


aoxlab	Procedimiento para la determinación del índice de Anisidina AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-112
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2024-04-29

Procedimiento para la determinación del índice de Anisidina




AOXLAB S.A.S.

	Procedimiento para la determinación del índice de Anisidina AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-112
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2024-04-29

DOCUMENTO CONTROLADO


PROC-TC-112 Procedimiento para la determinación del índice de Anisidina

Copia controlada No.: 1

	Nombre	Puesto o función	Firma	Fecha
Elaboró:	Estefanía Mona	Analista laboratorio		2024-04-25
Revisó:	Angela P. Patiño Pérez	Directora calidad		2024-04-29
Aprobó:	Laura S. Guerra Foronda	Director técnico		2024-04-29
Localización del documento:		Plataforma SGC		


Control de Cambios

Estado	Fecha de inicio de vigencia	Revisión	Descripción del cambio realizado	Realizó	Revisó	Aprobó
Vigente	2024-04-29	1	Ninguno (versión original).	DPP	YELP	YELP


	Procedimiento para la determinación del índice de Anisidina AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-112
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2024-04-29

ÍNDICE

1.	OBJETIVO Y ALCANCE.....	5
1.1	Objetivo.....	5
1.2	Alcance.....	5
2.	DEFINICIONES Y NOTACIONES.....	5
2.1	Definiciones.....	5
2.2	Notaciones.....	5
3.	REFERENCIAS.....	5
4.	DESARROLLO.....	7
4.1	Equipos de medición.....	7
4.2	Condiciones generales.....	7
4.2.1	Revisión general.....	7
4.2.2	Estabilización.....	7
4.3	Verificación de equipos.....	8
4.4	Manejo de la muestra.....	8
4.5	Medidas de seguridad.....	8
4.6	Reactivos y soluciones.....	8
4.6.1	Reactivos.....	9
4.6.2	Soluciones.....	9
4.7	Procedimiento para la determinación del índice de anisidina.....	9
4.7.1	Preparación de la solución de ensayo.....	9
4.7.2	Solución de ensayo sin reaccionar.....	10
4.7.3	Solución de ensayo con reacción.....	10
4.7.4	Blanco.....	10
4.7.5	Medición espectrofotométrica.....	10
4.8	Rango de absorbancia.....	10
4.9	Cálculos.....	11
4.10	Aseguramiento de la calidad.....	11
4.10.1	Repetibilidad.....	11
4.10.2	Reproducibilidad.....	11
4.11	Informe de resultados.....	12
5.	RESPONSABILIDADES.....	12
6.	FORMATOS RELACIONADOS.....	14

	<p>Procedimiento para la determinación del índice de Anisidina</p> <p>AOXLAB S.A.S</p>	<p>Identificación: PROC-TC-112</p>
		<p>Revisión: 1</p>
		<p>Inicio de vigencia: 2024-04-29</p>

7. ANEXOS 14

	Procedimiento para la determinación del índice de Anisidina AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-112
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2024-04-29

1. OBJETIVO Y ALCANCE.

1.1 Objetivo.

Detallar el procedimiento para la realización de la determinación del índice de anisidina de acuerdo con la norma NTC 4149-2021 [1], además de cumplir con los requisitos establecidos por la norma ISO/IEC 17025:2017 [3]

1.2 Alcance.

Grasas y aceites animales y vegetales exceptuando productos lácteos.

2. DEFINICIONES Y NOTACIONES.

2.1 Definiciones.

Ensayo/prueba [2].

Determinación de una o más características de acuerdo con un procedimiento.

Procedimiento [2].

Forma especificada para llevar a cabo una actividad o un proceso.

Índice de anisidina [1].

Se define por convención como 100 veces la densidad óptica medida a 350 nm en una cubeta de 1 cm de una solución que contiene 1,00 g del aceite en 100 mL de una mezcla de disolvente y reactivo según el método descrito.

Esto se da por reacción en una solución de ácido acético de los compuestos aldehídicos de un aceite y la p-anisidina.

2.2 Notaciones.

Para propósitos de este documento, se hacen las siguientes consideraciones:

“Laboratorio”: se refiere al laboratorio AOXLAB S.A.S.

“Servicios”: para referir a los servicios de ensayo que el Laboratorio ofrece.

“Ítem”: se refiere a los objetos o materiales bajo ensayo.


