

# Documentación Y Verificación Del Análisis De Fibra Cruda Por Medio Del Equipo Fibrebag FBS-6 Para El Laboratorio De Análisis De Aguas Y Alimentos De La Universidad Tecnológica De Pereira.

## Documentation and Verification of Crude Fiber Analysis by Team Fibrebag -Fbs 6 Laboratory Analysis of Water And Food Technology University Of Pereira.

Jorge Andrés Romero Pérez

Facultad de Tecnologías, Escuela de Química, Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira, Colombia

Correo-e: yahve\_jarz@hotmail.com

**Resumen**— El método FibreBag se identificó como uno de los métodos más sobresalientes en la determinación de fibra bruta, al proporcionar resultados más prácticos y eficientes, requeridos en laboratorios con análisis de rutina. Con la finalidad de dar soporte y calidad en los resultados entregados, El laboratorio de Análisis de Aguas y Alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira proporcionó la verificación del análisis de fibra bruta empleando el equipo FIBREBAG-FBS 6, identificando los atributos de calidad como límite de cuantificación 1,05 % y límite de detección 0,39 % y coeficiente de variación de 2,57 %, para el método FibreBag y 6,94 % para el método tradicional.

**Palabras clave**— Fibra bruta, Fibrebag, Varianza, verificación.

**Abstract**— The FibreBag method is identified as one of the most outstanding methods in determining crude fiber, by providing more practical and efficient results, required in routine analysis laboratories. In order to support and quality results delivered, the Laboratorio de Análisis de Aguas y Alimentos of Universidad Tecnológica de Pereira provided verification analysis of crude fiber using the FIBREBAG-FBS 6 team, identifying quality attributes as limit of quantization 1.05 % and Limit of detection 0.39 % and coefficient of variation of 2.57 %, for the method FibreBag and 6.94% for the traditional method.

**Key Word** — Crude fiber, FibreBag, Variance, verification.

### I. INTRODUCCIÓN

La fibra en los alimentos sea constituido como uno de los componentes alimenticios más importantes y de mayor interés en estas últimas décadas, catalogada en diversas asociaciones como en el caso del Sistema Regulatorio Japonés FOSHU (Alimentos exclusivos para la salud) como un ingrediente con actividad fisiológica [1]. No obstante su aplicación remonta desde épocas antiguas, como en el caso de Papiro Eberts (1500 años de a.C) quien recomendaba dietas ricas en frutas, dátiles, nueces, sumo de acacias, etc[2 ].No fue hasta 1953

que Hispley definió por primera vez el término de fibra dietética como “los constituyentes no digeribles que se encuentran en la pared de la célula vegetal”, este término fue referenciado en 1969 por el Dr Denis P.Burkitt quien atribuyó el cáncer del intestino grueso y otras enfermedades gastrointestinales con la carencia de fibra en la dieta. Trowell's en 1999 incluyó en la definición términos como oligosacáridos, polisacáridos, ligninas y demás sustancias relacionadas con los vegetales, se considera además la participación de gomas, mucilagos y aditivos alimenticios industriales [3].

Las muchas investigaciones sobre fibra dietaria han permitido el descubrimiento de una gran variedad de componentes a tal punto que no se pudo consolidar una definición que abarque las demás concepciones de los autores e investigadores, sin embargo la tendencia que se ha venido presentando es referir la fibra alimentaria como un alimento funcional, es decir, alimentos o nutrientes que contienen componentes o elementos fisiológicamente activos [4].

La fibra alimentaria engloba dentro de sus efectos fisiológicos la sensación de saciedad debido al tiempo de tardado en el vaciamiento gástrico, produce disminuye en la absorción de ácidos biliares y por ende disminución de los niveles de colesterol, promueve la formación de ácidos grasos de cadena corta que permite la absorción del calcio, aumenta el volumen de la heces, influyen en la proliferación de la flora intestinal, disminuye la formación de células tumorales, entre otras. Estos efectos contribuyen a prevenir, mejorar y regular enfermedades como cardiopatías, diabetes, cáncer colorrectal, estreñimiento, etc[5].

