

	Plan de Validación o Verificación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S	Identificación: FOR-TC-013
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2017/08/01

PLN-TC-184-01

Plan de validación del ensayo de determinación de Cannabinoides

AOXLAB S.A.S.

	Plan de Validación o Verificación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S	Identificación: FOR-TC-013
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2017/08/01

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.....	4
3. REFERENCIAS.....	4
4. ESPECIFICACIÓN DE LOS REQUISITOS DEL MÉTODO A CONFIRMAR.....	4
5. DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS O CARACTERÍSTICAS DE CONFIRMACIÓN.....	5
5.1 CARACTERISITICAS DE DESEMPEÑO A EVALUAR.....	5
5.2 DISEÑO EXPERIMENTAL.....	6
5.2.1 Condiciones generales.....	6
5.2.2 Materiales, equipos y reactivos.....	8
5.2.3 Preparación de muestras y materiales de referencia.....	9
6. VERIFICACIÓN DE CUMPLIMIENTO DE PARÁMETROS O CARACTERÍSTICAS DE VALIDACION.....	10
7. CONCLUSIONES DE LA CONFIRMACIÓN.....	10
8. INFORME.....	10
9. RESPONSABILIDADES.....	11
9.1 Director Técnico.....	11
9.2 Líder de Laboratorio.....	11
9.3 Analistas.....	11
10. FORMATOS RELACIONADOS.....	11
11. ANEXOS.....	12

	Plan de Validación o Verificación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S	Identificación: FOR-TC-013
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2017/08/01

1. OBJETIVO Y ALCANCE.

1.1 Objetivo.

Establecer la lista de características de desempeño a evaluar, los respectivos criterios de aceptación y describir el diseño experimental para realizar la validación del método analítico PROC – TC – 184 Procedimiento para la determinación de Cannabinoides, mediante la técnica de cromatografía líquida (HPLC) con detector de arreglo de diodos (DAD). Este método de ensayo es un desarrollo de Shimadzu Scientific Instruments.

El desempeño del método analítico será evaluado sobre las siguientes matrices:

- Material vegetal
- Extractos de Cannabis
- Cristales de CBD
- Producto terminado

La validación del procedimiento analítico se realizará atendiendo los requisitos establecidos por la norma ISO/IEC 17025:2017 y el procedimiento PROC-TC-012.

1.2 Alcance.

Aplica para la validación del procedimiento analítico PROC – TC – 184 Procedimiento para la determinación de Cannabinoides, ejecutado sobre las matrices relacionadas en el numeral 1.1

2. DEFINICIONES Y NOTACIONES.

2.1 Definiciones.

Para el presente documento aplicarán las definiciones establecidas en el numeral 2.1 del procedimiento PROC – TC- 012 [1]

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 al elemento o material bajo ensayo.

3. REFERENCIAS.

[1] PROC – TC – 012. Procedimiento para la validación o confirmación de métodos analíticos.

[2] PROC – TC – 184 Procedimiento para la determinación de Cannabinoides

4. ESPECIFICACIÓN DE LOS REQUISITOS DEL MÉTODO A CONFIRMAR.

El método bajo validación debe cumplir los siguientes requisitos, a fin de que sea considerado como apto o válido para el uso previsto.

	Plan de Validación o Verificación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S	Identificación: FOR-TC-013
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2017/08/01

El método debe permitir la identificación y cuantificación de los siguientes compuestos:

- Δ 9-Tetrahidrocannabinol (Δ 9-THC)
- Δ 8-Tetrahidrocannabinol (Δ 8-THC)
- Ácido Δ 9-Tetrahydrocannabinólico (THCA)
- Tetrahidrocannabivarin (THCV)
- Cannabidiol (CBD)
- Ácido cannabidiólico (CBDA)
- Cannabinol (CBN)
- Cannabidivarin (CBDV)
- Cannabigerol (CBG)
- Ácido cannabigerólico (CBGA)
- Cannabicromeno (CBC)

Así mismo, el método debe ser aplicable a muestras de material vegetal, extractos de dicho material y cristales de CBD. Debe mostrar un adecuado desempeño en todo el rango de operación (1 mg/g – 200 mg/g)

5. DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS O CARACTERÍSTICAS DE CONFIRMACIÓN.

5.1 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO A EVALUAR

Como resultado del ejercicio de validación del procedimiento se debe evidenciar que el procedimiento de ensayo cumple con los siguientes parámetros de desempeño para todos y cada uno de los mensurandos especificados en el numeral 4:

