+57 318 209 75 67
clientes@mol-labs.com

Certificado de análisis
Certificate of analysis

Material de Referencia Certificado

Harina de trigo

Certified reference material

Flour wheat

MRC400 L. 2025-03-14

Proveedor de Materiales de Referencia
Reference materials producer
acreditado por ema, a.c.
con acreditación **No. PMR-007**

El proceso de producción del Material de Referencia Certificado(MRC) sigue los requisitos de la Norma ISO 17034 [1] y la Guía ISO 35[2].

The production process of the Certified reference material(CRM) follows the requirements of ISO 17034 [1] and ISO Guide 35[2].

1. Valores certificados y sus incertidumbres (Certified values and uncertainties)

El proceso para obtener los valores certificados [3] se realizó en Mol Labs Ltda bajo el esquema de caracterización: un mensurando definido operacionalmente utilizando un método de referencia. Los valores certificados son la mejor estimación del valor real tras tratar los datos mediante técnicas estadísticas [4]. Las mediciones son realizadas siguiendo los requisitos de la Norma ISO/IEC 17025 [5].

The process to obtain the certified values [3] was carried out at Mol Labs Ltda under the characterization scheme: a measurand operationally defined using a reference method. The certified values are the best estimate of the true value after processing the data using statistical techniques [4]. The measurements are carried out following the requirements of the ISO/IEC 17025 standard [5].

La incertidumbre fue estimada acorde a los requisitos de la GUM [6] como $U = ku_c$, en donde u_c es la incertidumbre estándar para todos los componentes identificados, y $k = 2$ corresponde al

+57 318 209 75 67
clientes@mol-labs.com

Tabla 1 - Valores certificados para harina de trigo MRC400 L.2025-03-14

Table 1 - Certified values for wheat flour MRC400 L.2025-03-14

Mensurando (Measurand)	Método (Method)	Procedimiento de medida (Procedure)	Unidades (Units)	Valor certificado (Certified value)	Incertidumbre ± U (Uncertainty)
Cenizas (Ash)	Gravimetría (Gravimetric analysis)	AOAC 923.03	g 100 g $^{-1}$ Base seca	0.782	0.023
Grasa (Fat)[1]	Gravimetría (Gravimetric analysis)[1]	AOAC 922.06	g 100 g $^{-1}$ Base seca	2.165	0.048
Moisture (Humedad)	Gravimetría (Gravimetric analysis)	AOAC 925.10	g 100 g $^{-1}$	12.8	0.4
Hierro total (Total Iron)	Espectrofotométrico (Spectrophotometry)	AOAC 944.02	mg Fe total kg^{-1}	84.40	5.72
Proteína como N (Protein as N)	Kjeldahl, Volumetría (Volumetric analysis)	AOAC 991.20 Modificado[2]	g 100 g $^{-1}$ Base seca	2.67	0.12

[1] Hidrólisis ácida con HCl (25+11) entre 70-80 °C y extracción con solvente;
[2] ver sección 5.2.1.

factor de expansión para alcanzar un nivel de confianza aproximado del 95%. La incertidumbre estándar incluye la caracterización del MRC u_{char} los aportes individuales del estudio de homogeneidad u_{hom}, las pruebas de transporte u_{trn} y el estudio de estabilidad a largo plazo.

The uncertainty was estimated according to the requirements of the GUM [6] as $U = ku_c$, *where* u_c *is the standard uncertainty for all identified components, and* $k = 2$ *corresponds to the expansion factor to reach an approximate confidence level of* 95%. *The standard uncertainty includes the characterization of* CRM u_{char}, *the individual contributions from the homogeneity study* u_{hom}, *the transport tests* u_{trn}, *and the long-term stability study* u_{lts}.

$$U = k\sqrt{u_{char}^2 + u_{hom}^2 + u_{trn}^2 + u_{lts}^2}$$

2. Período de validez (Period of Validity)

Este documento, incluyendo los valores asignados y sus incertidumbres, tienen un periodo de validez hasta el **2028-03-14** siempre y cuando se conserven las condiciones ideales de almacenamiento y manipulación.

