crude Fiber												
Central Analytical		1.8	14.5	23.0	10.2	4.4	9.3 G	14.7 G	6.8	2.9	1.9 G	3.4 G
Hahn Laboratories, Inc.		2.0	14.0	21.2	8.4	4.2	10.6	17.4	5.7	4.2	2.9	1.6
SDSU Olson Bio. Lab		2.4	14.2	23.8	10.1	4.6	10.8	17.4	6.8	4.1	2.8	1.3
Mean		2.05	14.23	22.67	9.57	4.40	10.70	17.40	6.43	3.73	2.85	1.45

Outliers: C-Chochran, G-Grubbs, DG-Double Grubbs

<sup>a</sup> AOCS Official Method Ba 6-84, AOAC 962.09

**Table 2. Summary of the statistical analysis of the Filter Bag Technique crude fiber collaborative study, including comparison with the Official Method.**

Sample type	Whole Corn	Cattle Feed	Alfalfa	Whole Soy	Poultry Starter	Calf Starter	Swine Feed	Horse Feed	Soy Meal	Pig Starter	Dog Food
Number of laboratories	11	10	11	10	11	11	9	10	11	11	10
Number of replicates	22	20	22	20	22	22	18	20	22	22	20
Overall FBT mean	1.69	14.44	22.62	9.60	4.65	10.73	17.27	6.21	3.70	2.83	1.25
Official Method mean <sup>a</sup>	2.05	14.23	22.67	9.57	4.40	10.70	17.40	6.43	3.73	2.85	1.45
S <sub>t</sub>	0.16	0.44	0.36	0.32	0.26	0.28	0.18	0.10	0.20	0.09	0.23
S <sub>R</sub>	0.19	0.44	0.67	0.48	0.27	0.33	0.28	0.27	0.22	0.17	0.31
RSD <sub>t</sub> , %	9.6	3.1	1.6	3.3	5.5	2.6	1.1	1.6	5.3	3.3	18.1
RSD <sub>R</sub> , %	11.4	3.1	2.9	5.0	5.8	3.1	1.6	4.3	6.0	6.0	24.5
r	0.46	1.23	1.00	0.88	0.72	0.80	0.51	0.27	0.55	0.26	0.64
R	0.54	1.23	1.86	1.34	0.75	0.94	0.78	0.75	0.62	0.48	0.86
HORRAT VALUE	3.07	1.14	1.18	1.75	1.82	1.11	0.62	1.42	1.83	1.75	6.34

<sup>a</sup> Official Method AOCS Ba 6-84/AOAC 962.09

## Vedlegg 2 Valideringsplan

	<b>Analysemetode:</b>	Fiber ANKOM
	<b>Metode nr.:</b>	A104
	<b>Metodeansvarlig:</b>	Tor-Arne Krakeli
	<b>Metodereferanse:</b>	Gammel metode: AOAC 978.10, Fiber (Crude) in Animal Feed and Pet Food. Ny metodereferanse: AOCS Ba 6a-05, Crude Fiber Analysis in Feeds by Filter Bag Technique.
	<b>Målsetning:</b>	Det mistenkes at avfettingen av fôrprøver etter metodeprosedyren ikke er tilstrekkelig, og vi ønsker å teste dette ut med en mer omfattende avfetting.
	<b>Trinn</b>	
1	<b>Grad av tidligere ekstern validering:</b>	Instrumentet er utprøvd på en metode (AOAC Ba 6a-05) hos produsenten, som det har blitt utført et kollaborativt studie på. Det er også blitt utført et valideringsarbeid internt.
2	<b>Valideringsomfang:</b>	<p>Den allerede validerte metodeprosedyren skal benyttes. Unntaket fra prosedyren er en endring i avfettingstrinnet med hensyn på prøvematrikser som fettrike fôr. Endringen innebærer en mer omfattende avfetting og det anses som en mindre metodeendring.</p> <p>Avfettingen av prøvene blir i dag gjort etter metodereferansen AOCS Ba 6a-05. Det beskrives som å dekke fiberposene med prøve av petroleumbensin og la de ligge i 10 minutter. Deretter tørkes prøven og de analyseres videre.</p> <p>Det skal gjøres en mer omfattende avfetting. Fra før har BioLab en avfettingsmetode A 03 Fett soxhlet, der prøvene avfettes med kaldekstraksjon av petroleumbensin over natt. En tilsvarende fett ekstraksjon ønskes. I denne valideringen kommer A 03 Fett soxhlet til å bli benyttet, men senere vil det bli vurdert alternative men tilsvarende løsninger.</p> <p>1. Riktighet:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Reanalysere 2-3 ringtester som tidligere er analysert med A 80 Råtrevler.</li> </ul>