PARAMETRO	CRITERIO	UNIDADES
Selectividad	Establecer las ventanas de tiempos de retención para cada mensurando	
Selectividad	Factor de selectividad mayor a 1 para todos los mensurandos Resolución mayor a 1.5	
Intervalo de trabajo	1 – 200	mg/g
Límite de cuantificación	1.0	mg/g
Exactitud	E. R.% máximo 5%	%
Veracidad	Veraz para el rango de trabajo evaluado y	

	Plan de Validación o Verificación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S	Identificación: FOR-TC-013
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2017/08/01

PARAMETRO	CRITERIO	UNIDADES
	para cada mensurando	
Recuperación	95% - 105%	%
Precisión - repetibilidad	C. V. % máximo 5%	%
Precisión - reproducibilidad	C. V. % máximo 5%	%
Robustez ante el cambio de analista y cambios en las condiciones de extracción	Robusto	

La exactitud se evaluará sobre soluciones estándar preparadas en el laboratorio.
 La repetibilidad se evaluará sobre duplicados de muestras representativas de cada matriz, las cuales variarán en cada lote de análisis.
 La selectividad se evaluará mediante los resultados de resolución y factor de selectividad arrojados por el software sobre los cromatogramas obtenidos de las muestras reales

5.2 DISEÑO EXPERIMENTAL

5.2.1 Condiciones generales

Los parámetros son determinados de acuerdo con las siguientes instrucciones:
 Se analizarán ocho lotes de ítems de ensayo cada uno en un día diferente. Estos serán procesados y analizados por el analista Sergio Andrés Bedoya Urrego (SABU) y María Carmen Domínguez (MCDG), de acuerdo con las instrucciones dadas en los numerales siguientes.
 Las adiciones se realizarán sobre los extractos de las matrices y no sobre las matrices directamente.
 Los lotes de análisis tendrán la misma composición, la cual se muestra a continuación:

Tipo de muestra	Muestra
Blanco	Inyección del contenido de un vial con metanol
Estándar límite de reporte	Estándar de 0.5 mg/L, preparado a partir de una solución estándar vigente
Estándar límite de reporte	Estándar de 1 mg/L, preparado a partir de una solución estándar vigente
Duplicado Estándar límite de reporte	Estándar de 1 mg/L, preparado a partir de una solución estándar vigente ensayado de manera independiente al anterior
Estándar de verificación de la calibración	Estándar de 10 mg/L, preparado a partir de un estándar certificado vigente
Estándar límite superior del rango de trabajo	Estándar de 100 mg/L, preparado a partir de una solución estándar vigente
Muestra de material vegetal	Muestra de material vegetal

	Plan de Validación o Verificación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S	Identificación: FOR-TC-013
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2017/08/01

Tipo de muestra	Muestra
Muestra de extracto vegetal	Muestra de extracto vegetal
Muestra de cristales	Muestra de cristales
Extracto de material vegetal	Extracto de material vegetal en metanol
Extracto de material vegetal adicionada	Extracto de material vegetal en metanol adicionado a 25 mg/L de cada uno de los mensurandos
Extracto de extracto vegetal	Muestra de extracto de material vegetal en metanol
Extracto de extracto vegetal adicionada	Muestra de extracto de material vegetal en metanol adicionado a 25 mg/L de cada uno de los mensurandos
Extracto de cristales	Disolución de cristales en metanol
Extracto de cristales adicionada	Disolución de cristales en metanol adicionado a 25 mg/L de cada uno de los mensurandos

La evaluación de robustez se llevará a cabo siguiendo el diseño experimental de Youden – Steiner, que se ilustra a continuación:

Condición	Normal (Minúscula)	Alterada (Mayúscula)	1	2	3	4	5	6	7	8
Volumen de extracción	20 ml	50 ml	A	A	A	A	a	a	a	a
Centrifugación	3000 rpm	2000 rpm	B	B	B	b	B	b	b	b
Potencia del sonicador	30%	25%	C	c	C	c	C	c	C	c
Tiempo de sonicación	10 min	7 min	D	D	d	d	d	d	D	D
Fase móvil A	0.085%	0.1%	E	e	E	e	e	E	e	E
Fase móvil B	0.085%	0.1%	F	f	f	F	F	f	f	F
Analista	MCDG	SABU	G	g	g	G	g	G	G	g

Este ejercicio se realizará sobre una muestra de material vegetal previamente seco y homogéneo del cual se sacarán las ocho porciones de análisis, cada una de las cuales se analizará de acuerdo con las condiciones establecidas en la tabla anterior. La trazabilidad de las muestras utilizadas se encuentra en el software para manejo de muestras de AOXLAB S. A. S.