This document, including assigned values and uncertainties are valid until ***2028-03-14*** *provided suitable handled and storage conditions.*

+57 318 209 75 67
clientes@mol-labs.com

3. Uso previsto (Intended use)

Este Material de Referencia Certificado ha sido caracterizado con el fin de ser empleado en la validación/verificación de procedimientos de medida y/o en el aseguramiento de calidad de los resultados.

This Certified reference material is intended for use in the validation/verification measurement procedures and/or in the quality assurance of results.

- la elaboración de gráficos de control;(*control charts preparation*)
- demostrar el control analítico de un procedimiento en el tiempo;(*Demonstration of analytical control of a procedure over time*)
- comparación de resultados en condiciones de repetibilidad y/o precisión intermedia; (*Comparison of results under repeatability and/or intermediate precision conditions*)
- como muestra de verificación; (*as a verification sample*)
- evaluación de competencias técnicas de analistas; (*assessment of analysts' technical competencies*)
- evaluación del impacto de las condiciones ambientales a los datos de medición;(*Assessment of the impact of environmental conditions on measurement data*)
- evaluar la robustez del procedimiento de medición. (*assessment of the robustness of measurement procedures*)

Para más información sobre usos de los MRC, consulte la Guía ISO 33 [7].

For further information on certified reference materials, consult ISO Guide 33 [7].

4. Descripción del material (Description)

El Material de Referencia Certificado en Harina de trigo consta de 400 g de harina de trigo de una marca comercial, re-empacada en Mol Labs en bolsas plásticas al vacío.

The Certified reference material in Flour wheat consists of 400 g of wheat flour from a commercial brand. The items are repackaged at Mol Labs in vacuum-sealed plastic sachets.

5. Instrucciones de uso (User instructions)

Para una correcta preservación del Material de Referencia Certificado, tenga en cuenta las siguientes indicaciones:

+57 318 209 75 67
clientes@mol-labs.com

For proper preservation of the Certified reference material, please follow the following instructions:

5.1. Almacenamiento (Storage)

El Material de Referencia Certificado de Harina de trigo es estable en su envase original, mientras no haya sido abierto. El material ha sido probado para estabilidad a temperaturas entre 2 ℃ y 40 ℃ y una humedad relativa entre 20% y 75%. Una vez abierto, almacene el resto del material en su bolsa original en lugar seco y fresco para evitar pérdida o ganancia de humedad. De preferencia emplee una bolsa externa o caja plástica con cierre hermético.

The Flour wheat Certified reference material is stable in its original packaging, as long as it has not been opened. The material has been tested for stability at temperatures between 2 ℃ - 40 ℃ and a relative humidity between 20% and 75%. Once opened, store the remaining material in its original bag in a dry, cool place to avoid moisture loss or gain. It is preferable to use an external bag or a plastic box with an airtight seal.

5.2. Porciones de ensayo (test portions)

Para garantizar las incertidumbres y los valores asignado, emplee los procedimientos de medida descritos en la **Tabla 1**, y utilice las siguientes porciones de material para cada ensayo:

To ensure the accuracy of uncertainties and assigned values, use the measurement procedures outlined in ***Table 1****, applying the following test portions:*

- Cenizas, Pesar entre 3 y 5 gramos del material;(Ash, weigh between 3 and 5 grams of the material;)
- Grasa, pesar 2 g del material(Fat, weigh 2 g of the material;)
- Humedad, pesar 2 g del material;(Moisture, weigh 2 g of the material;)
- Hierro, pesar 5 g del material;(Iron, weigh 5 g of the material;)
- Proteína, Pesar 0.5 g del material.(Protein, weigh 0.5 g of the material.)

5.2.1. Procedimiento determinación de proteína como N

5.2.1.1. Reactivos

- Ácido sulfúrico (H_2SO_4 98%);

+57 318 209 75 67
clientes@mol-labs.com

- Sulfato de cobre pentahidratado ($CuSO_45H_2O$);
- Sulfato de potasio anhidro (K_2SO_4);
- Disolución de ácido bórico al 4% (H_3BO_3 al 4%);
- Peróxido de hidrógeno al 30% - 35% (H_2O_2);
- Hidróxido de sodio al 40% - 50% (NaOH 40% - 50%)
- Disolución de ácido clorhídrico 0.1N (HCl 0.1N);
- Indicador rojo de metilo;
- Indicador verde de bromocresol

