


aoxlab	Procedimiento de ensayo para la determinación de Acrilamida AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-228
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2025-06-20

Procedimiento de ensayo para la determinación de Acrilamida




AOXLAB S.A.S.

	Procedimiento de ensayo para la determinación de Acrilamida AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-228
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2025-06-20

DOCUMENTO CONTROLADO


PROC-TC-228 Procedimiento de ensayo determinación de Acrilamida

Copia controlada No.: 1

	Nombre	Puesto o función	Firma	Fecha
Elaboró:	Santiago Valencia Álvarez	Analista de laboratorio		2025-06-20
Revisó:	Angela P. Patiño Pérez	Director de Calidad		2025-06-20
Aprobó:	Jonatan Zárate Álvarez	director técnico		2025-06-20
Localización del documento:		Plataforma SGC		


Control de Cambios

Estado	Fecha de inicio de vigencia	Revisión	Descripción del cambio realizado	Realizó	Revisó	Aprobó
Vigente	2025-06-20	1	Creación procedimiento	SVA	APPP	JOZA


	Procedimiento de ensayo para la determinación de Acrilamida AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-228
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2025-06-20

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.	6
4.	DESARROLLO	7
4.1	Actividades previas	7
4.1.1	Inspección de la muestra.	7
4.1.2	Estabilización.	7
4.1.3	Verificación de equipos.	7
4.1.4	Manejo de la muestra.	8
4.1.5	Medidas de seguridad.	8
4.2	Equipos de medición.	8
4.3	Reactivos y/o soluciones	9
4.4	Preparación de la solución patrón	10
4.5	Instrucciones De Ensayo	12
4.6.	Análisis GC-MS	14
4.6.1.	Condiciones cromatográficas.	14
4.6.2.	Línea de calibración.	15
4.6.3.	Análisis de muestras.	15
4.6.4.	Cálculo	16
4.6.5.	Almacenamiento de Datos	16
4.7.	Resultados	17
4.8.	Aseguramiento de la Calidad.	17
5.	RESPONSABILIDADES.	19
5.5.	Director técnico.	19
5.6.	Director de Calidad.	19
5.7.	Líder de Laboratorio.	19
5.8.	Analista.	19
6.	FORMATOS RELACIONADOS.	20

	Procedimiento de ensayo para la determinación de Acrilamida AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-228
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2025-06-20

7. ANEXOS..... 20

	Procedimiento de ensayo para la determinación de Acrilamida AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-228
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2025-06-20

1. OBJETIVO Y ALCANCE.

1.1 Objetivo.

Este documento especifica un método para la determinación de acrilamida en productos alimenticios, incluyendo café, mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS).

1.2 Alcance.

Aplica para el personal técnico del Laboratorio.

Prueba o ensayo	Norma o método de referencia	Técnica o Método	Rango de medición
Acrilamida	UNE-CEN/TS 17083:2017	Cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS)	30 µg/kg a 1500 µg/kg de acrilamida.

Es aplicable a una amplia gama de productos alimenticios.

2. DEFINICIONES Y NOTACIONES.

2.1 Definiciones.

Documento [2].

Información y su medio de soporte.

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.


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 para la determinación de Acrilamida AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-228
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2025-06-20

3. REFERENCIAS.

- [1] 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.
- [2] ISO 9000:2015 Quality management systems -- Fundamentals and vocabulary/ Sistemas de gestión de la calidad-- Fundamentos y vocabulario.
- [3] UNE-CEN/TS 17083:2017 Foodstuffs - Determination of acrylamide in food and coffee by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

	Procedimiento de ensayo para la determinación de Acrilamida AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-228
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2025-06-20

4. DESARROLLO

4.1 Actividades previas

4.1.1 Inspección de la muestra.

Al recibirse la muestra en el laboratorio, esta es inspeccionada con el fin de verificar que haya la cantidad adecuada de muestra para el ensayo, y debe estar bien preservada de acuerdo con lo descrito en el PROC-TC-008, Procedimiento de aseguramiento de integridad de las muestras bajo servicio.