		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reanalysere 1 ringtest som tidligere er analysert med A 104 Fiber ANKOM med avfetting etter AOCS Ba 6a-05.</li> <li>• For å vurdere antall fiberposer i samme soxhlet oppsats avfettes det ca 5 stk samtidig oppe i den samme soxhlet hylsen. Sammenligner med tidligere resultat. I den samme serien analyseres det 2 stk fiberposer av den samme prøven i en egen soxhlet hylse.</li> </ul> <p>2. Sammenligning av tidligere resultater</p> <p>Kunden Biomar har gitt en fil med resultater oppnådd ved metoden A 104, deklarererte verdier og resultater fra deres NIR målinger (basert på A 80). Et utvalg av de prøvene som er analysert med A 104 og som avviker fra forventet verdi plukkes ut og reanalyseres etter ny avfetting.</p>		
<b>3</b>	<b>Avvik fra metodereferanse:</b>	En mer omfattende avfetting. Bruker det samme avfettingsmediet (petroleumbensin).		
<b>Punkt</b>	<b>Valideringspunkter</b>	<b>Aktivitet og krav</b>	<b>Utføres av:</b>	<b>Tidsplan:</b>
<b>1</b>	<b>Riktighet</b>	Resultatene av ringtestprøvene skal ligge innenfor kravene for måleusikkerhet (U <sub>SLP</sub> ) til ringtestene.	TAK	01.12.17
<b>2</b>	<b>Sammenligning</b>	Resultatene må vurderes om de er akseptabelt nær deklarerert verdi/NIR.	TAK	01.12.17

Skal leses av	Initialer	Dato	Signatur
Laboratorieleder BioLab:			
Forskningssjef BioLab:			

# Vedlegg 3 Avfetting av prøve 17-2038-01

Fiber (ANKOM) (BioLab-metode)  
 Versjon 1.0

TAK
26-28.10.17
369

Brukerens initialer:  
 Innevid dato (DD.MM.ÅÅ):  
 Vekt ID:  
 Faktor C<sub>1</sub>:

C1 (sox avfetting)	0,9873
C2 (ikke SOX avfetting)	1,0020

Ferdig dato (DD.MM.ÅÅ):  
 Kontrollprøve godkjent:

30.10.2017
------------

Prøvenr.	Nr.	Digel-merke	Tara digel (g)	Tara filterpose, W1 (g)	Innevid prøve, (g)	W <sub>2</sub>	Filterpose, prøve etter avfetting	Fett - Sox%	Digel med prøve før forasking (g)	Digel med prøve etter forasking (g)	Rest forasking (g)	Tap materiaell W <sub>2</sub> (g)	Treker (%)	Gjennomsnitt (%)	Differanse
BLANK	1	1 SOX	35,4500	0,4811	BLANK	0,4788			35,9251	35,4501	0,0001	0,4750			
	2		35,1418	0,4972					35,6408	35,1426	0,0008	0,4982			
17-2038-01 (SOX)	3		35,1644	0,4538	0,9915	1,0720	37,6500		35,6290	35,1669	0,0025	0,4621	1,42	1,4	0,0
	4		33,1255	0,4814	1,0004	1,0960	38,5646		33,6166	33,1273	0,0018	0,4893	1,40	1,4	0,0
17-2038-01 (SOX)	5		35,2264	0,5233	0,9949	1,1391	38,1043		35,7579	35,2279	0,0015	0,5300	1,34	1,4	0,1
	6		31,8363	0,5192	1,0066	1,1529	37,0455		32,3653	31,8383	0,0020	0,5270	1,43	1,4	0,1
17-2038-01 (SOX)	7		31,6609	0,5156	1,0042	1,1441	37,4129		32,1847	31,6623	0,0014	0,5224	1,33	1,4	0,2
	8		32,2337	0,5031	1,0037	1,1275	37,7902		32,7475	32,2359	0,0022	0,5116	1,48	1,3	0,0
17-2038-01 (SOX)	9		38,8882	0,5014	0,9981	1,1283	37,1907		39,3986	38,8900	0,0018	0,5086	1,36	1,3	0,0
	10		32,9338	0,5024	1,0017	1,1155	38,7941		33,4452	32,9359	0,0021	0,5093	1,32	1,3	0,0
17-2038-01 (SOX)	11		35,9673	0,4950	1,0031	1,1176	37,9324		36,4720	35,9694	0,0021	0,5026	1,38	1,3	0,1
	12		32,0975	0,4820	1,0011	1,1082	37,4488		32,5872	32,0989	0,0014	0,4883	1,24	1,3	0,1
17-2038-01 (ikke SOX)	13		32,1010	0,4636	0,9686				32,6169	32,1071	0,0061	0,5088	4,67	4,5	0,3
	14		36,1178	0,4656	0,9683				36,6311	36,1218	0,0040	0,5093	4,41	4,5	0,3
17-2038-01 (ikke SOX)	15		33,2226	0,5032	0,9796				33,7583	33,2240	0,0014	0,5353	3,17	3,9	1,5
	16		32,7270	0,4776	1,0086				33,2544	32,7292	0,0022	0,5252	4,62	3,9	1,5
17-2038-01 (ikke SOX)	17		36,6019	0,5011	1,0079				37,1442	36,6047	0,0028	0,5395	3,71	4,3	1,1
	18		35,8286	0,4793	0,9950				36,3614	35,8333	0,0047	0,5281	4,81	4,3	1,1
17-2038-01 (ikke SOX)	19		30,7597	0,4654	0,9688				31,2570	30,7618	0,0021	0,4852	2,98	3,4	0,9
	20		32,1500	0,4638	0,9971				32,6549	32,1519	0,0019	0,5000	3,94	3,4	0,9
17-2038-01 (ikke SOX)	21		32,4643	0,4885	1,0248				32,9727	32,4673	0,0030	0,5054	3,51	3,7	0,4
	22		36,5518	0,4847	1,0116				37,0791	36,5537	0,0019	0,5254	3,93	3,7	0,4
KP 5 (ikke SOX)	23		36,0923	0,4821	0,9645				36,6047	36,0939	0,0016	0,5108	2,88	2,8	0,1
	24		32,1338	0,5070	0,9629				32,6704	32,1356	0,0018	0,5348	2,78	2,8	0,1