Acompañada de los beneficios para la salud, los métodos analíticos cumplen un papel importante en la determinación e identificación de los componentes de la fibra alimentaria. Estos se encuentran clasificados según el tipo de tratamiento y de los componentes que pueden ser obtenidos, donde se

abarca los métodos químicos, (gravimétricos no enzimáticos) como lo son fibra bruta, fibra ácido detergente (ADF) y fibra neutro detergente (NDF) [6]. Los métodos enzimáticos-gravimétricos que tratan de reproducir las condiciones del tracto gastrointestinal, al realizar hidrólisis enzimáticas y de esta forma eliminar proteínas e hidratos de carbono, los más utilizados son los métodos de Prosky y Lee en el etiquetado de productos. [6] [7]. Y los métodos enzimáticos químicos que combina las digestiones enzimáticas y la hidrólisis ácida para cuantificar básicamente los azúcares monoméricos, ácidos urónicos y lignina, empleando colorimetría, Cromatografía de gas-liquido (GLC) y Cromatografía líquida de alta presión (HPLC), destacándose los métodos de Englyst y Uppsala [6] [8].

De los métodos químicos, la determinación de fibra bruta es muy empleada en los análisis proximales y en la cuantificación de fibra en alimentos de animales, esto ha permitido encontrar técnicas más eficientes que proporcionen resultados más rápidos y prácticas en comparación del método clásico de Weende. Aparatos como el Fibertec de FOSS con sistema de fritas y el Ankom con tecnología bolsa de filtro son algunas de las alternativas más empleadas [9] [10]. Actualmente C. Gerhardt ha desarrollado la tecnología Fibrebag que permite reducir pasos de los métodos tradicionales, mínima el consumo de energía y reactivos, permitiendo obtener resultados más precisos.

En el marco de la validación del método Fibrebag, se realizó la comparación con el método oficial VDLUFA basado en fritas de vidrio, empleando matrices como heno, harina de girasol, harina de soja extraída, trébol de la alfalfa, alimentación de vaca lechera, entre otras [11]. De los resultados obtenidos se encontró una desviación media de 0.146 entre los dos métodos al analizar 104 muestras de alimentos para ganado, -0.06 con el análisis de 104 muestras de alimento para cerdos y una desviación media de 0.023 en la determinación de 53 muestras de alimento para ave de corral. Con estos resultados obtenidos se concluye que el método FibreBag es apto para los análisis de fibra de rutina comparados con el método VDLUFA [12].

Para la verificación del método Fibrebag es de consideración la carencia de material de referencia o de Estándar, debido a la compleja naturaleza que presenta la fibra bruta, por tal razón se hace necesario emplear alternativas como la comparación de métodos mediante estudios Colaborativos y por análisis de muestras paralelas en condiciones intermedias de precisión. De la primera, el método en estudio es aplicado por un conjunto mínimo de 8 laboratorios, trabajando con cantidades idénticas de muestra y concentraciones adecuadas de analitos, evaluando los parámetros como precisión, exactitud, sensibilidad, especificidad, rango, límite de cuantificación, límite de detección, selectividad y aplicabilidad. De la segunda forma, se compara el método evaluado con un método de referencia al realizar un análisis en paralelo en diferentes días, analistas y

equipos, estableciendo condiciones de precisión controladas [13].

El laboratorio de Análisis de Aguas y de Alimentos de la universidad Tecnológica de Pereira, ante la demanda de su servicio en la región y la continua evolución de las tecnologías que van en pro de mejorar los resultados, adquirió un equipo especializado en el análisis de fibra alimentaria, el cual no se encuentra documentado y verificado. Por tal motivo la dirección de este estudio va encaminada a proporcionar la documentación bajo los lineamientos establecidos por el laboratorio dentro de su sistema de calidad, contribuyendo al laboratorio con la alta calidad que debe presentar en su trabajo, esto a su vez brindándole la satisfacción del cliente, al proporcionales resultados confiables.

En el estudio realizado se analizaron muestras de mora de castilla y aguacate Reed y papelillo; en donde se compararon los métodos de análisis para determinación de fibra cruda por medio del método tradicional gravimétrico y empleando el método Fibrebag, y se determinaron los atributos de método como son límites de detección y cuantificación y coeficientes de variación.