4.1.2 Estabilización.

Los ítems de ensayo, reactivos y los 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.

Debe verificarse la fecha de expiración de los reactivos.

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 número 4.1.3.


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 la plataforma analítica, 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.

El cromatógrafo de gases acoplado a masas-masas, en caso de encontrarse apagado, se debe estabilizar el vacío que se genera en el espectrómetro de masas aproximadamente 12 horas para su correcto funcionamiento, esto se hace a través del *Software GCMS Real Time Analysis*. Asegurarse que no se tenga fugas en el sistema, verificar que el liner sea el

	Procedimiento de ensayo para la determinación de Acrilamida AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-228
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2025-06-20

adecuado para el análisis, en este caso el inserto splitless, el liner no puede estar despicado, parcialmente quebrado y mucho menos sucio, de ser así se debe de cambiar inmediatamente. Verificar el estado de la septa, esta no puede presentar deterioros aparentes, de igual manera la septa al igual que el liner se debe de cambiar aproximadamente cada 200 inyecciones, esto con el fin de prevenir fugas o contaminaciones. Se debe de realizar la verificación de la columna, verificar que la columna no se encuentra partida o quemada; se debe de verificar las conexiones de la columna y de igual manera verificar que la columna no se encuentre quemada o mal cortada en el extremo que se conecta al inyector y/o detector.

4.1.4 Manejo de la muestra.

La muestra debe ingresar en un recipiente hermético sin ningún orificio. Para el almacenamiento de la muestra se debe tener en cuenta que esta debe ser almacenada de forma tal que se prevenga la contaminación cruzada con otros productos que afecten otros análisis. 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. En cada uso de la muestra debe ser expuesta lo mínimo posible al ambiente y se debe manipular cerca del equipo.

Sí la muestra es líquida, mezclar hasta homogeneidad aparente mediante agitación magnética preferiblemente en el recipiente con el cual ingreso para evitar que la muestra absorba humedad, de no ser posible; en un tubo Falcón con tapa, transfiriendo la muestra rápidamente, tomar la porción para el análisis evitando al máximo la exposición al ambiente de la muestra.

Sí la muestra es sólida, moler o triturar en su totalidad dentro de una bolsa hermética hasta homogeneidad aparente, mezclar muy bien dentro de la bolsa y marcarla con rotulo de ingreso de muestra, tomar la porción para el análisis evitando al máximo la exposición al ambiente de la muestra.


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.

Es muy importante limpiar los equipos y las superficies de acuerdo con el PROC-TC-031 en donde se está tratando la muestra para evitar cualquier tipo de contaminación.

4.2 Equipos de medición

	Procedimiento de ensayo para la determinación de Acrilamida AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-228
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2025-06-20

Para realizar el ensayo se utilizan los siguientes equipos:

Equipos y materiales
Balanza analítica con resolución de 0,1 mg
Shaker
Beakers de diferentes tamaños
Centrífuga capaz de $\geq 3\ 000$ g, adecuada para tubos de centrífuga de 50 ml.
Cromatógrafo de gases acoplado a masas-masas
Automuestreador AOC-6000
Columna capilar 7HG-G003-11 - Zebron ZB-35 30m x 0,25mm x 0,25um. 35% Phenyl 65% Dimethylpolysiloxane
Balones volumétricos de 1 mL, 2 mL y 5 mL
Transfer pipeta de 10 mL, 1 mL, 200 μ L y 10 μ L
Filtros de jeringa
Pipetas de vidrio
Botella de vidrio o plástico (polipropileno), de 175 ml a 250 ml de capacidad.
Botella de vidrio de 1 l y 2 l de capacidad.
Viales de vidrio ámbar de 2, 4 y 40 mL
Vortex

4.3 Reactivos y/o soluciones

NOTA: Los reactivos deben ser grado cromatográfico


4.3.1. Acrilamida, pureza ≥ 99 %.

4.3.2. [1,2,3-¹³C₃]-acrilamida, (acrilamida-¹³C₃) pureza isotópica ¹³C 99 %, suministrada como solución de 1 000 μ g/ml)

Está permitido utilizar acrilamida deuterada (acrilamida-d₃) como patrón interno alternativo. En las secciones siguientes del procedimiento, la detección y el cálculo por EM se prescriben únicamente para la acrilamida-¹³C₃.


