


aoxlab	Procedimiento para la determinación de ácidos grasos volátiles en muestras de compost mediante cromatografía gaseosa (FID) AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-255
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2024-10-15

Procedimiento para la determinación de ácidos grasos volátiles en muestras de compost mediante cromatografía gaseosa (FID)

AOXLAB S.A.S.

	Procedimiento para la determinación de ácidos grasos volátiles en muestras de compost mediante cromatografía gaseosa (FID) AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-255
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2024-10-15

DOCUMENTO CONTROLADO


PROC-TC-255 Procedimiento para la determinación de ácidos grasos volátiles en muestras de compost mediante cromatografía gaseosa (FID).

Copia controlada No.: 1

	Nombre	Puesto o función	Firma	Fecha
Elaboró:	Duván Felipe Torrado García	Analista de investigación		2024-10-15
Revisó:	Angela P. Patiño Pérez	Director de Calidad		2024-10-15
Aprobó:	Jonatan Zárate Álvarez	Director Técnico		2024-10-15
Localización del documento:		Plataforma SGC		


Control de Cambios

Estado	Fecha de inicio de vigencia	Revisión	Descripción del cambio realizado	Realizó	Revisó	Aprobó
Vigente	2024-10-15	1	Ninguno (versión original).	DFTG	APPP	JOZA

	Procedimiento para la determinación de ácidos grasos volátiles en muestras de compost mediante cromatografía gaseosa (FID) AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-255
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2024-10-15

ÍNDICE

1.	OBJETIVO Y ALCANCE	4
1.1	Objetivo	4
1.2	Alcance.....	4
2	DEFINICIONES Y NOTACIONES	4
2.1	Definiciones	4
2.2	Notaciones	5
3	REFERENCIAS	6
4	DESARROLLO	7
4.1	CONDICIONES GENERALES	7
4.1.1	Revisión general	7
4.1.2	Estabilización	7
4.1.3	Verificación de equipos	8
4.1.4	Manejo de la muestra	8
4.1.5	Medidas de seguridad	8
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	9
4.2.1.3	Reactivos y soluciones.....	9
4.2.1.3.1	Preparación de soluciones.....	10
4.2.1.3.1.1	Solución estándar ácidos grasos volátiles.....	10
4.2.1.3.1.2	Solución estándar de trabajo de ácidos volátiles.....	10
4.2.2	Preparación de la muestra.....	10
4.2.3	Condiciones cromatográficas	10
4.3	INFORME.....	11
4.3.1	Registro de datos primarios.....	11
4.4	CONTROL DE LA CALIDAD	11
5	RESPONSABILIDADES	12
6	FORMATOS RELACIONADOS.....	13
7	ANEXOS.....	14

	Procedimiento para la determinación de ácidos grasos volátiles en muestras de compost mediante cromatografía gaseosa (FID) AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-255
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2024-10-15

1. OBJETIVO Y ALCANCE.

1.1 Objetivo

Este procedimiento establece un método para la identificación y cuantificación de compuestos orgánicos volátiles (COV) presentes en muestras de compost. Dichas muestras se generan como resultado de un ensayo de biodegradabilidad de productos plásticos, llevado a cabo durante un periodo controlado de mínimo 45 días. La cuantificación de los COV se realiza mediante cromatografía de gases con detección por ionización de llama (GC-FID), con base en las directrices técnicas y los criterios establecidos en el estándar ASTM D2908-91(2017).

1.2 Alcance.

Métodos de Prueba	Método de referencia	Técnica o Método
<ul style="list-style-type: none"> Este método de prueba se realiza para determinar la concentración de ácidos grasos volátiles presentes en muestras de compost sólidas o semisólidas con alto contenido de materia orgánica 	ASTM D2908-91(2017)	Cromatografía de gases (FID)


2. DEFINICIONES Y NOTACIONES.

2.1 Definiciones.

Calibración [1]. 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.

Desviación Estándar Relativa (DSR%) [1]. Estimador del grado de dispersión de medidas repetidas. Se calcula como:

$$DSR\% = \frac{D}{\bar{X}} * 100$$

	Procedimiento para la determinación de ácidos grasos volátiles en muestras de compost mediante cromatografía gaseosa (FID) AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-255
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2024-10-15

Donde: D. S. es la desviación estándar de las réplicas y \bar{X} es el promedio de estas

Error relativo porcentual (E. R. %) [1]. Estimador del sesgo de una medición. Se calcula como:

$$b\% = E.R\% \frac{\bar{X} - X_{ref}}{X_{ref}} * 100$$

Donde 100 es el valor teórico o aceptado como verdadero y \bar{y} es el promedio de estas.

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.

Ghosting o picos de memoria [3]: Interferencia, que se muestra como un pico, que aparece en el mismo tiempo de elución que el componente orgánico del análisis previo.

Patrón interno [3]: Material presente en las muestras o añadido a ellas en cantidad conocida para servir como medida de referencia.

Ruido [3]: Señal electrónica extraña que afecta a la estabilidad de la línea de base.


Relación de retención relativa [3]: Tiempo de retención del componente desconocido dividido por el tiempo de retención del patrón interno.

Tiempo de retención, [3]: Tiempo que transcurre desde la introducción de la muestra hasta que se alcanza el pico máximo.

Ácidos grasos volátiles: [5]: Compuestos orgánicos con una cadena carbonada de hasta seis átomos de carbono. Se conocen también como ácidos grasos de cadena corta y son los principales productos de la fermentación microbiana.