3. REFERENCIAS.

[1] Norma técnica colombiana. Grasas y aceites vegetales y animales. Determinación del índice de anisidina. NTC 4197. 3° Edición (ICONTEC 4197:2021)

[2] International Organization for Standardization. (2023). Quality management systems - Fundamentals and vocabulary. (ISO standard No. 9000:2015).

aoxlab	Procedimiento para la determinación del índice de Anisidina AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-112
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2024-04-29

[3] ISO/IEC 17025:2017 General requirements for the competence of testing and calibration laboratories / Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración. |

	Procedimiento para la determinación del índice de Anisidina AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-112
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2024-04-29

4. DESARROLLO.

4.1 Equipos de medición

Tabla 1. Equipos y su especificación necesaria para la determinación del índice de anisidina.

Equipos	Especificación
Balanza analítica	Resolución de 0,1 mg
Centrífuga	Velocidad mínima de 3575 RPM
Vortex	Agitación para tubos falcón
Espectrofotómetro	Lectura a 350 nm
Pipeta volumétrica	5 mL
Pipeta volumétrica	1 mL
Tubos falcón	Capacidad 15 mL
Tubos falcón	Capacidad 50 mL

4.2 Condiciones generales

4.2.1 Revisión general

Al recibirse la muestra en el Laboratorio, esta es inspeccionada con el fin de verificar que las condiciones de cantidad, empaque y preservación se mantienen, conforme lo indicado en el procedimiento PROC-TC-008 "Procedimiento de aseguramiento de integridad de los ítems bajo servicio".


Antes de iniciar el análisis, se debe verificar que se cuenta con mínimo 10 gramos de muestra para realizar este análisis. En caso de que la muestra no presente alguna de estas condiciones, realizar la observación en el FOR-TC-078 "Formato para el registro de datos primarios de la determinación del índice de anisidina", e informar de inmediato al líder comercial a través del Líder de laboratorio.

4.2.2 Estabilización.

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

La balanza analítica y otros equipos electrónicos que realicen mediciones de alguna magnitud correspondiente a condiciones de influencia en la ejecución del ensayo deben encenderse por lo menos media hora antes de su uso. Así mismo, deben verificarse los equipos, de acuerdo con lo establecido en el numeral 4.3.

Verificar que el SpectroQuant 177 se encuentre encendido y en óptimas condiciones para su uso, además, verificar el diagnóstico del equipo.

	Procedimiento para la determinación del índice de Anisidina AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-112
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2024-04-29

4.3 Verificación de equipos.

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

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

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

4.4 Manejo de la muestra.

Para la identificación, manejo, transporte, almacenamiento y descarte de la muestra, se siguen las instrucciones dadas en el procedimiento PROC-TC-008 Procedimiento de aseguramiento de integridad de las muestras bajo servicio.

Al tomar de la porción de análisis, la muestra debe estar a temperatura ambiente y correctamente homogeneizada. Sí es líquida, mezclar hasta homogeneidad aparente mediante agitación magnética, y con la ayuda de un gotero o una pipeta tomar la cantidad necesaria de muestra, mientras se continúa con la agitación.

Sí la muestra es sólida, moler o triturar en su totalidad hasta homogeneidad aparente.


4.5 Medidas de seguridad.

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

Tener en cuenta las instrucciones dadas en el reglamento interno de trabajo PROC-GC-015 Reglamento Interno AOXLAB S.A.S, capítulo XIII.

La *p*-anisidina es toxica y se debe evitar el contacto con la piel.

4.6 Reactivos y soluciones

	Procedimiento para la determinación del índice de Anisidina AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-112
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2024-04-29

4.6.1 Reactivos

Use solo reactivos de grado analítico y agua tipo I como lo determina la norma ISO 3696.

- Sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4)
- Isooctano (2,2,4 Trimetilpentano) con absorbancia que no exceda el 0,01 contra el agua en un rango de longitud de onda de 300nm a 380nm.
- 4-metoxianilina (*p*-anisidina) con cristales anhidros color crema.
- Ácido acético glacial de contenido de agua no mayor al 0,1% (en fracción en masa).

ADVERTENCIA:

Almacene la *p*-anisidina en un frasco oscuro entre 0 °C a 4 °C en la oscuridad. La *p*-anisidina no debe presentar ninguna decoloración, en el caso de estar presente purifíquela de la siguiente manera:

Disuelva 4g de *p*-anisidina en 100 mL de agua de agua a 75 °C. Agregue 0,5 de sulfito de sodio (Na_2SO_3) Y 2 gramos de carbón vegetal. Agite durante 5 minutos y filtre a través de un papel de retención media para dar una solución transparente. Enfríe el filtrado a 0 °C y deje a esta temperatura por lo menos durante 4 horas. Filtre los cristales, preferiblemente al vacío y lave con un volumen pequeño de agua aproximadamente a 0 °C. Seque en un desecador al vacío con un desecante eficaz.