4.3.3. Bromo, pureza ≥ 99 %.

4.3.4. Acetato de etilo, grado MS.

	Procedimiento de ensayo para la determinación de Acrilamida AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-228
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2025-06-20

- 4.3.5.** Gas comprimido purificado con helio, (pureza equivalente al 99,995 % o superior).
- 4.3.6.** n-Hexano, grado MS.
- 4.3.7.** Ácido bromhídrico, 48 % en agua, ensayo $\geq 99,9$ %.
- 4.3.8.** Hielo, triturado.
- 4.3.9.** Sulfato de magnesio, polvo anhidro.
- 4.3.10.** Bromuro de potasio, pureza $\geq 98,5$ %.
- 4.3.11.** Hexacianoferrato de potasio trihidrato (II), $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$, pureza $\geq 98,5$ %.
- 4.3.12.** Cloruro de sodio.
- 4.3.13.** Tiosulfato sódico pentahidratado, $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$, pureza $\geq 99,5$ %.
- 4.3.14.** Solución de tiosulfato de sodio, concentración de la sustancia $c = 1$ mol/l.
Disolver 24,82 g de tiosulfato sódico pentahidratado en 100 ml de agua.
- 4.3.15.** Trietilamina, $N(C_2H_5)_3$, pureza ≥ 99 %.
- 4.3.16.** Acetato de zinc dihidratado, $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$, pureza $\geq 98,5$ %.
- 4.3.17.** Solución bromante. Utilizar guantes y realizar los pasos siguientes en una vitrina de gases. Preparar reactivo nuevo cada tres meses. Para preparar el agua de bromo (saturada), coloque una botella de vidrio de 1 L que contenga unos 400 mL de agua en un baño de hielo picado y agite con un agitador magnético durante unos 10 minutos. Utilizando una probeta, añadir 15 ± 1 ml de bromo, tapar el frasco y seguir agitando durante al menos 60 min. Tapar firmemente y almacenar a $4^\circ C$ a $6^\circ C$.
- Pesar $400 \text{ g} \pm 2 \text{ g}$ de bromuro de potasio en un frasco de vidrio con tapón de rosca de 2 L y añadir $1000 \text{ mL} \pm 5 \text{ mL}$ de agua. Agitar o remover para disolver y añadir $20 \text{ mL} \pm 1 \text{ mL}$ de ácido bromhídrico utilizando una probeta.
- Utilizando probetas graduadas, añadir $320 \text{ ml} \pm 5 \text{ ml}$ de agua bromada saturada seguida de $660 \text{ mL} \pm 5 \text{ mL}$ de agua al frasco de vidrio 2 L de capacidad y mezclar bien. Tapar y almacenar a $4^\circ C$ a $6^\circ C$. Desechar después de 3 meses. Para eliminar el exceso de agua de bromo saturada, añadir tiosulfato sódico sólido pentahidratado y agitar hasta que desaparezca el color marrón.
- 4.3.18.** Solución de Carrez I. Disolver 10,6 g de hexacianoferrato de potasio trihidratado (II) en 100 ml de agua. Desechar al cabo de 6 meses.
- 4.3.19.** Solución de Carrez II. Disolver 21,9 g de acetato de cinc dihidratado en 100 ml de agua. Desechar a los 6 meses.

