


aoxlab	Procedimiento de ensayo Determinación de Perfil de Ácidos Grasos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-164
		Revisión: 5
		Inicio de vigencia: 2024-08-12

Procedimiento de ensayo de Determinación de Perfil de Ácidos Grasos

AOXLAB S.A.S.

	Procedimiento de ensayo Determinación de Perfil de Ácidos Grasos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-164
		Revisión: 5
		Inicio de vigencia: 2024-08-12

DOCUMENTO CONTROLADO


PROC-TC-164 Procedimiento de ensayo de determinación de Perfil de Ácidos Grasos.

Copia controlada No.: 1

	Nombre	Puesto o función	Firma	Fecha
Elaboró:	Laura S. Guerra Foronda	Director Técnico		2024-08-11
Revisó:	Angela P. Patiño Pérez	Director de Calidad		2024-08-12
Aprobó:	Laura S. Guerra Foronda	Director Técnico		2024-08-12
Localización del documento:		Plataforma SGC		


Control de Cambios

Estado	Fecha de Inicio de vigencia	Revisión	Descripción del cambio realizado	Realizó	Revisó	Aprobó
Obsoleto	2020-07-08	1	Alineación del procedimiento con el método de referencia AOAC 996.06	YAM	DPP	YELP
Obsoleto	2021-10-21	2	Se actualiza formato, se ajustan requerimientos faltantes de método de referencia AOAC 996.06	LMOB	DPP	YELP
Obsoleto	2022-08-02	3	Se actualiza logo y colores empresariales. Ajuste en el procedimiento	SVA	APPP	DPP
Obsoleto	2023-06-09	4	Se actualizan las referencias bibliográficas de los documentos normativos.	SVA	APPP	DPP
Vigente	2024-08-12	5	En el numeral 4.4 se establece duplicado por lote. En el numeral 4.3 se incluye el cálculo de los ácidos grasos usando la grasa total y el % de área.	LSGF	APPP	LSGF


	Procedimiento de ensayo Determinación de Perfil de Ácidos Grasos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-164
		Revisión: 5
		Inicio de vigencia: 2024-08-12

ÍNDICE

1. OBJETIVO Y ALCANCE.....	5
1.1 Objetivo.....	5
1.2 Alcance.....	5
2 DEFINICIONES Y NOTACIONES.....	6
2.1 Definiciones.....	6
2.2 Notaciones.....	6
3 REFERENCIAS.....	7
4 DESARROLLO.....	8
4.1 CONDICIONES GENERALES.....	8
4.1.1 Revisión general.....	8
4.1.2 Estabilización.....	8
4.1.3 Verificación de equipos.....	8
4.1.4 Manejo de la muestra.....	9
4.1.5 Medidas de seguridad.....	9
4.2 INSTRUCCIONES DE ENSAYO.....	9
4.2.1 Patrones y equipos de medición.....	9
4.2.1.1 Equipos de medición.....	9
4.2.1.2 Materiales y consumibles.....	10
4.2.1.3 Reactivos y soluciones.....	10
4.2.1.3.1 Preparación de soluciones.....	10
4.2.1.3.1.1 Trifluoruro de Boro 7%.....	10
4.2.1.3.1.2 Solución HCl 8.3 M.....	11
4.2.1.3.1.3 Solución Estándar Interno de Glicerol Triundecanoato 5 mg/mL en cloroformo.....	11
4.2.1.3.1.4 Solución Estándar de Ésteres Metílicos de Ácidos Grasos (FAMES Mix 37 componentes).....	11
4.2.2 Preparación de la muestra.....	11
4.2.2.1 Proceso de digestión de la muestra previa a extracción de la grasa.....	11
4.2.2.1.1 Procesamiento para alimentos en general (excluyendo productos lácteos y quesos).....	11
4.2.2.1.2 Procesamiento para productos lácteos (excluyendo quesos).....	12
4.2.2.1.3 Procesamiento para quesos (incluye suplementos multivitamínicos que contienen grasa encapsulada).....	12
4.2.2.2 Extracción de grasa.....	13