4.6.2 Soluciones

Reactivo de anisidina.

Al momento de su uso prepare la mínima cantidad del reactivo necesario para realizar el análisis, esto debido a su toxicidad y a su poca estabilidad, prepare, por ejemplo, 50 mL de reactivo de la siguiente manera:


Disuelva 0,1250 g de *p*-anisidina en el ácido acético glacial en un balón volumétrico de 50mL, diluya hasta la marca con el solvente. Es importante evitar la exposición de la luz.

NOTA: Verifique que la absorbancia del reactivo no sea mayor a 0,2 de lo contrario descarte, igualmente descarte el reactivo sobrante posterior al análisis.

4.7 Procedimiento para la determinación del índice de anisidina

4.7.1 Preparación de la solución de ensayo

- Pese 2g de la muestra directamente en un tubo falcón de 50,0 mL.
- Para muestras con un contenido significativo de humedad, se debe agregar sulfato de sodio de 1 a 2g por 10g de la muestra.
- Afore la muestra a 25 mL con isooctano y disuelva en vortex.
- Centrifugue la muestra para trabajar con el sobrenadante.

	Procedimiento para la determinación del índice de Anisidina AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-112
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2024-04-29

NOTA: El tamaño de la porción de ensayo depende de la calidad de la muestra y las características del espectrofotómetro utilizado y debería elegirse para evitar la lectura cerca de los extremos superiores o inferiores de la escala.

4.7.2 Solución de ensayo sin reaccionar

- Transfiera con una pipeta volumétrica de 5,0 mL de la solución de ensayo a un tubo falcón de 15,0 mL.
- Adicione con una pipeta volumétrica de 1,0 mL de ácido acético glacial.
- Mezcle bien y mantenga el tubo en la oscuridad por 8 minutos.
- Luego de 2 minutos transfiera las soluciones a una celda de cuarzo limpia y seca, habiendo purgado previamente.

4.7.3 Solución de ensayo con reacción

- Transfiera con una pipeta volumétrica de 5,0 mL de la solución de ensayo a un tubo falcón de 15,0 mL.
- Adicione con una pipeta volumétrica de 1,0 mL del reactivo de anisidina.
- Mezcle bien y mantenga el tubo en la oscuridad por 8 minutos, luego de 2 minutos transfiera las soluciones a una celda de cuarzo limpia y seca, habiendo purgado previamente.


4.7.4 Blanco

- Transfiera con una pipeta volumétrica de 5,0 mL de isooctano a un tubo falcón de 15,0 mL y adicione con una pipeta volumétrica de 1,0 mL del reactivo de anisidina. Mezcle bien y mantenga el tubo en la oscuridad por 8 minutos
- Luego de 2 minutos transfiera las soluciones a una celda de cuarzo limpia y seca, habiendo purgado previamente.

4.7.5 Medición espectrofotométrica

- Ajuste el cero de absorción del espectrofotómetro con isooctano a una longitud de onda de 350nm.
- Mida las siguientes absorbancias contra el isooctano de la siguiente manera:
 - A_1 de la solución de ensayo con reacción (véase numeral 4.8.2)
 - A_0 de la solución de ensayo sin reaccionar (véase numeral 4.8.3)
 - A_2 del blanco (véase numeral 4.8.4)

4.8 Rango de absorbancia

	Procedimiento para la determinación del índice de Anisidina AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-112
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2024-04-29

Si la absorbancia medida A1 de la solución con reacción no está dentro del rango de 0,2 a 0,8, repita la determinación con una cantidad ajustada de la muestra de ensayo.
Si la absorbancia medida A2 del blanco excede 0,2 purifique el reactivo anisidina como se describe en el numeral 4.6

4.9 Cálculos

El índice de anisidina (AV, por sus siglas en ingles *Anisidine Value*) es igual a:

$$AV = \frac{100QV}{m} [1,2(A_1 - A_2 - A_0)]$$

Donde,

V= volumen en el que se disuelve la muestra de ensayo expresado en mL

m= es la proporción de la masa en gramos

Q= es el contenido de la muestra medida con respecto al índice de anisidina expresado en gramos por mililitro

A₁= solución de ensayo con reacción

A₀= solución de ensayo sin reaccionar

A₂= blanco

1,2= Es el factor de corrección por la dilución de la solución de ensayo con 1 mL de ácido acético glacial.

NOTA: Registre los resultados con al menos dos cifras significativas.

4.10 Aseguramiento de la calidad

4.10.1 Repetibilidad

La diferencia entre dos resultados de ensayos independientes, obtenidos utilizando el mismo método con material de ensayo idéntico y efectuados en el mismo laboratorio por el mismo analista con el mismo equipo dentro de un intervalo de tiempo corto no debe ser mayor al 5% de los casos que exceda el valor de r dado en la tabla 2.