## II. METODOLOGIA

### A. MATERIALES Y REACTIVOS.

Se emplearon como matrices la mora de Castilla con procedencias de Marsella/Risaralda, Aguacate Papelillo (proveniente de la vereda Albania en Tolima) y Aguacate Reed (De la población de Morelia en Pereira y la vereda Albania en Tolima), obtenidas en punto de venta. La mora de Castilla fue conservada a temperatura de congelación para evitar la contaminación y proliferación de hongos como Botrytis cinérea, y para minimizar la degradación de la fruta. Los aguacates tuvieron un almacenamiento a temperatura de 4 °C.

En el desengrasado de las matrices se utilizó el equipo DET-GRAS (P SELECTA ®) con n-hexano (pb: 68°C) como solvente. En las digestiones de las matrices se empleó el equipo FIBREBAG-FBS 6(GERHARDT ®) con soluciones de ácido sulfúrico 0.12 M e hidróxido de potasio 0.23 M. Para la extracción de la fibra se emplean bolsas de referencia 10-0128 FIBREBAGS RF.

### B. METODOS.

**Preparación de la muestra.** Se procedió a secar las muestras analizadas a temperaturas adecuadas para cada una de ellas, en el caso de mora de Castilla el secado fue a 70 °C y para los aguacates Papelillo y Reed a 60 °C. Posteriormente se desengrasaron con n-hexano (50 mL/muestra), con un tiempo

de reflujo dependiente de la cantidad de grasa presente (2 horas para la mora de Castilla y 4 horas para los aguacates).

**Determinación de la fibra bruta (método Fibrebag con base al método Oficial de la AOAC ,962.09) [14].** Con las muestras secas y desengrasadas, se realiza la hidrólisis alcalina en el equipo FIBREBAG-FBS 6 con una solución de 250 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,12 M durante 47 min y a una temperatura de 94 °C; luego se lava el residuo con 3 porciones de agua caliente (50-75 mL por muestra). De forma similar se realiza la digestión básica, utilizando 250 mL de KOH 0,23 M por 47 min y 3 lavados sucesivos con agua caliente hasta fin de alcalinidad. Las bolsas con el residuo obtenido se secan a 105 °C durante mínimo 4 horas o toda la noche para luego registrar los pesos. Finalmente se incineran las muestras a 600 °C mínimo 4 horas o por toda la noche y se registran los pesos.

### III. RESULTADOS Y ANÁLISIS

Con la finalidad de determinar la exactitud del método se realizó una prueba experimental con Carboximetilcelulosa como estándar de referencia, encontrándose una fibra Cruda de 54,86 %, sin embargo este tipo de fibra no cumple con las características necesarias de fibra bruta que debe presentarse en los alimentos, razón por la cual se omite la utilización de este material, confirmando las afirmaciones de la ausencia de un material de referencia primario que permite calificar la exactitud del método [15].

En un primer acercamiento del análisis de fibra cruda en las frutas analizadas, se realizó la determinación de este constituyente en cuatro muestras de mora de Castilla del mismo lote, 2 muestras de aguacate Papelillo y 2 muestras de aguacate Reed. Los valores calculados fueron contrastados con los señalados en la literatura, encontrándose que el porcentaje de fibra cruda de la mora de Castilla fue en promedio el doble del valor reportado en la literatura (7,74 % Vs a 4,2 % y 3,2 % respectivamente), para el aguacate Papelillo el valor experimental presentó una diferencia de 0,55 % respecto al valor de referencia bibliográfica (5,16 % y 4,61 % respectivamente) y de forma semejante para el aguacate Reed, donde hubo una diferencia de 0,33 % (valor exp:7,57 % y valor referencia bibliográfica 7,90 %). De esta forma es notable el acercamiento que tuvieron los tipos de aguacate con sus valores de referencia, en contraste con la Mora de castilla, que presentó un porcentaje de fibra elevado.