4.4 Preparación de la solución patrón

	Procedimiento de ensayo para la determinación de Acrilamida AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-228
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2025-06-20

Preparar todas las soluciones patrón preferentemente por gravimetría. Las masas taran de todos los recipientes y las masas después de cada etapa de preparación se registran y se utilizan para el cálculo de las concentraciones patrón

4.4.1 Solución madre de patrón de acrilamida, concentración másica ρ aproximadamente 1000 $\mu\text{g/ml}$.

Pesar 0,1 g \pm 0,001 g de acrilamida en un matraz aforado de 100 ml. Añadir 30 ml de agua, agitar para disolver y diluir hasta la señal de enrase con agua y mezclar bien. La solución madre es estable durante 1 mes si se conserva en nevera (4 °C a 6 °C) y protegida de la luz.

Como alternativa, pueden utilizarse soluciones patrón certificadas disponibles en el comercio, si se dispone de ellas.

4.4.2 Solución patrón de trabajo de acrilamida, ρ aproximadamente 1 $\mu\text{g/ml}$.

Pipetear 100 μl de solución madre de patrón de acrilamida (4.4.1) a un matraz aforado de 100 ml, diluir a 100 ml con agua y mezclar bien. La solución es estable durante 2 semanas si se conserva en frigorífico (4 °C a 6 °C) y protegida de la luz.

4.4.3 Solución de adición de acrilamida, ρ aproximadamente 100 $\mu\text{g/ml}$.


Pipetear 10 ml de solución madre de acrilamida (4.4.1) a un matraz aforado de 100 ml, diluir a 100 ml con agua y mezclar bien. La solución es estable durante 2 semanas si se conserva en nevera (4 °C a 6 °C) y protegida de la luz.

4.4.4 ¹³C Solución de patrón interno de acrilamida-C3, ρ aproximadamente 20 $\mu\text{g/ml}$.

Pipetear 200 μl de solución madre de patrón de ¹³C-acrilamida (4.3.2) a un matraz aforado de 10 ml y diluir a 10 ml con agua. La solución es estable durante 2 semanas si se conserva en nevera (4 °C a 6 °C) y protegida de la luz.

4.4.5 Estándares de calibración

Preparar patrones de calibración de aproximadamente 0 $\mu\text{g/l}$, 1 $\mu\text{g/l}$, 3 $\mu\text{g/l}$, 5 $\mu\text{g/l}$, 10 $\mu\text{g/l}$, 20 $\mu\text{g/l}$ y 100 $\mu\text{g/l}$ según el esquema siguiente. Pipetear 15 ml de agua en cada uno de los siete viales de 40 ml con tapón de rosca y añadir a cada vial la solución patrón de trabajo de acrilamida (4.4.2) y ¹³ C₃-Acrilamida (4.4.4) la solución patrón interna según se detalla en la Tabla 1. Efectuar la etapa de bromación (4.5.3) en cada patrón de calibración.

	Procedimiento de ensayo para la determinación de Acrilamida AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-228
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2025-06-20

Debe tenerse en cuenta que un pequeño sesgo causado por los diferentes volúmenes de las soluciones patrón de calibración cuando se calcula como se indica en 4.6.2. y 4.6.4. se supone despreciable. Alternativamente, para evitar este sesgo, los patrones de calibración pueden prepararse como sigue.

El volumen de agua puede ajustarse para obtener la misma concentración de patrón interno en cada vial (es decir, utilizando un matraz aforado de 15 ml que dará una concentración nominal de patrón interno de 20 µg/l). El intervalo de concentración (es decir, de trabajo lineal) de los patrones de calibración es meramente orientativo. En caso necesario, pueden prepararse otras concentraciones estándar, pero deberán tenerse en cuenta los niveles de acrilamida previstos.