4.10.2 Reproducibilidad

La diferencia entre dos resultados de ensayos independientes, obtenidos utilizando el mismo método con material de ensayo idéntico y efectuados en dos laboratorios distintos, por diferentes operarios y equipos, no debe ser mayor al 5% de los casos que excede el valor de R dado en la tabla 2.


	Procedimiento para la determinación del índice de Anisidina AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-112
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2024-04-29

Tabla 2. Límite de repetibilidad (r) y el límite de reproducibilidad (R)

<i>Índice de anisidina</i>	<i>Rango de variación</i>	<i>r</i>	<i>R</i>
AV (promedio de dos determinaciones)	0 a 100	0,034AV+0,31	0,19AV + 1,41

4.11 Informe de resultados

Los resultados se registran de la siguiente manera:

Los datos serán registrados en el formato FOR-TC-078 "Formato para el registro de datos primarios de la determinación del índice de anisidina".

Los resultados serán guardados en la carpeta: (L:\LABORATORIO\REGISTROS\REGISTROS RT\Cuadros de Mando\Cuadros de Mando AÑO\FISICOQUÍMICA\ALIMENTOS\ÍNDICE DE ANISIDINA\Reportes SpectroQuant) y en cada archivo se debe guardar, así:

EQAA112MMDDL#

EQ: SpectroQuant

AA: Año de análisis

112: Numero de procedimiento

MM: Mes del análisis

DD: Día del análisis

L: Lote


#: Número de lote

Finalmente se deben registrar en el cuadro de mando SOFT-TC-063 "Cuadro de mando para la determinación de Índice de Anisidina", el cual se encuentra en la anterior carpeta mencionada, en esta se realizan los cálculos de los resultados.

5. RESPONSABILIDADES.

Director técnico.

- Asegurar la aplicación del presente documento y tomar decisiones en casos especiales no contemplados.
- Revisar y aprobar los informes técnicos una vez han sido revisados por el Líder de Laboratorio.
- Asesorar y orientar los analistas en la resolución de dudas e inconvenientes surgidos durante el desarrollo de los ensayos.

	Procedimiento para la determinación del índice de Anisidina AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-112
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2024-04-29

- Realizar o revisar las investigaciones pertinentes a los trabajos no conformes derivados de la ejecución del método y autorizar las indicaciones a seguir.
- Establecer los casos en los cuales se realiza la retención de muestras.
- Aprobar los informes técnicos una vez han sido revisados por el Líder de Laboratorio.

Director de Calidad.


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

Líder de Laboratorio.

- Asegurar la aplicación del presente documento por el personal subordinado o supervisado.
- Revisar los resultados ingresados por el analista, haciendo seguimiento de la trazabilidad del análisis (Cuadros de mando, formato de solicitud de servicio y salvaguardia de muestras, formatos de datos primarios) antes de enviar el informe final al director técnico.
- Realizar la revisión de resultados teniendo en cuenta la normativa vigente si esta aplica.
- Informar al director técnico las desviaciones que se den durante el desarrollo del método.
- Reportar y registrar los trabajos no conformes derivados del análisis al líder de calidad y al director técnico.
- Informar los casos en los que se deben de retener las muestras.
- Supervisar el cumplimiento de las actividades de aseguramiento de calidad

Analista.

- Seguir todas las instrucciones establecidas en este procedimiento y en el reglamento del laboratorio
- Ingresar y entregar todos los resultados en los tiempos pactados.
- Entregar formatos de datos primarios completamente diligenciados al líder del laboratorio.
- Realizar revisión de datos primarios y cálculos realizados en los cuadros de mandos, informar al líder del laboratorio en caso de observar alguna desviación en los resultados obtenidos teniendo en cuenta las cartas control.
- Registrar los resultados de los ensayos de control de calidad y hacer el análisis de tendencias de estos.

	Procedimiento para la determinación del índice de Anisidina AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-112
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2024-04-29

- Realizar la revisión de resultados teniendo en cuenta la normativa vigente si esta aplica.
- Informar al líder de laboratorio las desviaciones que se den durante el desarrollo del método.
- Reportar y registrar los trabajos no conformes derivados del análisis al líder del laboratorio.
- Informar cualquier incidente que suceda durante la realización del método.

6. FORMATOS RELACIONADOS.

FOR-TC-078 "Formato para el registro de datos primarios para la determinación del índice de anisidina"

SOFT-TC-063 "Cuadro de mando para la determinación de Índice de Anisidina" |

7. ANEXOS.

No aplica