Es importante tener en cuenta las incertidumbres de los resultados expresadas por la desviación estándar, donde el aguacate Papelillo seguido del aguacate Reed presentaron poca dispersión de los datos (0,3545 y 0,5311), estos valores son confirmados por el % coeficiente de Variación, los cuales se encuentran bajo el margen aceptable de variabilidad (no mayor al 10 % [16]). Sin Embargo, tanto la desviación estándar (1,0780) como el % coeficiente de varianza (13,92

%) para la Mora de Castilla resultaron altos en comparación a las matrices anteriormente mencionadas, y por fuera del límite de referencia aceptable de variabilidad.

**Tabla 1. Porcentaje de fibra bruta en Mora de Castilla, aguacate Papelillo y aguacate Reed. Método FibreBag.**

Variable	Unidades	Mora de Castilla n = 4	C.V %	Valor de Referencia
* Fibra Cruda	g / 100 g	7,74 ± 1,08	13,9	4,20

\*Porcentaje de fibra cruda en base humedad.

**Tabla 2. Porcentaje de fibra bruta en Aguacate Reed. Método FibreBag.**

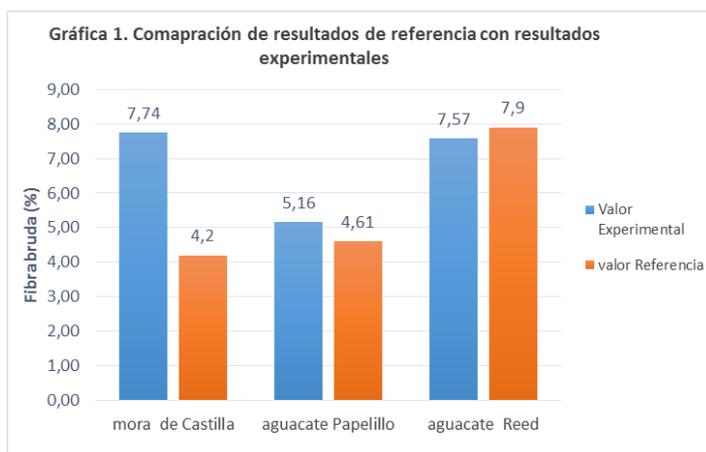
Variable	Unidades	Aguacate Reed n = 2	C.V %	Valor de Referencia
* Fibra Cruda	g / 100 g	7,57 ± 0,53	7,01	7,90

\*Porcentaje de fibra cruda en base humedad

**Tabla 3. Porcentaje de fibra bruta en Aguacate papelillo. Método FibreBag.**

Variable	Unidades	Aguacate Papelillo n = 2	C.V %	Valor de Referencia
* Fibra Cruda	g / 100 g	5,16 ± 0,36	6,87	4,61

\*Porcentaje de fibra cruda en base humedad



**Gráfica 1. Valores experimentales y de referencia de mora de Castilla, aguacate Papelillo y aguacate Reed evaluadas.**

Algunos factores que se ven implicados en el porcentaje de fibra en las frutas y en este caso particular de la mora son: el grado de madurez, a medida que se tenga una mayor madurez hay una disminución en el contenido de fibra soluble e insoluble en la fruta [17]. El daño fitopatológico de los frutos, que ocasiona una disminución del contenido de agua y por tanto un incremento de cenizas, grasa y fibra [18], y por ultimo las condiciones ambientales secas y estériles, que influyen en obtener resultados más grandes de fibra cruda y de azúcares reductores, por la disminución de la humedad en el fruto [19].

De lo anterior, debido a la procedencia de la matriz de Mora de Castilla (obtenida desde punto de venta) donde se considera una enfermedad a causa del control en la manipulación y almacenamiento del producto, que permiten por ejemplo la proliferación de moho gris (*Botrytis cinerea*) [20]; como también el grado de madurez del fruto cuantificado, representarían las posibles causas del elevado porcentaje de fibra cruda determinado experimentalmente, el cual además esclarece la variedad de resultados que se pueden conseguir en ensayos de rutina.

Algunos factores que actúan en la variedad del porcentaje de fibra en el aguacate corresponden a los relacionados con la zona de cultivo, condiciones de crecimiento, tiempo de recolección y almacenaje [21] [22]. Otras fuentes mencionan los cambios en la maduración de los aguacates, viéndose transformado el contenido de fibra en la pulpa por la descomposición de polisacáridos en azúcares simples, presentando una progresiva disminución del contenido de fibra en forma general [23]. Además se puede ver diferencias dependiendo la vigorosidad de los árboles [24].