	Procedimiento de ensayo Determinación de Perfil de Ácidos Grasos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-164
		Revisión: 5
		Inicio de vigencia: 2024-08-12

4.2.2.3	Metilación.....	13
4.2.3	Condiciones cromatográficas.....	14
4.3	INFORME.....	14
4.3.1	Registro de datos primarios.....	14
4.3.2	Cálculo de resultados.....	14
4.3.2.1	Procesamiento usando el estándar interno y calcular la grasa total como sumatoria de todos los ácidos grasos.....	14
4.3.2.2	Procesamiento usando la grasa total y el % de área para calcular los ácidos grasos ...	17
4.4	CONTROL DE LA CALIDAD.....	17
5	RESPONSABILIDADES.....	18
6	FORMATOS RELACIONADOS.....	20
7	ANEXOS.....	20

	Procedimiento de ensayo Determinación de Perfil de Ácidos Grasos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-164
		Revisión: 5
		Inicio de vigencia: 2024-08-12

1. OBJETIVO Y ALCANCE.

1.1 Objetivo.


Describir los pasos para realizar el ensayo de determinación de perfil de ácidos grasos de acuerdo con las directrices establecidas en el método de referencia AOAC 996.06 [2] y los requisitos establecidos por la norma ISO/IEC 17025:2017 [1].

1.2 Alcance.

Prueba o ensayo	Norma o método de referencia	Técnica o Método
Determinación de Perfil de Ácidos Grasos (Grasa Total, Saturada e Insaturada en alimentos)	AOAC 996.06 [2]	Cromatografía de Gases (FID)

Este método es aplicable a las siguientes matrices:

- Leche y productos lácteos
- Carnes y productos cárnicos
- Productos frescos y frutas
- Frutas secas, nueces, semillas
- Pescado y productos derivados
- Cacao y derivados
- Cereales
- Confitería
- Aves de corral y productos de aves de corral crudos, listos para cocinar
- Alimentos fortificados
- Café y productos derivados
- Huevo
- Salsas y aderezos
- Grasas y aceites

	Procedimiento de ensayo Determinación de Perfil de Ácidos Grasos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-164
		Revisión: 5
		Inicio de vigencia: 2024-08-12

2 DEFINICIONES Y NOTACIONES.

2.1 Definiciones.

Documento [3].

Información y su medio de soporte.

Ensayo/prueba [3].

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

Procedimiento [3].

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

Calibración [4].

Operación que, bajo condiciones especificadas, en un primer paso, establece una relación entre los valores de las magnitudes con su incertidumbre de medición provista por patrones de medición y las indicaciones correspondientes con incertidumbres de medición asociadas y, en segundo paso, usa esta información para establecer una relación para obtener un resultado de medición de una indicación.

Ácidos grasos [2].

Los ácidos grasos son los principales constituyentes de los triglicéridos que son los lípidos alimentarios a los que comúnmente denominamos grasa. Existen 4 familias de ácidos grasos:

- Saturados
- Monoinsaturados (ácido oleico)
- Poliinsaturados (ácidos $\omega 6$ y $\omega 3$)
- Trans: que provienen de productos de fabricación industrial y se consideran perjudiciales para nuestro organismo.

Metilación [2]

La metilación es la adición de un grupo metilo ($-CH_3$) a una molécula. En el caso de los ácidos grasos, esta adición ocurre desde el tolueno y es catalizada por el BF_3 (Trifluoruro de Boro), y se realiza con el objetivo de aportar mayor estabilidad química a los ácidos grasos, convirtiéndolos en sus respectivos ésteres derivados.


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.