5.2.1.2. Procedimiento de medida

Pesar aproximadamente 0.5 g de muestra y pasarla cuantitativamente a un tubo de digestión. Adicionar 0.48 g de $CuSO_4.5H_20$, 7 g de K_2SO_4, 15 mL de H_2SO_4 98% y 3 mL de H_2O_2 lentamente. El programa de calentamiento del digestor, es el siguiente:

Paso 1: 150°C / 15 min Paso 2 : 250°C / 10 min Paso 3 : 350°C / 15 min Paso 4: 400°C / 60 min Retirar los tubos cuando se termine el tiempo programado a 400°C. Dejar enfriar por 10 min. y adicionar entre 50 y 75 mL de agua. Destilar con la adición de la solución de NaOH 40% - 50% (Aprox. 50 mL) y recibir la solución en un erlenmeyer de 250 mL con 50 mL de H_3BO_3 al 4% con los respectivos indicadores. Destilar hasta que haya pasado todo el amoniaco, aproximadamente 100 mL - 200 mL. Valorar el destilado con acido clorhídrico 0,1 N hasta el primer rastro de color rosa y realizar un blanco.

$$\%\, proteina\, como\, N = \frac{V * N * 0.014 * 100}{m}$$

donde,
V = mL HCl consumidos en la titulación
N = normalidad del HCl
m = masa de la muestra en g
El porcentaje de proteína se puede calcular como:

$$\%\, proteina\ = \%\, proteina\, como\, N * 5.7$$

6. Evaluación de la homogeneidad (Homogeneity Assessment)

La homogeneidad del material ha sido evaluada mediante un diseño experimental sobre 10 ítems tomados al azar, realizando 3 réplicas. Los resultados de la correspondiente prueba ANOVA de una vía, no muestran evidencia de que el ítem de ensayo no sea homogéneo.

+57 318 209 75 67
clientes@mol-labs.com

The homogeneity of the material has been evaluated through an experimental design on 10 randomly selected items, with 3 replicates. The results of the corresponding one-way ANOVA test show no evidence that the test item is not homogeneous.

7. Evaluación de la estabilidad (Stability)

Para evaluar la estabilidad al transporte, dos ítems tomados al azar se sometieron a choques térmicos semanales durante dos meses y otros dos durante cuatro meses. En ambos casos la diferencia observada de los valores medidos, frente al valor asignado, es menor que la incertidumbre estándar asociada a la diferencia.
La estabilidad en el tiempo es evaluada a ítems almacenados en las condiciones adecuadas del material. Los resultados de la regresión lineal simple no muestran evidencia de inestabilidad del material.

To evaluate transport stability, two randomly selected items were subjected to weekly thermal shocks for two months, and another two items for four months. In both cases, the observed difference between the measured values and the assigned value is smaller than the standard uncertainty associated with the difference. Time stability is evaluated for items stored under the appropriate material conditions. The results of the simple linear regression show no evidence of material instability.

8. Trazabilidad metrológica (metrological traceability)

Durante la producción del Material de Referencia Certificado Harina de trigo, se emplearon equipos calibrados, se dispone de procedimientos documentados de medición y procedimientos para las estimaciones de incertidumbre.

During the production of the Certified reference material Flour wheat, calibrated equipment was used along with suitable documented measurement procedures and uncertainty estimation procedures.

- **Cenizas (Ash)**: Para la evaluación del sesgo de medición se empleó el material de referencia certificado ERM-BC382 wheat flour. El valor asignado para cenizas es definido operacionalmente desde el procedimiento de medida AOAC 923.03, por gravimetría, tras calcinación. Se utilizó la balanza Mettler Toledo, Modelo ML204TI00 con certificado de calibración MET-LM-CC 21167. Fecha calibración: 2024-04-30, calibrada contra masas patrón LMB 035 con certificado de calibración DKD 141526 vigente hasta 2025-06-20;
- ***Cenizas (Ash)**: For the evaluation of measurement bias, the certified reference material ERM-BC382 wheat flour was used. The assigned value for ash is operationally defined*

+57 318 209 75 67
clientes@mol-labs.com

according to the measurement procedure AOAC 923.03, by gravimetry after calcination. The balance used was Mettler Toledo, Model ML204TI00, with calibration certificate MET-LM-CC 21167. Calibration date: 2024-04-30, calibrated against standard masses LMB 035, with calibration certificate DKD 141526 valid until 2025-06-20.