Tabla 1 - Patrones de calibración (valores nominales)


Agua (mL) Solución patrón de trabajo (4.4.2)	Solución patrón de trabajo (4.4.2) (µL)	Solución de patrón interno (4.4.4) (µL)	Concentración acrilamida (A) (µg/L)	Concentración patrón interno (B) (µg/L)	Relación A:B
15	0	15	0	19,98	0
15	15	15	1,00	19,96	0,05
15	45	15	2,99	19,92	0,15
15	75	15	4,97	19,88	0,25
15	150	15	9,89	19,78	0,50
15	300	15	19,59	19,59	1,00
15	1.500	15	90,83	18,17	5,00

4.5 Instrucciones De Ensayo

El procedimiento general incluye los siguientes pasos:

4.5.1. Tratamiento de la muestra

Si es necesario, se muele, tritura u homogeneiza la muestra por medios adecuados. Dejar que las muestras congeladas se descongelen completamente guardándolas en una nevera (4 °C a 6 °C) durante toda la noche y, a continuación, dejar que alcancen la temperatura ambiente antes de llevar a cabo los pasos siguientes. Calentar hasta

	Procedimiento de ensayo para la determinación de Acrilamida AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-228
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2025-06-20

ebullición una cantidad de agua suficiente para llevar a cabo el paso 4.5.2 con todas las muestras.

4.5.2. Preparación de la muestra de ensayo

Pesar 5 g de muestra homogénea de alimentos, o 1 g de café (café tostado, café soluble o sucedáneo de café) con una precisión de 0,01 g en un frasco 250mL y añadir 100 µL de solución de patrón interno (4.4.4) utilizando una pipeta calibrada. Añadir 100 mL ± 1 ml de agua caliente recién hervida (véase 4.5.1), asegurar el tapón, agitar para asegurar una dispersión adecuada de la muestra y colocar en un agitador durante 1 h. Retirar las muestras del agitador y asegurarse de que se enfrían a temperatura ambiente. Transferir 40 ml del extracto a un tubo de centrifuga de 50 mL. Añadir 1 000 µL de cada una de las soluciones Carrez I (4.3.18) y Carrez II (4.3.19) a los 40 ml de extracto, agitando después de cada adición. Centrifugar durante 5 minutos a 3 000 g. Transferir 25 ml del sobrenadante a un tubo de centrifuga limpio de 50 mL, añadir 15 mL de n-hexano y agitar enérgicamente durante 30 s. Centrifugar durante 5 min a 3 000 g. Pasar a la etapa de bromación.

4.5.3. Bromación

Para todos los extractos de productos alimenticios distintos del café, transferir 15 ml del extracto acuoso (4.5.2) a un tubo de centrifuga de 50 ml. Añadir 15 ml de solución de bromación (4.3.17), tapar firmemente y agitar.


Para los extractos de café, transferir 7,5 ml del extracto acuoso (4.5.2) a un tubo de centrifuga de 50 ml. Añadir 30 ml de solución bromante (4.3.17), tapar bien y agitar.

NOTA 1 La fase acuosa puede tomarse con una pipeta sin retirar la fase n-hexano. En caso necesario, la fase *n-hexano* puede extraerse con una pipeta Pasteur.

Dejar que la bromación tenga lugar en la nevera (4 °C a 6 °C) durante al menos 1 h. Utilizando una pipeta, añadir aproximadamente 200 µl de la solución de tiosulfato sódico 1 mol/l (4.3.14) hasta que desaparezca el color amarillo después de agitar. Para los extractos de café, añadir aproximadamente 400 µl de solución de tiosulfato sódico. Evitar añadir un exceso elevado de solución de tiosulfato sódico.

NOTA 2 Se añade suficiente tiosulfato sódico para eliminar el exceso de bromo. La adición de tiosulfato sódico en exceso puede provocar la formación de productos indeseables como el sulfuro de hidrógeno (H₂S).

4.5.4. Limpieza de la partición

	Procedimiento de ensayo para la determinación de Acrilamida AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-228
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2025-06-20

Añadir 10 ml de acetato de etilo, de 4 g a 5 g de sulfato de magnesio y de 1 g a 1,5 g de cloruro de sodio. Tapar bien y agitar en un agitador orbital durante 15 min. Centrifugar durante 5 minutos a 3 000 g. Con una pipeta, transferir aprox. 4 ml de la capa de acetato de etilo a un vial de 4 ml.

NOTA El volumen de la capa de acetato de etilo se reducirá debido a la disolución en la fase acuosa.