	Procedimiento de ensayo Determinación de Perfil de Ácidos Grasos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-164
		Revisión: 5
		Inicio de vigencia: 2024-08-12

3 REFERENCIAS.

- [1] International Organization for Standardization. (2023). General requirements for the competence of testing and calibration laboratories (ISO Standard No. 17025:2017).
- [2] Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL (2023) 22nd Ed., AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg, MD, USA, Official Method 996.06.
- [3] International Organization for Standardization. (2023). Quality management systems - Fundamentals and vocabulary (ISO Standard No. 9000:2015).
- [4] Centro Español de Metrología Vocabulario Internacional de Metrología Conceptos fundamentales y generales, y términos asociados. 3^a edición en español (2012).
- [5] International Organization for Standardization. (2023). Conformity assessment — Vocabulary and general principles (ISO Standard No. 17000:2020).

	Procedimiento de ensayo Determinación de Perfil de Ácidos Grasos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-164
		Revisión: 5
		Inicio de vigencia: 2024-08-12

4 DESARROLLO

Para realizar el ensayo se utilizan los siguientes equipos clave:

Equipos
Cromatógrafo de Gases con Detector FID (Flame Ionization Detector)
Balanza analítica con resolución de 0.1 mg
Baño María
Vortex Mixer

4.1 CONDICIONES GENERALES

4.1.1 Revisión general.

Al recibirse la muestra en el Laboratorio, ésta 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, informar de inmediato al líder comercial a través del Líder de laboratorio.


4.1.2 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, el cromatógrafo líquido de alta resolución debe encenderse, adecuarse y ajustarse a los parámetros de medida, acondicionando el sistema al menos 30 minutos antes de iniciar la corrida cromatográfica. a fin de lograr su operación óptima o estabilización térmica.

4.1.3 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

	Procedimiento de ensayo Determinación de Perfil de Ácidos Grasos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-164
		Revisión: 5
		Inicio de vigencia: 2024-08-12

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. Verificar que todos los reactivos preparados en el laboratorio al momento de realizar el ensayo o los que se encontraban almacenados se encuentren identificados conforme al formato FOR-TC-024 "Formato para rotular reactivos elaborados en el laboratorio". En caso de que se encuentre alguna anomalía al respecto, avisar a la Dirección Técnica a través del Líder de Laboratorio.

4.1.4 Manejo de la muestra.

Durante el almacenamiento y ensayo de la muestra, esta debe permanecer herméticamente cerrada, con el fin de no alterar la humedad original que contiene la muestra durante estas actividades. La identificación, manejo, transporte, almacenamiento y descarte de la muestra, deben realizarse de acuerdo con los lineamientos establecidos en el procedimiento PROC-TC-008 Procedimiento de aseguramiento de integridad de las muestras bajo servicio.

Sí la muestra 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.

4.1.5 Medidas de seguridad.

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


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

4.2 INSTRUCCIONES DE ENSAYO.

4.2.1 Patrones y equipos de medición

4.2.1.1 Equipos de medición

- Cromatógrafo de Gases con detector FID

	Procedimiento de ensayo Determinación de Perfil de Ácidos Grasos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-164
		Revisión: 5
		Inicio de vigencia: 2024-08-12

- Balanza analítica con resolución de 0.1 mg
- Transferpipetas de 1000 µL y 10 mL
- Baño María
- Plancha de calentamiento

4.2.1.2 Materiales y consumibles

- Columna Phenomenex, ZB-FAME 30 m – 0.25 I. D (mm), 0.20 Film Thickness (µm)
- Micro espátula metálica
- Tubos Falcon de 50 mL con tapa rosca
- Tubos de ensayo de vidrio tapa rosca
- Puntas para transferpipeta de 1000 µL y 10 mL.
- Beaker de 250 mL
- Embudos de separación de 250mL
- Perlas de ebullición
- Pesa sustancias de vidrio
- Viales ámbar de 2 mL con tapa