Para una segunda determinación de las matrices evaluadas, se tuvo en cuenta la comparación con el método tradicional (gravimétrico) utilizando para este caso un triplicado de Mora de castilla para cada método.

**Tabla 4. Resultados con el Método de Fibrebag**

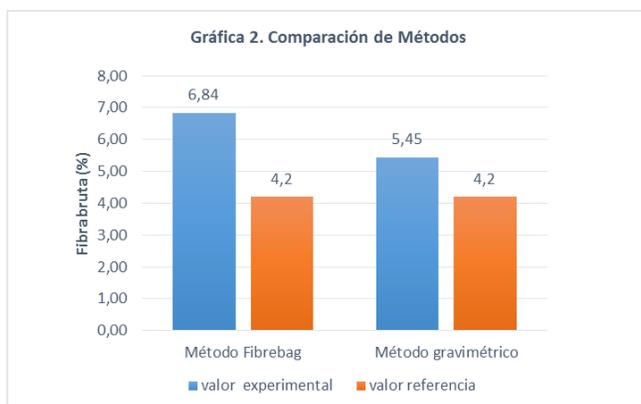
Variable	Unidades	Mora de Castilla n = 3	C.V %	Valor de Referencia
* Fibra Cruda	g / 100 g	6,84 ± 0,16	2,35	4,20

\*Porcentaje de fibra cruda en base humedad.

**Tabla 5. Resultados con el Método Gravimétrico**

Variable	Unidades	Mora de Castilla n = 3	C.V %	Valor de Referencia
* Fibra Cruda	g / 100 g	5,45 ± 0,26	4,83	4,20

\*Porcentaje de fibra cruda en base humedad.



**Gráfica 2. Comparación del método Fibrebag y el método gravimétrico utilizando como matriz mora de Castilla.**

Con los resultados obtenidos es evidente ver que el método Fibrebag obtiene un mayor porcentaje de fibra cruda 6,84 % en comparación al método gravimétrico 5,45 %, este último se acerca más a los valores citados 3,2% y 4,2 % los cuales solo dan un dato de referencia en particular de la posible cantidad que se puede determinar, puesto que como se observó previamente existen factores que varían el porcentaje de fibra bruta en las frutas.

Experimentalmente la justificación de dichos valores pudo deberse al contacto directo que tiene el analista con la matriz, en el caso del método Fibrebag la mayoría de las operaciones se realizan con el analito depositado en la bolsa (fibrebag), evitando pérdida significativa de la muestra, en contraste con el método gravimétrico tradicional donde se ve involucrada varias transferencias del material analizado, ocasionando de esta forma pérdidas considerables.

Para definir si hay diferencias significativas entre los dos métodos, se comparan los resultados obtenidos por medio de un análisis de varianza:

**Tabla 6. Análisis de Varianza**

Método	Varianza	F	F crítico	Probabilidad
Fibrebag	0,026	61,49	7,709	0,0014
Gravimétrico	0,069			

En el análisis de la varianza para identificar la precisión del método evaluado considerando un método de referencia, se realizó la prueba F de Fisher, teniendo presente una probabilidad de 5 %. Con los resultados obtenidos Se encontró que el F calculado es mayor al F crítico, interpretándose este como la existencia de diferencias significativas entre los métodos en las medias y las varianzas [25] [26]. No Obstante es evidente notar que el método FibreBag presenta una mayor precisión que el método referencia (0,026, 0,069 respectivamente), resultado que se ve asociado a las

condiciones de manipulación de la muestra cómo se describió previamente.

Con los blancos de los análisis que han sido realizados se encuentra un límite de cuantificación de 1,05 % y un límite de detección de 0,39 % para el método Fibrebag.

#### IV. CONCLUSIONES

Se puede obtener los parámetros de calidad más sobresalientes que proporcionan confiabilidad del equipo y el método empleado, tanto para el laboratorio de Análisis de Aguas y Alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira, prestador del servicio, como para el cliente beneficiario del servicio.