## Vedlegg 4 Ringtester tidligere utført ved A80 Råtrevler

### Kontrollkort for ringtester, A 80 Råtrevler

Mal-versjon 3.0

Endringsprotokoll nederst på siden.

Måleområde:

Skriv inn høyeste verdi for **nedre** måleområde, se tabell i BioLab KH 02.4. Dersom det kun er ett måleområde, la feltet være tomt.

Målesikkerhet % +/- U (2s):

Skriv inn utvidet målesikkerhet for **høyt** måleområde, se tabell i BioLab KH 02.4.

Skriv inn utvidet målesikkerhet for **lavt** måleområde, se tabell i BioLab KH 02.4

Skriv inn samme verdi i begge felt dersom det kun er ett måleområde

Ringtestarrangør	AAFCO	AAFCO	AAFCO	AAFCO	AAFCO	AAFCO	AAFCO	AAFCO	AAFCO	AAFCO
Prøve nr	5202-01 (1632)	5202-01 (1632) - NY	0177-01 (1721)	0177-01 (1721)	0177-01 (1721)	0700-01 (1722)	0700-01 (1722)			
Prøve type	Lamb Feed Medicat.	Lamb Feed Medicat.	Dog Food	Dog Food	Dog Food	Poultry Layer Feed	Poultry Layer Feed			
Dato	24.11.16	24.11.16	18.1.17	18.1.17	18.1.17	13.2.17	13.2.17			
Utført av	JSJ	JSJ	LR	LR	LR	JSJ	JSJ			
Vårt resultat	6,21	6,18	3,91	3,91	3,67	5,34	5,80			
U <sub>med</sub> ina	0,78	0,77	0,49	0,49	0,46	0,67	0,73			
Middelverdi	5,70	5,70	3,76	3,76	3,76	4,78	4,78			
Antall deltakere	112	112	106	106	106	126	126			
U <sub>SLP</sub>	0,46	0,46	0,49	0,49	0,49	0,52	0,52			
E <sub>n</sub> -verdi *	0,327	0,309	0,155	0,155	-0,095	0,419	0,702			
Trend vurdering	2,2 BB	2,2 BB	9,3 BB	9,3 BB	9,3 BB	4,4 BB	4,4 BB			
Anmerkninger										
Kvalitetskoordinator	2,2 BB	2,2 BB	9,3 BB	9,3 BB	9,3 BB	4,4 BB	4,4 BB			
Metodeansvarlig	06/02 TAK		05/04 TAK	05/04 TAK		05/04 TAK				