4.2.1.3 Reactivos y soluciones

- Estándar Interno de glicerol triundecanoato ≥99% CAS: 13552-80-2
- Nitrógeno gaseoso grado analítico
- Estándar de ácidos grasos (Mix FAMES), CRM47885
- Trifluoruro de Boro (BF₃)
- Metanol (CH₃OH)
- Cloroformo (CHCl₃)
- Dietil éter (C₄H₁₀O)
- Tolueno (C₇H₈)
- Sulfato de Sodio anhidro (Na₂SO₄)
- Hexano grado GC (C₆H₁₄)
- Ácido Pirogálico (C₆H₃(OH)₃)
- Hidróxido de Amonio 58% w/w (NH₄OH), equivalente a amoniaco en solución 28-30%.
- Bencina de petróleo
- Etanol 95% v/v (C₂H₅OH)
- Ácido clorhídrico 37% (HCl)

4.2.1.3.1 Preparación de soluciones

4.2.1.3.1.1 Trifluoruro de Boro 7%

Medir 87,5 mL de solución de Trifluoruro de Boro al 20% y llevar a un volumen de 250 mL con Metanol.

	Procedimiento de ensayo Determinación de Perfil de Ácidos Grasos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-164
		Revisión: 5
		Inicio de vigencia: 2024-08-12

NOTA: El reactivo BF_3 es sumamente peligroso. La preparación de esta solución debe realizarse en la cabina de extracción, usando guantes, máscara y gafas de seguridad.

4.2.1.3.1.2 Solución HCl 8.3 M

Adicionar 250 mL de HCl 12 M (37%) a 110 mL de agua tipo I. Mezclar bien y almacenar en frasco ámbar a temperatura ambiente (20-25°C).

4.2.1.3.1.3 Solución Estándar Interno de Glicerol Triundecanoato 5 mg/mL en cloroformo

Pesar adecuadamente 0,50 g de $\text{C}_{11:0}$ -Glicerol Triundecanoato en un balón volumétrico de 100 mL, Adicionar 60 mL de cloroformo y mezclar hasta disolver. Llevar al aforo del balón con cloroformo. Esta solución es estable por 1 mes si se almacena en oscuridad y refrigeración (2-8°C).

4.2.1.3.1.4 Solución Estándar de Ésteres Metílicos de Ácidos Grasos (FAMES Mix 37 componentes)

Mezcla de referencia que contiene series de FAMES, incluyendo $\text{C}_{18:1}$ cis y trans.

Para preparar una solución estándar de FAMES mixta, rompa la parte superior del vial de vidrio, abra y transfiera cuidadosamente el contenido al vial de vidrio de 5 mL. Lave el vial original con hexano para asegurar una transferencia completa y adicionar el lavado al vial de vidrio, diluir hasta aproximadamente 3 mL con hexano.


4.2.2 Preparación de la muestra

Cuando la muestra este finalmente homogenizada se procede a realizar una digestión de la muestra seguido de la extracción de la grasa tal como se describe a continuación:

4.2.2.1 Proceso de digestión de la muestra previa a extracción de la grasa

4.2.2.1.1 Procesamiento para alimentos en general (excluyendo productos lácteos y quesos)

- Pese adecuadamente una porción de muestra homogénea que contenga aproximadamente entre 100 y 200 mg de grasa en un tubo falcón de 50 mL.
- Adicionar 100 mg de ácido pirogálico, y 2.0 mL de estándar interno de Glicerol triundecanoato.
- Adicionar 2.0 mL de etanol y mezclar bien hasta que toda la porción de muestra se encuentre en solución.
- Adicionar 10 mL de HCl 8.3 M, mezclar bien.

	Procedimiento de ensayo Determinación de Perfil de Ácidos Grasos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-164
		Revisión: 5
		Inicio de vigencia: 2024-08-12


- Disponer los tubos en un baño entre 70 y 80°C agite con ayuda de un vortex las muestras cada 10 minutos para incorporar las partículas adheridas a las paredes. Mantener en el baño de agua por 40 min.
 - Después de la digestión, remover el tubo falcón y dejar enfriar a temperatura ambiente (20-25°C). adicionar 10 mL de etanol y mezcle bien.
- Continuar la extracción de grasa **(4.2.3.2)**.