El equipo FibreBag –FBS 6 se identifica como instrumento apto en análisis de rutina en la cuantificación de fibra bruta en productos vegetales, caracterizada por una buena precisión de sus resultados en contraste de métodos tradicionales, al presentar una variabilidad aceptable, la cual además se ve influenciada por las características de la matriz y las condiciones de operación en su determinación.

A pesar de no haberse examinado la exactitud del método debido a la ausencia de material de referencia, la comparación con el método gravimétrico, indica que el método Fibrebag proporciona un valor con un mínimo de pérdidas por manipulación, que es una de las incertidumbres habituales introducidas en la proceso, dicho valor representaría una cantidad más acertada al dato real de fibra bruta en el producto.

Se documentaron los instructivos del método Fibrebag y de manejo del equipo, siguiendo los lineamientos del laboratorio de Análisis de Aguas y Alimentos.

#### RECOMENDACIONES.

El analista debe tener presente la naturaleza de la muestra analizada y la precaución en los tiempos y temperaturas del procedimiento.

Sería adecuado para la exactitud del método, buscar e indagar más sobre posibles materiales de referencia y/o métodos análogos que presenten características más compatibles con el método Fibrebag.

#### AGRADECIMIENTOS.

Agradecer en primera instancia a Jehová por permitir la ejecución del proyecto, A la Universidad Tecnológica de Pereira y al Laboratorio de Análisis de Aguas y Alimentos que proporcionaron los equipos, instrumentos y reactivos.

#### REFERENCIAS

- [1]CORTÉS R, Misael. CHIRALT B, Amparo. PUENTE D, Luís. Alimentos Funcionales: Una Historia con Mucho Presente y Futuro. EN: Vitae: Revista de la Facultad de Química Farmacéutica Universidad de Antioquía [en línea]. Vol 12. No 1 (Ene,2005)<[https://www.researchgate.net/profile/L\\_Diaz3/publication/260511523\\_ALIMENTOS\\_FUNCIONALES\\_UN\\_A\\_HISTORIA\\_CON\\_MUCHO\\_PRESENTE\\_Y\\_FUTURO/links/0a85e53174e0e2bd95000000.pdf](https://www.researchgate.net/profile/L_Diaz3/publication/260511523_ALIMENTOS_FUNCIONALES_UN_A_HISTORIA_CON_MUCHO_PRESENTE_Y_FUTURO/links/0a85e53174e0e2bd95000000.pdf)>;p 5-14. [Citado el 14 de junio del 2016].
- [2 ] SASTRE GALLEGO, A. Prebióticos Y Probióticos: Mecanismos de Acción y sus Aplicaciones Clínicas: Fibra y prebióticos: conceptos y perspectivas. EN: Gastroenterol Hepatol [en línea]. No. 26 (2005) <[http://www.hablemosclaro.org/Repositorio/biblioteca/b\\_372\\_Fibra\\_y\\_prebioticos\\_conceptos\\_y\\_perspectivas.pdf](http://www.hablemosclaro.org/Repositorio/biblioteca/b_372_Fibra_y_prebioticos_conceptos_y_perspectivas.pdf)>; p 6-12. [Citado el 14 de junio del 2016].
- [3] OLAGNERO, Gabriela. ABAD, Andrea. BENDERSKY, Silvia. GENEVOIS, Carolina. GRANZELLA, Laura. MONTONATI, Mara. Alimentos funcionales: fibra, prebióticos, Probióticos y simbióticos. EN: DIETA [en línea]. Vol 25. No 121 (14 de Sep-7Oct, 2007)<<http://andeguat.org/wp-content/uploads/2015/03/Alimentos-funcionales-fibra-prebi%C3%B3ticos-probi%C3%B3ticos-y-simbi%C3%B3ticos1.pdf>>; p 20-33. [Citado el 14 de junio del 2016].
- [4] GARCÍA OCHOA, Omar Eduardo. INFANTE, Ramón Benito. RIVERA, Carlos Julio. Tema General: Hacia una Definición de Fibra Alimentaria. EN: Anales Venezolanos de Nutrición [en línea]. Vol 21. No 1 (2008) <<http://anales.fundacionbengoa.org/ediciones/2008/1/art4.pdf>>;p 25-30. [Citado el 14 de junio del 2016].
- [5] ESCUDERO ÁLVAREZ, E. GONZÁLEZ SÁNCHEZ, P. La fibra dietética. EN: Nutrición Hospitalaria [en línea].No.21 (2006)<<http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v21s2/original6.pdf>>; p 61-72. [Citado el 14 de junio del 2016].
- [6] APARICIO CEDIEL, Inmaculada Mateos. Aprovechamiento de Subproductos de Leguminosas para la Obtención de Productos Funcionales. Comparación De Metodologías Para La Caracterización De La Fibra Alimentaria. Madrid, 2008,254 h. Trabajo de grado (Doctor). Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Farmacia. Departamento de Nutrición y Bromatología II (Bromatología) <<http://eprints.sim.ucm.es/8175/1/T30419.pdf>>
- [7] MATOS-CHAMORRO, Alfredo. Chambilla-Mamani, Elmer. Importancia de la Fibra Dietética, sus Propiedades Funcionales en la Alimentación Humana y en la Industria