- **Grasa (Fat)**[1]: Para la evaluación del sesgo de medición se empleó el material de referencia certificado ERM-BC382 wheat flour. El valor asignado para grasa es definido operacionalmente desde el procedimiento de medida AOAC 922.06, por gravimetría, hidrólisis ácida + extracción soxhlet. Se utilizó la balanza Mettler Toledo, Modelo ML204TI00 con certificado de calibración MET-LM-CC 21167. Fecha calibración: 2024-04-30, calibrada contra masas patrón LMB 035 con certificado de calibración DKD 141526 vigente hasta 2025-06-20;
- ***Grasa (Fat)***[1]*: For the evaluation of measurement bias, the certified reference material ERM-BC382 wheat flour was used. The assigned value for fat is operationally defined according to the measurement procedure AOAC 922.06, by gravimetry, acid hydrolysis + Soxhlet extraction. The balance used was Mettler Toledo, Model ML204TI00, with calibration certificate MET-LM-CC 21167. Calibration date: 2024-04-30, calibrated against standard masses LMB 035, with calibration certificate DKD 141526 valid until 2025-06-20.*
- **Moisture (Humedad)**: El valor asignado para humedad es definido operacionalmente desde el procedimiento de medida AOAC 925.10, por gravimetría. Se utilizó la balanza Mettler Toledo, Modelo ML204TI00 con certificado de calibración MET-LM-CC 21167. Fecha calibración: 2024-04-30, calibrada contra masas patrón LMB 035 con certificado de calibración DKD 141526 vigente hasta 2025-06-20.;
- ***Moisture (Humedad)****: The assigned value for moisture is operationally defined according to the measurement procedure AOAC 925.10, by gravimetry. The balance used was Mettler Toledo, Model ML204TI00, with calibration certificate MET-LM-CC 21167. Calibration date: 2024-04-30, calibrated against standard masses LMB 035, with calibration certificate DKD 141526 valid until 2025-06-20.*
- **Hierro total (Total Iron)**: El valor asignado para hierro es definido operacionalmente desde el procedimiento de medida AOAC 944.02, por espectrofotometría. Se utilizó la balanza Mettler Toledo, Modelo ML204TI00 con certificado de calibración MET-LM-CC 21167. Fecha calibración: 2024-04-30, calibrada contra masas patrón LMB 035 con certificado de calibración DKD 141526 vigente hasta 2025-06-20. La curva de calibración fue construida con solución Certipur® Iron standard solution 1000 mg/L Fe. Lote 962599 Ref C019,2NP,L25. Medidas realizadas en espectrofotómetro Agilent Cary 60 MY23459207 certificado de calibración SP24-044-C con fecha 2024-03-12.
- ***Hierro total (Total Iron)****: The assigned value for iron is operationally defined according to the measurement procedure AOAC 944.02, by spectrophotometry. The balance used was Mettler Toledo, Model ML204TI00, with calibration certificate MET-LM-CC 21167. Calibration date: 2024-04-30, calibrated against standard masses LMB 035, with calibration certificate DKD 141526 valid until 2025-06-20. The calibration curve was constructed using*

+57 318 209 75 67
clientes@mol-labs.com

Certipur® Iron standard solution 1000 mg/L Fe, Lot 962599 Ref C019,2NP,L25. Measurements were performed on an Agilent Cary 60 Spectrophotometer MY23459207 with calibration certificate SP24-044-C dated 2024-03-12.