## Vedlegg 6 Test av repeterbarhet med ny avfetting for 17-2083-01

<b>Beregning av midtlinje og alarm/aksjonsgrenser</b>						
Versjon 1.1 15.06.2017						
<b>Analyse: A104 Fiber ANKOM, A03 avfetting. 17-2083-01</b>						
Dato	Resultat 1	Resultat 2	Diff.	Diff^2	Snitt	Antall, n
26.10.2017	1,42	1,4	0,02	0,0004	1,41	1
	1,34	1,43	-0,09	0,0081	1,39	2
	1,33	1,48	-0,15	0,0225	1,41	3
	1,36	1,33	0,03	0,0009	1,35	4
	1,38	1,24	0,14	0,0196	1,31	5
06.11.2017	1,47	1,46	0,01	0,0001	1,47	6
	1,35	1,39	-0,04	0,0016	1,37	7
	1,34	1,36	-0,02	0,0004	1,35	8
	1,43	1,46	-0,03	0,0009	1,45	9
<b>n= 9</b>		<b>SUM D^2= 0,054</b>		<b>Snitt= 1,39</b>		
<b>Reproduserbarhet</b>		<b>Repeterbarhet</b>				
Gjennomsnitt:	1,39	Sr = ROT(SUM(D*D)/2K)		0,0550		
Standardavvik:	0,0496	r = 2.8 * Sr		0,1556		
Alarmgrenser:	0,0701	<b>Differanse</b>				
Aksjonsgrenser:	0,1051	Alarmgrenser +/-:		0,1556		
<b>+3s</b>	1,4924	Aksjonsgrenser +/-:		0,2335		
<b>+2s</b>	1,4573					
<b>Midtlinje</b>	<b>1,3872</b>					
<b>+2s</b>	1,3171					
<b>+3s</b>	1,2821					
<b>Beregning utført (dato/sign.):</b>						
-----						
Filnavn:	W:\Avdelinger\Alab\Validerte Regneark\Beregning av midtlinje og alarmgrenser					

## Vedlegg 7 Reanalyser av prøver for kunde

Prøve nr.	Fiber deklart av kunde (%)	Fiber Nofima A104 (%)	Differanse: Deklart Nofima A104	Fiber Nir (Basert på Nofima A80)	Reanalyse A104 - Avfetting A03	Differanse: Deklart Reanalyse	Differanse: Nir-Reanalyse	Differanse: Fiber Nofima A104 - Reanalyse
2017-2213-01	2,22	2,90	-0,68	2,21	2,12	0,10	0,09	0,78
2017-2214-01	2,15	4,30	-2,15	2,32	2,06	0,09	0,26	2,24
2017-2621-01	1,46	2,00	-0,54	1,79	1,76	-0,30	0,03	0,24
2017-2622-01	1,92	1,90	0,02	1,85	1,03	0,90	0,82	0,88
2017-2540-01	1,42	1,90	-0,48	-	1,25	0,17	-	0,65
2017-2541-01	1,30	3,00	-1,70	1,52	1,12	0,18	0,40	1,88
2017-2692-01	1,85	2,70	-0,85	1,98	1,94	-0,09	0,04	0,76
2017-2916-01	1,86	4,20	-2,34	2,36	1,51	0,35	0,85	2,69
2017-2915-01	1,39	3,00	-1,61	-	1,43	-0,04	-	1,57
2017-2909-01	1,53	3,50	-1,97	1,63	1,53	0,00	0,10	1,97
2017-2910-01	2,14	4,40	-2,26	1,95	1,79	0,36	0,17	2,62
2017-3322-01	2,38	3,80	-1,42	2,20	2,07	0,32	0,14	1,74
2017-3321-01	1,39	1,70	-0,31	1,60	1,17	0,22	0,43	0,53
2017-3167-01 (Feil merking?)	1,64	2,80	-1,16	2,22	1,71	-0,07	0,51	1,09
2017-3168-01	1,35	2,20	-0,85	1,78	1,11	0,25	0,68	1,10
2017-3633-01	1,85	3,20	-1,35	2,29	1,68	0,18	0,62	1,53
2017-3634-01 Feil serie nr?	1,76	3,00	-1,24	2,26	1,67	0,10	0,60	1,34
Allerede utført reanalyse?	1,53	3,00	-1,47	1,82	-	-	-	-
2017-3848-01	1,52	2,20	-0,68	1,61	1,10	0,43	0,52	1,11
2017-4119-01	2,33	3,00	-0,67	2,29	2,00	0,33	0,29	1,00
2017-4118-01	2,04	2,20	-0,16	1,92	1,75	0,29	0,17	0,45
2017-4329-01	1,52	3,40	-1,88	2,00	1,40	0,12	0,60	2,00
2017-4330-01	1,15	3,20	-2,05	1,60	0,74	0,42	0,87	2,47
2017-4241-01	1,64	1,60	0,04	1,58	1,21	0,44	0,38	0,40
2017-4455-01	1,08	1,70	-0,62	1,49	0,83	0,25	0,66	0,87
2017-4454-01	1,88	2,10	-0,22	2,00	1,86	0,02	0,15	0,25
2017-4773-01	1,77	4,50	-2,73	1,88	1,06	0,72	0,82	3,45
2017-4771-01	1,53	2,90	-1,37	-	1,14	0,39	-	1,76
2017-5129-01	1,50	6,50	-5,00	1,80	0,85	0,66	0,96	5,66
2017-5130-01	1,94	3,90	-1,96	1,95	1,26	0,69	0,70	2,65
2017-5124-01	1,05	2,50	-1,45	-	1,11	-0,06	-	1,39
2017-5093-01	2,22	4,90	-2,68	2,36	1,34	0,89	1,03	3,57
2017-5374-01	1,70	6,40	-4,70	1,51	1,07	0,64	0,45	5,34
2017-5816-01	1,81	2,40	-0,59	1,78	1,45	0,36	0,33	0,95
2017-05914-01	2,23	2,90	-0,67	1,98	1,56	0,67	0,42	1,34