- Alimentaria. EN: Revista de Investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos [en línea]. Vol 1.No.1 (2010)<[http://revistascientificas.upeu.edu.pe/index.php/ri\\_alimentos/article/view/362/370](http://revistascientificas.upeu.edu.pe/index.php/ri_alimentos/article/view/362/370)>; p 4-17. [Citado el 14 de junio del 2016].
- [8]PAK, Nelly. Análisis de Fibra Dietética. En : Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura la Alimentación, Dirección de Alimentación y Nutrición Oficina Regional de la Fao para América Latina y el Caribe. Producción y Manejo de Datos de Composición Química de Alimentos en Nutrición. Chile: FAO. Dirección de Alimentación y Nutrición, 1997. P 178-184.
- [9]GERHARDT.Presentation FibrethermCompetition\_I[Diapositivas]Alemania: Gerhardt, 2011, 11diapositivas, color, diapositivas, PDF.
- [10]GERHARDT.Presentation FibrethermCompetition\_II[Diapositivas]Alemania: Gerhardt, 2011, 12diapositivas, color, diapositivas, PDF.
- [11]Gerhardt.Präsentation Workshop Faseranalytik 26-5-2011 ufw.[diapositivas], Alemania: Gerhardt, 2011, 112 diapositivas, color, diapositivas, PDF.
- [12] Gerharth. Comparative Analysis Determination of Crude Fibre Content in Animal Feed Official Vdlufa-Method against Fibrebag-Method (Fibretherm). Germany: Gerharth, 2011.
- [13] ARIZA TIRADO, Carlos Alberto. Estandarización y Verificación de los Métodos Analíticos Alternativos Usados en Calidad en la Compañía Productos Alimenticios Doria S.A. Bogotá, 2006,186 h. Trabajo de grado (Ingeniero en Alimentos). Universidad de la Salle. Facultad De Ingeniería De Alimentos. <<http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/15709/T43.06%20A47e.pdf?sequence=1>>.p 13-14.
- [14] Gerhardt. Application Fibrebag System: Crude Fibre in Animal Feed.Germany:Gerhard, 2005. p 1-5.
- [15]Garbelotti.María L, Pinatti M. Deise A, Torres.Elizabeth A.F.S. Determination and validation of dietary fiber in food by the enzymatic gravimetric method.En : Food Chemistry. NO. 83, (may, 2002); pp 469-473.
- [16] RODRÍGUEZ OSUNA, Jacinto. FERRERAS, María Luisa. NÚÑEZ, Adoración. EN: Reis [en línea]. No.54 (1991)<<file:///I:/trabajo%20de%20grado%20ultimo%20%20oj%20/Dialnet-InferenciaEstadisticaNivelesDePrecisionYDisenoMues-249348.pdf>>;p 139-162. [Citado el 15 de junio del 2016].
- [17] FARINANGO TAIPE, Maritza Elizabeth. Estudio de la Fisiología Postcosecha de la Mora de Castilla (Rubus Glaucus Benth) y de Mora Variedad Brazos (Rubus sp).Quito, 2010,167h. Trabajo de grado (Ingeniera Agroindustrial).Escuela Politécnica Nacional. Facultad de Ingeniería y Agroindustria. Disponible en el repositorio de la Escuela Politécnica Nacional <<http://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/1668>> pp. 71