- **Proteína como N (Protein as N)**: Para la evaluación del sesgo de medición se empleó el material de referencia certificado ERM-BC382 wheat flour. El valor asignado para proteína es definido operacionalmente desde el procedimiento de medida AOAC 991.20 modificado (se emplea como catalizador sulfato de cobre CuSO4), por destilación Kjeldahl y valoración volumétrica. Valoraciones realizadas con Ácido clorhídrico 0,1 N Mol labs V4504 L 2024-12-18, trazado a sodio carbonato patrón primario NIST 351a. Se utilizó la balanza Mettler Toledo, Modelo ML204TI00 con certificado de calibración MET-LM-CC 21167. Fecha calibración: 2024-04-30, calibrada contra masas patrón LMB 035 con certificado de calibración DKD 141526 vigente hasta 2025-06-20. Medidas volumétricas con Bureta digital 50,0 mL Brand Titrette® serial DE-M22 22F93930, certificado de calibración SC4_160125 con fecha 2025-01-27.
- ***Proteína como N (Protein as N)**: For the evaluation of measurement bias, the certified reference material ERM-BC382 wheat flour was used. The assigned value for protein is operationally defined according to the modified AOAC 991.20 procedure (copper sulfate CuSO4 is used as a catalyst), by Kjeldahl distillation and volumetric titration. Titrations were performed with 0.1 N hydrochloric acid Mol Labs V4504 L 2024-12-18, traced to sodium carbonate primary standard NIST 351a. The balance used was Mettler Toledo, Model ML204TI00, with calibration certificate MET-LM-CC 21167. Calibration date: 2024-04-30, calibrated against standard masses LMB 035, with calibration certificate DKD 141526 valid until 2025-06-20. Volumetric measurements were made with a 50.0 mL Brand Titrette® digital burette, serial DE-M22 22F93930, with calibration certificate SC4_160125 dated 2025-01-27.*

9. Información de seguridad (Health and Safety information)

Esta sustancia no se clasifica como peligrosa de acuerdo con las directivas de las Naciones Unidas en el Sistema Globalmente Armonizado de Clasificación y Etiquetado de Productos Químicos (SGA) - ST/SG/AC.10/30/Rev.6; o a las respectivas leyes nacionales [8]. Este material no debe ser empleado en consumo humano y/o animal, ni como materias primas para la industria agrícola, alimenticia o farmacéutica. Su intención de uso se restringe únicamente a laboratorios de ensayo. Elimine los residuos de acuerdo con las respectivas leyes locales y nacionales.

This substance is not classified as hazardous according to the United Nations directives in the Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS) - ST/SG/AC.10/30/Rev.6; or according to the respective national laws [8]. This material should not be used for human and/or animal consumption, nor as raw materials for the agricultural, food, or pharmaceutical industries. Its intended use is strictly limited to testing laboratories. Dispose of waste in accordance with the applicable local and national regulations.

+57 318 209 75 67
clientes@mol-labs.com

10. Información de contacto (Contact Information)

Mol Labs
Cra 55B #79b-34
Bogotá, Colombia.
+57 318 2097567
www.mollabs.com
clientes@mol-labs.com

11. Emisión y autorización del informe (report authorization)



Elaboró
Bryan Hernandez
Metrología química
quimiometria@mollabs.com



Aprobó
Immer Mauricio Caicedo
Estadístico
Par técnico
clientes@mol-labs.com

+57 318 209 75 67
clientes@mol-labs.com

12. Historial de cambios (Certificate Revision History)

Fecha (date)	Control de cambios(Reason for version)
2025-03-14	Emisión del certificado (Initial version)
2025-08-22	Adición procedimiento para la determinación de proteína como N

13. Referencias Bibliográficas (References)

[1] "Requisitos generales para la competencia de los productores de materiales de referencia," Publicado por la Secretaría Central de ISO, Ginebra, Suiza, 2016.

[2] "Reference materials — guidance for characterization and assessment of homogeneity and stability," Publicado por la Secretaría Central de ISO, Ginebra, Suiza, 2017.

[3] "Reference materials — selected terms and definitions," ISO Central Secretariat, Geneva, Switzerland, 2015.

[4] A. ASTM, "E178-21: Standard practice for dealing with outlying observations," *ASTM Standards*, 2021.

[5] "Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración," Publicado por la Secretaría Central de ISO, Ginebra, Suiza, 2017.

[6] "Evaluation of measurement data — guide to the expression of uncertainty in measurement," Document produced by Working Group 1 of the Joint, Sèvres, France, 2008.

[7] "Reference materials — good practice in using reference materials," ISO Central Secretariat, Geneva, Switzerland, 2015.

[8] "Sistema globalmente armonizado de clasificación y etiquetado de productos químicos (SGA)," Publicacion de las Naciones Unidas, New York y Ginebra, 2017.

Fin del Certificado (End of certificate)