4.2.2.1.2 Procesamiento para productos lácteos (excluyendo quesos)

- Pese adecuadamente una porción de muestra homogénea que contenga aproximadamente entre 100 y 200 mg de grasa en un tubo falcón de 50 mL.
- Adicionar 100 mg de ácido pirogálico, y 2.0 mL de estándar interno de Glicerol triundecanoato.
- Adicionar 2.0 mL de etanol y mezclar bien hasta que toda la porción de muestra se encuentre en solución.
- Adicionar 4.0 mL de H₂O y mezclar bien. Adicionar 2.0 mL de NH₄OH y mezcle.
- Disponer los tubos en un baño de agua que este en una temperatura entre 70 y 80°C con agitación moderada.
- Mantener en el baño de agua por 10 minutos, mezclar con ayuda de un vortex cada 5 minutos el contenido de los tubos para incorporar las partículas adheridas a las paredes del tubo.
- Después de la digestión remover los tubos del baño de agua y Adicionar dos gotas de fenolftaleína.
- Mantenga la solución básica (rosa) con la adición de hidróxido de amonio. Adicionar 10 mL de etanol y mezcle bien.
- Continuar la extracción de grasa **(4.2.3.2)**.

4.2.2.1.3 Procesamiento para quesos (incluye suplementos multivitamínicos que contienen grasa encapsulada)

- Pese adecuadamente una porción de muestra homogénea que contenga aproximadamente entre 100 y 200 mg de grasa en un tubo falcón de 50 mL.
- Adicionar 100 mg de ácido pirogálico, y 2.0 mL de estándar interno de Glicerol triundecanoato.
- Adicionar 2.0 mL de etanol y mezclar bien hasta que toda la porción de muestra se encuentre en solución.
- Adicionar 4.0 mL de H₂O y mezclar bien. Adicionar 2.0 mL de NH₄OH y mezcle.
- Disponer los tubos en un baño entre 70 y 80°C agitar las muestras frecuentemente.
- Mantener en baño por 20 min, mezclar cada 10 minutos el contenido de los tubos en un vortex para incorporar las partículas adheridas a las paredes del tubo.
- Adicionar 10.0 mL de HCl 12 M (HCl 37%), mantener en el baño maría por 20 min adicionales.
- Agitar el tubo cada 10 min.

	Procedimiento de ensayo Determinación de Perfil de Ácidos Grasos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-164
		Revisión: 5
		Inicio de vigencia: 2024-08-12


- Remover el tubo del baño y dejar enfriar a temperatura ambiente (20-25°C). Adicionar 10 mL de etanol y mezcle bien.
- Continuar la extracción de grasa **(4.2.3.2)**.

4.2.2.2 Extracción de grasa

- Adicionar 25 mL de éter etílico al tubo falcón que contiene cualquiera de las digestiones obtenidas de (4.2.3.1), y agitar por 2 min en vortex.
- Traspasar la solución resultante a un embudo de separación de 250 mL
- Purgue la tapa y el tubo de la muestra con 10 mL de éter etílico y agréguelos al embudo de separación.
- Adicionar 25 mL de éter de petróleo al embudo de separación que contiene la muestra y tape
- Agite la solución por al menos 1 min. Espere al menos 5 min o más para permitir separar las fases o espere hasta que las fases se vean limpias.
- Purgue el tapón en el matraz con una mezcla de éter dietílico y éter de petróleo.
- Decante la capa de éter (parte superior) en un vaso de precipitados de 250 mL y enjuague cuidadosamente el borde del embudo de separación en el vaso de precipitados.
- Evaporar el solvente en un baño de agua a 40°C, utilizando una corriente de nitrógeno para ayudar en la evaporación. El residuo remanente en el beaker es la grasa extraída.