	Plan de Validación o Verificación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S	Identificación: FOR-TC-013
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2017/08/01

5.2.2 Materiales, equipos y reactivos

Los equipos que se utilizarán para la realización del ejercicio de validación son:

EQUIPO	ID
Cromatógrafo líquido de alta resolución	0207
Balanza analítica	006 /235
Vortex Mixer	239
Micropipeta	0012
Ultra sonido	0128
Centrífuga	0007

Los equipos deben contar con el respectivo mantenimiento preventivo programado, calificación y/o calibración vigente.

El material con el cual se realizará el ejercicio de validación es el siguiente:

MATERIAL	ID	CANTIDAD	CALIBRACIÓN
BEAKER 50 ml	N.A	2	
BEAKER 500 ml	N.A	2	
BALON VOLUMETRICO 1000 mL	N.A	2	
BALON VOLUMETRICO 500 mL	N.A	2	
BALON VOLUMETRICO 50 mL	N.A	2	
BALON VOLUMETRICO 25 mL	N.A	2	
Probeta de 500 ml de vidrio	N.A	1	
Probeta de 50 ml de vidrio	N. A.	1	
Tubos Eppendorf de 1.5 ml	N. A.	100	
Tubos Falcon de 50 ml	N. A.	100	
Biales de vidrio ámbar con tapa rosca	N. A.	100	
Micropipeta de volumen variable 200 ul	012	1	Vigente
Puntas para Micropipeta de 200 ul	N. A.	100	
Micropipeta de volumen variable 1000 ul	017	1	Vigente
Puntas para Micropipeta de 1000 ul	N. A.	100	

Los reactivos empleados para la preparación de soluciones y estándares se relacionan en la tabla siguiente:

Metanol HPLC >99.9%
Acetonitrilo HPLC >99.9%
Isopropanol HPLC >99.9%
Ácido fosfórico 85%
Mix estándar 11 cannabinoides 250 mg/L

Estos deben contar con certificado de análisis vigente

	Plan de Validación o Verificación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S	Identificación: FOR-TC-013
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2017/08/01

Muestras a ensayar

CÓDIGO DE MUESTRA	MATRIZ
5075-19	Cristales
4364-19	Extracto
5344-19	Material vegetal
5353-19	Producto terminado

5.2.3 Preparación de muestras y materiales de referencia

5.2.3.1 Solución estándar de 0.5 mg/l de cada uno de los mensurandos

En un bial de color ámbar de 1 ml colocar 900 ul de metanol y adicionar 100 ul del estándar de 5.0 mg/l en cada uno de los mensurandos

Homogenizar por agitación en agitador vortex.

5.2.3.2 Solución estándar de 1.0 mg/l de cada uno de los mensurandos

En un bial de color ámbar de 1 ml colocar 900 ul de metanol y adicionar 100 ul del estándar de 10 mg/l en cada uno de los mensurandos

Homogenizar por agitación en agitador vortex.

5.2.3.3 Solución estándar de 10 mg/l de cada uno de los mensurandos

En un bial de color ámbar de 1 ml colocar 900 ul de metanol y adicionar 100 ul del estándar de 100 mg/l en cada uno de los mensurandos

Homogenizar por agitación en agitador vortex.

5.2.3.4 Solución estándar de 100 mg/l de cada uno de los mensurandos

En un bial de color ámbar de 1 ml colocar 600 ul de metanol y adicionar 400 ul del estándar de 250 mg/l en cada uno de los mensurandos

Homogenizar por agitación en agitador vortex.

5.2.3.5 Preparación de los extractos adicionados con 25 mg/L en cada uno de los mensurandos

En un bial de color ámbar de 1 ml colocar 900 ul del extracto de material vegetal, diluido previamente en proporción 1:20 y adicionar 100 ul de la solución estándar certificada de 250 ug/ml.

Homogenizar por agitación en agitador vortex.

Repetir los pasos anteriores con los extractos cristales y extracto

Nota: la preparación de las soluciones detalladas en los numerales 5.2.3.1a 5.2.3.5 se preparan una sola vez y deben almacenarse en refrigeración para analizarse en cada lote de análisis.