Evaporar el acetato de etilo a un volumen de aprox. 0,5 ml bajo una corriente suave de nitrógeno a aprox. 40 °C ± 1°C.

IMPORTANTE - No dejar que el extracto se seque.

Añadir 50 µl de trietilamina (4.15), tapar bien y agitar para disolver el residuo. Si se forma un precipitado, filtrar el extracto a través de un filtro de jeringa de PTFE de 0,45 µm. Transvasar el extracto a un vial de inyección para el análisis GC-MS.

4.6. Análisis GC-MS

4.6.1. Condiciones cromatográficas

4.6.1.1. Condiciones de inyección para inyector split/splitless

- Modo del inyector splitless.
- Temperatura de entrada 200 °C.
- Volumen de inyección 1 µl.

4.6.1.2. Condiciones del horno

- Temperatura inicial 60 °C.
- Tiempo inicial 2 min.
- Primera rampa 20 °C/min hasta 175 °C.
- Tiempo estático 0 min.
- Segunda rampa 80 °C/min hasta 300 °C.

4.6.1.3. Condiciones de la columna


- Flujo de gas portador 1,0 ml/min, flujo constante.
- Tipo de gas portador Helio.

4.6.1.4. Condiciones de la línea de transferencia

- Temperatura 280 °C.

4.6.1.5. Condiciones del espectrómetro de masas

- Temperatura de la fuente MS 280 °C.
- Temperatura del cuadrupolo MS 150 °C.

	Procedimiento de ensayo para la determinación de Acrilamida AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-228
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2025-06-20

- Energía de ionización de los electrones 70 eV.

4.6.2. Línea de calibración

Inyectar las muestras de calibración enumeradas en el cuadro 1 al principio de cada secuencia. La inyección de los patrones se realizará de menor a mayor concentración para reducir el riesgo de contaminación cruzada.

La recta de calibración se obtiene trazando la relación del área de pico de la bromopropenamida y el patrón interno bromopropenamida-13C3 frente a la concentración de acrilamida en las soluciones de calibración. La función de calibración se define por regresión lineal y puede describirse mediante la fórmula (1):

$$Am/z149/Am/z154 = a \times wc + b \quad (1)$$

Donde

$Am/z 149$ es el área del pico del ion cuantificador de la bromopropenamida ($m/z 149$);

$Am/z 154$ es el área del pico del ion cuantificador bromopropenamida-13C3 ($m/z 154$);

a es la pendiente de la recta de calibración;

wc es la fracción másica de acrilamida en la solución patrón para la calibración del instrumento, en $\mu\text{g}/\text{kg}$;


b es la intercepción de la recta de calibración.

La línea de calibración no deberá pasar por el origen.

4.6.3. Análisis de muestras

Cada secuencia comprende, además de las muestras de calibración y los extractos de muestra, una muestra en blanco de procedimiento.

Un blanco de procedimiento es una muestra en blanco compuesta por todos los reactivos previstos para la preparación de una porción de ensayo y procesada en todos los aspectos como una porción de ensayo. Con este tipo de blanco se comprueba la pureza de los reactivos, así como otras posibles fuentes de contaminación, como la cristalería y el instrumental analítico. Para esta Especificación Técnica, el blanco de procedimiento comprende todos los reactivos más 100 μl de solución de patrón interno de acrilamida-13C3 (véase 4.4.4.).

	Procedimiento de ensayo para la determinación de Acrilamida AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-228
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2025-06-20

Antes de iniciar la secuencia, evaluar la idoneidad del sistema a partir de al menos una muestra en blanco de disolvente. Inyectar los patrones de calibración en orden creciente de concentración. Pueden añadirse muestras adicionales de blanco de disolvente en la secuencia siempre que el analista lo considere necesario.

Los lotes analíticos grandes deben intercalarse con patrones de calibración de unos 10 µg/l como comprobación de control de calidad.