4.2.2.3 Metilación

- Disolver el extracto de grasa obtenido en (4.2.3.2) en 2 a 3 mL de cloroformo y 2 a 3 mL de dietil éter.
- Transferir la mezcla a un vial o tubo de ensayo de vidrio de 10 mL que contiene perlas de ebullición. Evaporar en un baño de agua a 40°C usando nitrógeno hasta sequedad.
- Una vez evaporado todo el solvente adicionar 2.0 mL de BF₃ 7% y 1.0 mL de Tolueno, cerrar el vial herméticamente, asegúrese que la tapa del vial o del tubo de ensayo tenga un empaque o sello de teflón/silicona para evitar evaporación durante la reacción.
- Calentar el vial por 45 min a 100°C. Agitar suavemente cada 10 min. (Nota: La evaporación del líquido en el vial es un indicativo de que está mal sellado, descarte esta solución y repita el procedimiento).
- Una vez terminado el tiempo de calentamiento dejar enfriar a temperatura ambiente (20-25°C). Adicionar 5.0 mL de H₂O, 1.0 mL de hexano y aproximadamente 1.0 g de Na₂SO₄.
- Tapar el vial y agitar por 1 min. Dejar que las fases se separen por al menos 15 min
- Tomar la fase orgánica (capa de arriba) y pasar a un vial ámbar para inyección en cromatógrafo de gases.

	Procedimiento de ensayo Determinación de Perfil de Ácidos Grasos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-164
		Revisión: 5
		Inicio de vigencia: 2024-08-12

4.2.3 Condiciones cromatográficas

Modo de inyección: Split

Temperatura de Inyector: 225 °C

Temperatura de Detector: 285 °C

Gas de arrastre: Helio

Flujo de columna: 0,75 mL/min

Modo de control de flujo: Velocidad

Velocidad lineal: 18 cm/s

Ratio Split: 200:1

Columna: ZB-FAME 30 m x 0.25 (mm) x 0.20 (µm)

Temperatura inicial: 100 °C

Programación de horno:

Rata (°C/min)	Temperatura (°C)	Tiempo de Espera (min)
---	100	4
3	240	15

4.3 INFORME

4.3.1 Registro de datos primarios

Los datos serán registrados en el formato FOR-TC- 140 "Formato para el registro de datos primarios para el ensayo de perfil de ácidos grasos"

4.3.2 Cálculo de resultados


4.3.2.1 Procesamiento usando el estándar interno y calcular la grasa total como sumatoria de todos los ácidos grasos

Los resultados cromatográficos son registrados en el cuadro de mando de Excel para análisis de perfil de ácidos grasos, SOFT-TC-002 "Cuadro de mando para el ensayo de Perfil de Ácidos Grasos", en la ruta de acceso L:\LABORATORIO\REGISTROS\REGISTROS RT\Cuadros de Mando

Los resultados se analizan de la siguiente manera:

La grasa total es la suma de los ácidos grasos de todas las fuentes, expresados como triglicéridos.

Expresar los ácidos grasos medidos como triglicéridos requiere un equivalente matemático de condensación, cada ácido graso tiene un glicerol. Por cada 3 moléculas de ácido graso, se requiere 1 glicerol (OHCH₂CHOHCH₂OH). Esencialmente, se agregan 2 grupos metileno y 1 grupo metilo a cada 3 ácidos grasos. Calcule los tiempos de retención para cada FAME en soluciones estándar de FAMEs individuales, restando el tiempo de

	Procedimiento de ensayo Determinación de Perfil de Ácidos Grasos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-164
		Revisión: 5
		Inicio de vigencia: 2024-08-12

retención del pico $C_{11:0}$ del tiempo de retención del pico de ácido graso. use estos tiempos de retención para identificar los FAMES en una solución estándar mixta de FAME.