2.2 Notaciones.

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

	Procedimiento para la determinación de ácidos grasos volátiles en muestras de compost mediante cromatografía gaseosa (FID)	Identificación: PROC-TC-255
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2024-10-15
AOXLAB S.A.S		

“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] VIM: 2012, International vocabulary of metrology -- Basic and general concepts and associated terms.

[2] ISO 9000:2015 Quality management systems — Fundamentals and vocabulary.

[3] ASTM D2908:91 Standard Practice for Measuring Volatile Organic Matter in Water by Aqueous-Injection Gas Chromatography

[4] Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL (2023) 22nd Ed., AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg, MD, USA, Official Method 996.06.

[5] Ácidos grasos volátiles en suelo, agua y aire, Scielo Terra Latinoamericana versión On-line ISSN 2395-8030.

	Procedimiento para la determinación de ácidos grasos volátiles en muestras de compost mediante cromatografía gaseosa (FID). AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-255
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2024-04-12

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
Bomba de vacío
Vortex
Kitasatos
Jeringa con filtro 25 mm (0,45 µm)
Membranas 47-55 mm
Balones volumétricos 5 y 25 mL
Transfer pipeta de 1 mL, 200 µL y 10 µL
Viales de vidrio ámbar de 2 mL
Equipo de filtración

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.

	Procedimiento para la determinación de ácidos grasos volátiles en muestras de compost mediante cromatografía gaseosa (FID). AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-255
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2024-04-12

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 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.

	Procedimiento para la determinación de ácidos grasos volátiles en muestras de compost mediante cromatografía gaseosa (FID). AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-255
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2024-04-12

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
- Balanza analítica con resolución de 0.1 mg
- Transfer pipetas de 1000 µL y 10 mL
- Vortex
- 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 $\geq 99\%$ 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)
- Ácido Acético
- Ácido Propanóico

	Procedimiento para la determinación de ácidos grasos volátiles en muestras de compost mediante cromatografía gaseosa (FID). AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-255
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2024-04-12

- Ácido hexanóico
- Ácido Butanóico
- Ácido Valérico

4.2.1.3.1 Preparación de soluciones

4.2.1.3.1.1 Solución estándar ácidos volátiles

Pesar aproximadamente 300 mg de cada ácido volátil en un balón volumétrico de 25 mL y completar hasta el aforo con metanol. La concentración final aproximada será de 12,000 mg/L.

4.2.1.3.1.2 Solución de trabajo de ácidos volátiles

Tomar 400 µL de cada uno de los estándares de ácidos volátiles y transferirlos a un balón volumétrico de 5 mL. Completar hasta el aforo con metanol. La concentración final aproximada será de 1,000 mg/L.

4.2.2 Preparación de la muestra


- Pesar 10 g de compost y transferirlo a un tubo Falcon.
- Agregar 20 mL de metanol.
- Homogenizar la muestra durante 1 minutos en vortex.
- Conectar kitasato al equipo de filtración, añadir filtro de 47-55 mm y agregar la muestra al embudo
- En caso de que el filtrado aun posea partículas, utilizar jeringas con filtros de 25 mm (0,45 µm) y agregar en un falcón nuevo
- La cantidad mínima recolectada debe ser 15 mL de filtrado
- Transferir el líquido a un vial y proceder a la inyección en el cromatógrafo.
- Si el líquido filtrado está sucio, acidificar el medio ajustando el pH a 2 con una solución de ácido nítrico o ácido sulfúrico aproximadamente 1M.
- Dependiendo de la cantidad de sobrenadante, añadir una cantidad igual de dietil éter, mezclar vigorosamente durante aproximadamente 30 segundos, Separar el dietil éter con ayuda de una pipeta Pasteur, transfiriéndolo a un vial o tubo de ensayo.
- Añadir sulfato de magnesio al dietil éter para eliminar las trazas de agua
- Filtrar la solución para retirar el sulfato de magnesio y transferir el dietil éter filtrado a un vial para su inyección en el cromatógrafo.

4.2.3 Condiciones cromatográficas

Modo de inyección: Split

Temperatura de Inyector: 225 °C

Temperatura de Detector: 285 °C

	Procedimiento para la determinación de ácidos grasos volátiles en muestras de compost mediante cromatografía gaseosa (FID). AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-255
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2024-04-12

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- 221 "Formato para el registro de datos primarios para la determinación de ácidos grasos volátiles en muestras de compost mediante cromatografía gaseosa"

4.3.2 Cálculo de resultados

$$\text{Concentracion obtenida} \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times \frac{\text{Volumen de extraccion (L)}}{\text{Peso Kg}}$$

La concentración del ácido debe expresarse en mg/kg. La suma de todos los compuestos de los ácidos grasos corresponde a los ácidos grasos volátiles, que se presentan los cuales son reportados en el cuadro de mando y analítica.

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

aoxlab	Procedimiento para la determinación de ácidos grasos volátiles en muestras de compost mediante cromatografía gaseosa (FID). AOXLAB S.A.S		Identificación: PROC-TC-255
			Revisión: 1
			Inicio de vigencia: 2024-04-12
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	
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 para la determinación de ácidos grasos volátiles en muestras de compost mediante cromatografía gaseosa (FID). AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-255
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2024-04-12

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.

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".

	Procedimiento para la determinación de ácidos grasos volátiles en muestras de compost mediante cromatografía gaseosa (FID). AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-255
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2024-04-12

PROC-TC-164 "Procedimiento de Determinación de Perfil de Ácidos Grasos V5"

FOR-TC-221- " Formato para el registro de datos primarios para la determinación de ácidos grasos volátiles en muestras de compost mediante cromatografía gaseosa (FID).

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