Se recomienda incluir también en cada lote analítico un blanco de procedimiento enriquecido. El nivel de adición debe ser proporcional a los niveles de acrilamida esperados en las muestras o aproximarse a una concentración de acrilamida en el extracto de la muestra que se sitúe en el intervalo medio de la calibración.

Alternativamente, si se dispone de un material de referencia certificado, deberá analizarse con cada lote.

4.6.4. Cálculo

Calcular la fracción másica, w_s , de acrilamida en la muestra mediante la fórmula (2):

$$w_s = \frac{\left(\frac{A_{m/z\ 149}}{A_{m/z\ 154}} - b \right)}{a} \times \frac{100}{W} \quad (2)$$

a es la pendiente de la recta de calibración (obtenida a partir de la calibración dada en 4.6.2.);

b es la intercepción de la recta de calibración (obtenida a partir de la calibración dada en 4.6.2.);

W es la masa de la muestra en g (véase 4.5.2.).

4.6.5. Almacenamiento de Datos


Una vez realizada la osmolaridad de las muestras almacenar los resultados de la siguiente forma:

La carpeta de almacenamiento se encuentra en la siguiente dirección:

L:\LABORATORIO\2025\REGISTROS RG-RT\Cuadros de mando
2025\INSTRUMENTAL\GCMS\ACRILAMIDA)

Copiar los archivos generados por el equipo en la carpeta correspondiente teniendo en cuenta año/mes/día en que se realizó el ensayo.

Marcar cada informe generado por el equipo de la siguiente forma:

	Procedimiento de ensayo para la determinación de Acrilamida AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-228
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2025-06-20

- ACAA191MMDDL#ID
- AC: Acrilamida
- AA: Año de análisis
- 191: Numero de análisis
- MM: Mes del análisis
- DD: Día del análisis
- L#: número de muestra en lote de análisis
- ID: Identificación de la muestra. (valor numérico que asigna el quipo)

4.7. Resultados

Los datos obtenidos durante el ensayo serán consignados en el formato FOR-TC-162 ("*Formato para el registro de datos primarios para el ensayo*") a través de la plataforma LIMs Analítica. Para ello, el operador deberá: (1) acceder al menú de ingreso y filtrar por análisis, (2) seleccionar las muestras correspondientes, (3) ingresar a la sección "*Datos adicionales*" para registrar los resultados, equipos utilizados e insumos/reactivos empleados, y (4) adjuntar los resultados generados por el equipo. Este proceso garantiza la trazabilidad y el cumplimiento de los requisitos establecidos.

Una vez ingresados estos resultados son revisados por el líder del laboratorio y aprobados por el director técnico.


Los informes y registros generados son tratados de acuerdo con el procedimiento PROC-GC-003 Procedimiento de control de documentos.

Se aplican los siguientes criterios de cumplimiento, CUMPLE / NO CUMPLE en caso de que el cliente suministre especificación de lo contrario el criterio es NO APLICA

4.8. Aseguramiento 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
Blanco de reactivos.	Cada que se realice un cambio de lote en los reactivos de extracción.	Menor o igual a la mitad del límite de cuantificación.
Estándar	Cada que se realice el análisis.	Este es un estándar con concentración dentro de los niveles de la curva, con el fin de verificar tiempos

	Procedimiento de ensayo para la determinación de Acrilamida AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-228
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2025-06-20

		de retención y realizar el cálculo punto a punto.
--	--	---

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.

	Procedimiento de ensayo para la determinación de Acrilamida AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-228
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2025-06-20

5. RESPONSABILIDADES.

5.5. 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.

5.6. 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.

5.7. 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.

5.8. 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.

	Procedimiento de ensayo para la determinación de Acrilamida AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-228
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2025-06-20

- 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 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.

6. FORMATOS RELACIONADOS.

FOR-TC-011 "Formato de informe de ensayo".

FOR-TC-007 Formato para el control de calibración, verificación, mantenimiento y limpieza de equipos.

FOR-TC-017 Formato para el control de uso de equipos.

FOR-TC-162 "Formato para el registro de datos primarios del ensayo"

7. ANEXOS.