- Calcule el factor de respuesta (R_i) para cada ácido graso i de la siguiente manera:

$$R_i = \frac{PS_i}{PS_{C_{11:0}}} \times \frac{W_{C_{11:0}}}{W_i}$$

Donde:

PS_i : Área del pico de $C_{11:0}$ en la mezcla de FAMES en la solución estándar

$W_{C_{11:0}}$: Peso del estándar interno en la mezcla de FAMES

W_i : Peso de FAME individual en la mezcla de la solución estándar de FAMES

- Calcule la cantidad de individual (triglicéridos) (WTG) en la muestra de prueba de la siguiente manera:

$$W_{FAME\ i} = \frac{Pt_i \times Wt_{C_{11:0}} \times 1.0067}{Pt_{C_{11:0}} \times R_i}$$

$$W_{TGi} = W_{FAME\ i} \times f_{TGi}$$

Donde:

Pt_i : área del pico del ácido graso i en la porción de la muestra

$Wt_{C_{11:0}}$: peso del estándar interno adicionado en la porción de muestra en g

1.0067: factor de conversión del estándar interno de triglicérido a FAME

$Pt_{C_{11:0}}$: área del pico del estándar interno en la porción de muestra


f_{TGi} : Factor de conversión de FAME a triglicérido para los ácidos grasos individuales.

NOTA: Si este procedimiento se sigue correctamente, $Wt_{C_{11:0}}$ debería ser 0.010 g.

- Calcule la cantidad de grasa total en la muestra de prueba (suma de todos los ácidos grasos; expresada como triglicéridos [incluidas las formas cis y trans de ácidos monoinsaturados] de la siguiente manera:

$$Grasa\ Total, \% = \left(\sum W^{D_{TG}} / W_{tp} \right)$$

Donde:

	Procedimiento de ensayo Determinación de Perfil de Ácidos Grasos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-164
		Revisión: 5
		Inicio de vigencia: 2024-08-12

W_{tp} : peso de la muestra en gramos

- Calcule el peso del ácido graso de la siguiente manera

$$W_f = W_{FAME} \times f_{FAi}$$

Donde

f_{FAi} : Factor de conversión de FAME al ácido graso correspondiente.

- Calcule el porcentaje de grasa saturada de la siguiente manera

$$\text{Grasa Saturada, \%} \frac{w}{w} = \left(\sum \text{Satuados}_{wi} / W_{tp} \right) \times 100\%$$

- Calcule la grasa monoinsaturada en la muestra expresada solo como la suma de la forma cis de los ácidos grasos monoinsaturados:


$$\text{Grasa Monoinsaturada, \%} \frac{w}{w} = \left(\sum \text{Monoinsaturada}_{wi} / W_{tp} \right) \times 100\%$$

$$\text{Grasa Poliinsaturada, \%} \frac{w}{w} = \left(\sum \text{Poliinsaturada}_{wi} / W_{tp} \right) \times 100\%$$

NOTA: Las muestras de prueba que contienen grasa hidrogenada producirán cromatogramas complicados debido a la gran cantidad de isómeros formados durante el proceso de hidrogenación. Una indicación general de hidrogenación es la presencia de pico trans $C_{18:1}$. Para los cromatogramas de grasa hidrogenada, use las siguientes pautas para calcular las áreas de pico de los FAMES: los picos trans eluyen antes de cis, por lo tanto, incluyen todos los picos entre $C_{18:1}$ cis y $C_{18:2}$ cis, cis en el cálculo del área de pico $C_{18:2}$. A menudo, el "pico" trans $C_{18:1}$ consiste en una amplia serie de picos [debido a que los isómeros posicionales forman hidrogenación]; incluir todo esto en $C_{18:1}$ área de pico trans.

Los resultados obtenidos en el cuadro de mando y expresados con dos decimales son ingresados por el analista en el software analítica en el módulo Resultados del área análisis instrumental.

Además del resultado, debe consignarse los criterios de cumplimiento, CUMPLE / NO CUMPLE basados en la normativa vigente si esta aplica.