- [18] GARZÓN CARO Lina María. GÓMEZ GÓMEZ, Carlos Adrián. Caracterización Bromatológica y Microbiológica de Cultivos de la Mora De Castilla sin Espinas (Rubus glaucus benth) del Corregimiento de la Bella y del Municipio de Santa Rosa de Cabal (Risaralda, Colombia).Pereira, 2015, 106 h. Trabajo de grado (Tecnólogo químico). Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Tecnología. Tecnología Química. Disponible en el repositorio de la Universidad Tecnológica de Pereira <<http://hdl.handle.net/11059/6065>> pp. 66
- [19] YAN, Jiang. WEN-JING, Nie. Chemical properties in fruits of mulberry species from the Xinjiang province of China EN: Food Chemistry [en línea]. Vol 174. No.54 (9-15 Nov.2014)<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814614018123>>;p 462. [Citado el 15 de junio del 2016].
- [20]ICA. Manejo Fitosanitario del Cultivo de la Mora (Rubus glaucus benth): Medidas para la Temporada Invernal [en línea] <<http://www.ica.gov.co/getattachment/b7e061eb-ebd3-4f80-9518-c771712405eb/-nbs%3BManejo-fitosanitario-del-cultivo-de-la-mora.aspx>> [Citado el 15 de junio del 2016].pp 13
- [21] ARIZA ORTEGA, José Alberto. Estudio del Efecto del Campo Eléctrico Sobre la Isomería de los Ácidos Grasos del Aguacate. TEPETITLA, 2010,139 h. Trabajo de grado (Doctorado en tecnología Avanzada).Instituto Politécnico Nacional. CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA APLICADA (CIBA-IPN TLAXCALA).Disponible en repositorio del Instituto Politécnico Nacional<<http://www.repositoriodigital.ipn.mx/handle/123456789/8669>>. p 70
- [22] JOAQUÍN MARTÍNEZ, María Clarisa. CRUZ CASTILLO, Juan Guillermo. DE LA CRUZ MEDINA, Javier. DEL ÁNGEL CORONEL, Óscar. Distribución Ecogeográfica y Características del Fruto de Persea Schiedeana Nees. En Los Tuxtlas, Veracruz, México. EN: Revista Fitotécnica [en línea]. Vol. 30, No.4 (26 de Jul del 2006-21 de Feb del 2007).<<http://www.revistafitotecniamexicana.org/documentos/30-4/7r.pdf>>;p 409. [Citado el 15 de junio del 2016].
- [23] CEBALLOS P, ADELA MARÍA. MONTOYA B, SANDRA. Evaluación Química de la Fibra en Semilla, Pulpa y Cáscara de Tres Variedades de Aguacate. EN: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial [en línea]. Vol. 11, No.1 (ene-jun, 2013).<

<http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v11n1/v11n1a13.pdf>;p  
108. [Citado el 15 de junio del 2016].

[24] CONGRESO MUNDIAL DEL AGUACATE. (7:2011: Australia). Actas VII Congreso Mundial del Aguacate: Fisiología y calidad Postcosecha del Aguacate cv. Hass Infechado con el Avocado sunblotch viroid en Michoacán, México, 2010.p

[25] Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Lección 27: Prueba de hipótesis, Prueba t, El análisis de Varianza [en línea].<[http://datateca.unad.edu.co/contenidos/100104/100104\\_EXE/leccin\\_27\\_prueba\\_de\\_hiptesis\\_prueba\\_t\\_el\\_analisis\\_de\\_varianza.html](http://datateca.unad.edu.co/contenidos/100104/100104_EXE/leccin_27_prueba_de_hiptesis_prueba_t_el_analisis_de_varianza.html)>[Citado el 15 de junio del 2016]

[26] Universitat de Valencia.4.1 Prueba F [en línea].<[http://www.uv.es/webgid/Inferencial/41\\_prueba\\_f.html](http://www.uv.es/webgid/Inferencial/41_prueba_f.html)>[Citado el 15 de junio del 2016]