## Vedlegg 8 Fôrprøver fra kunden før og etter coating

Fiber (ANKOM) (Biolab-metode)

Versjon 1.0

Brukerens initialer:

Innveid dato (DD.MM.ÅÅ):

Vekt ID:

Faktor C<sub>i</sub>:

TAK
22.11.17
1223
0,9883

Ferdig dato (DD.MM.ÅÅ) :

Kontrollprøve godkjent:

27.11.2017
ok

Prøventr.	Nr.	Digel-merke	Tara digel (g)	Tara filterpose, W1 (g)	Innveid prøve, W <sub>2</sub> (g)	Digel med prøve før forasking (g)	Digel med prøve etter forasking (g)	Trevler (%)	Gjennomsnitt (%)	Differanse	A03 Fett soxhlet (%)
BLANK	1	Rød	31,4036	0,5163	BLANK	31,9143	31,4041				
	2		30,4315	0,5089		30,9351	30,4321				
KP5	3		32,4137	0,5234	0,9872	32,9534	32,4147	2,17	2,2	0,0	
	4		32,1149	0,5363	0,9875	32,6672	32,1160	2,14			
	5										
	6										
114065/2308435 ucoatet	7		35,2166	0,5404	0,8675	35,7786	35,2192	2,92	2,9	0,1	10
	8		34,5651	0,5297	0,8857	35,1161	34,5674	2,85			10
114065/2308435	9		30,2614	0,5069	0,6153	30,7782	30,2626	2,38	2,5	0,3	37,9
	10		31,6235	0,5188	0,5991	32,1539	31,6253	2,65			37,9
11406/1306328 ucoatet	11		33,7597	0,4950	0,8914	34,2703	33,7623	2,11	2,2	0,2	10
	12		35,4331	0,5115	0,8899	35,9634	35,4375	2,29			10
11406/1306328	13		31,3245	0,5148	0,7186	31,8512	31,3268	2,17	2,3	0,2	28
	14		39,2437	0,5155	0,7213	39,7721	39,2454	2,39			28
114066/1306349 ucoatet	15		31,0836	0,5366	0,8915	31,6330	31,0857	1,90	2,0	0,2	10
	16		32,9013	0,5062	0,9017	33,4224	32,9032	2,10			10
114066/1306349	17		33,4548	0,5156	0,6237	33,9788	33,4561	2,11	2,1	0,0	34,9
	18		35,6249	0,5222	0,6216	36,1559	35,6267	2,11			34,9
114128/1306365 ucoatet	19		35,9875	0,5068	0,8697	36,5146	35,9905	2,67	2,7	0,1	10
	20		38,5506	0,5409	0,8950	39,1140	38,5542	2,82			10
114128/1306365	21		31,9444	0,5103	0,7417	32,4707	31,9464	2,69	2,7	0,1	25,1
	22		33,0770	0,5049	0,7237	33,5984	33,0795	2,75			25,1
	23										
	24										