	Procedimiento de ensayo Determinación de Perfil de Ácidos Grasos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-164
		Revisión: 5
		Inicio de vigencia: 2024-08-12

4.3.2.2 Procesamiento usando la grasa total y el % de área para calcular los ácidos grasos

Los resultados cromatográficos son registrados en el cuadro de mando de Excel para análisis de perfil de ácidos grasos, SOFT-TC-158 "Cuadro de mando para el cálculo de perfil lípidico por % de áreas", en la ruta de acceso L:\LABORATORIO\REGISTROS\REGISTROS RT\Cuadros de Mando

Adicionalmente, se registra el valor de grasa total, tomado del cuadro de mando correspondiente según la metodología usada para su determinación:

- Metodología Soxhlet

SOFT-TC-023 Cuadro de mando para el ensayo de Grasa Soxhlet en alimentos

- Metodología Mojonnier

SOFT-TC-090 Cuadro de mando para el ensayo de Grasa Mojonnier en alimentos


- Metodología Gerber

SOFT-TC-150 Cuadro de mando para el ensayo de Grasa Gerber en alimentos

4.4 CONTROL DE LA CALIDAD

El tipo, periodicidad y criterios de aceptación para los resultados obtenidos de los ensayos para el control de calidad se resumen en la tabla siguiente:

CONTROL	PERIODICIDAD	CRITERIO
Verificación de la contaminación de los reactivos (Blanco de reactivos)	En cada lote de ensayo	No deben aparecer picos cuantificables en los tiempos de retención de los ácidos grasos
Duplicado por lote	Cada que se realiza el ensayo	El coeficiente de variación obtenido debe ser menor o igual al 10.6% para grasa total; 7.92% para grasa saturada y 11.4% para grasa monoinsaturada
Participación en Interlaboratorio (Rotación de matriz)	Semestral	Debe obtenerse una calificación satisfactoria en la participación

	Procedimiento de ensayo Determinación de Perfil de Ácidos Grasos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-164
		Revisión: 5
		Inicio de vigencia: 2024-08-12

CONTROL	PERIODICIDAD	CRITERIO
Material de referencia certificado MRC	Mensual	El resultado del ensayo debe estar en el intervalo de valores establecidos como aceptables en el certificado del material

**El material de referencia será utilizado si se encuentra disponible en el mercado. De igual manera se puede realizar el análisis con muestras retenidas, como por ejemplo pruebas interlaboratorio.

El seguimiento de los resultados obtenidos del control de calidad listado en la tabla control debe realizarse y analizarse mediante el uso de cartas control, de acuerdo con los lineamientos establecidos en el procedimiento PROC-TC-077.


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.
- 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.

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.
- Revisar los resultados obtenidos del aseguramiento de calidad del método.
- Archivar los registros técnicos relacionados con los ensayos.


	Procedimiento de ensayo Determinación de Perfil de Ácidos Grasos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-164
		Revisión: 5
		Inicio de vigencia: 2024-08-12

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.
- Realizar el análisis de los resultados de control de calidad de acuerdo con el procedimiento PROC-TC-077
- 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.
- Revisar que los equipos usados en el desarrollo del método tengan mantenimiento, calibración y/o verificación vigente, de acuerdo con el programa de mantenimiento y calibración.

	Procedimiento de ensayo Determinación de Perfil de Ácidos Grasos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-164
		Revisión: 5
		Inicio de vigencia: 2024-08-12

6 FORMATOS RELACIONADOS.

SOFT-TC-002 "Cuadro de mando para el ensayo de Perfil de Ácidos Grasos"

FOR-TC- 140 "Formato para el registro de datos primarios para el ensayo de perfil de ácidos grasos".

SOFT-TC-158 "Cuadro de mando para el cálculo de perfil lipídico por % de áreas"

SOFT-TC-023 Cuadro de mando para el ensayo de Grasa Soxhlet en alimentos

SOFT-TC-090 Cuadro de mando para el ensayo de Grasa Mojonnier en alimentos

SOFT-TC-150 Cuadro de mando para el ensayo de Grasa Gerber en alimentos

7 ANEXOS

No Aplica