	Plan de Validación o Verificación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S	Identificación: FOR-TC-013
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2017/08/01

5.2.3.6 Preparación de los extractos a partir de las muestras originales:
Los extractos de las muestras de material vegetal, cristales y extracto deben prepararse para cada lote de análisis de manera independiente (8 preparaciones), siguiendo las instrucciones establecidas en el procedimiento PROC-TC-164 y analizarse de manera independiente en cada lote.

5.2.3.7 Preparación de los extractos para el ejercicio de robustez
Para la evaluación de la robustez, deberán prepararse y ensayarse 8 extracciones independientes, siguiendo las directrices establecidas en el numeral 5.2.1 y procurando mantener condición de repetibilidad, de acuerdo con la capacidad del laboratorio y las condiciones de los ensayos.

El procedimiento para llevar a cabo los cálculos se documenta en PROC – TC – 012 Procedimiento de verificación o validación de métodos analíticos.
Los resultados obtenidos son registrados en el formato FOR-TC-047 Formato de informe de confirmación de método analítico.

6. VERIFICACIÓN DE CUMPLIMIENTO DE PARÁMETROS O CARACTERÍSTICAS DE VALIDACION.

La verificación de cumplimiento de los parámetros o características del método a validar es realizada a través de una tabla comparativa entre los valores de los requisitos a cumplir (numeral 5.1) y los valores obtenidos por la aplicación del método en cada matriz.

Utilizar el formato FOR-TC-047 Formato de informe de confirmación de método analítico.

7. CONCLUSIONES DE LA CONFIRMACIÓN.

Al término de la confirmación, se emitirá una declaratoria acerca de la aptitud del laboratorio para operar el método normalizado, en función de los resultados obtenidos.

Esta declaratoria es registrada en el formato FOR-TC-047 Formato de informe de confirmación de método analítico.

8. INFORME.

La validación del método es reportada en un Informe de Confirmación, que incluye al menos: a) los resultados obtenidos, b) el procedimiento utilizado para la confirmación y c) una declaración sobre la aptitud del laboratorio para operar el método normalizado.

Usar el formato FOR-TC-047 Formato de informe de confirmación de método analítico.

	Plan de Validación o Verificación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S	Identificación: FOR-TC-013
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2017/08/01

9. RESPONSABILIDADES.

9.1 Director Técnico.

Revisar y aprobar el presente plan de validación

Asegurar los recursos para la ejecución del plan de validación.

Brindar orientación técnica durante la ejecución del plan de validación.

9.2 Líder de Laboratorio.

Asegurar la aplicación del presente documento por el personal subordinado o supervisado.

9.3 Analistas.

Preparar los reactivos y materiales requeridos para ejecutar el plan de validación, de acuerdo con las instrucciones establecidas en este documento

Realizar los ensayos de acuerdo con el procedimiento de ensayo y el diseño experimental establecido.

10. FORMATOS RELACIONADOS.

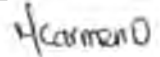
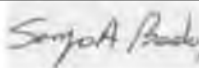
FOR-TC-047 Formato de informe de confirmación de método analítico.

	Plan de Validación o Verificación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S	Identificación: FOR-TC-013
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2017/08/01

11. ANEXOS.


ANEXO 1: FICHA RESUMEN DEL PLAN DE VALIDACION

IDENTIFICACIÓN DEL MÉTODO DE ENSAYO VALIDADO

Nombre completo del método: Determinación de Cannabinoides Método de referencia: Shimadtzu – Cannabis analyzer. Procedimiento interno: PROC – TC - 164							
Tipo de método:	Cualitativo		Cuantitativo	X			
Origen del método	Normalizado		No Normalizado	X	Otro		
	Normalizado modificado		Interno				
Mensurandos: <ul style="list-style-type: none"> • Δ9-Tetrahydrocannabinol (Δ9-THC) • Δ8-Tetrahydrocannabinol (Δ8-THC) • Ácido Δ9-Tetrahydrocannabinólico (THCA) • Tetrahydrocannabivarin (THCV) • Cannabidiol (CBD) • Ácido cannabidiólico (CBDA) • Cannabinol (CBN) • Cannabidivarin (CBDV) • Cannabigerol (CBG) • Ácido cannabigerólico (CBGA) • Cannabicromeno (CBC) Unidades: mg/g Matrices: <ul style="list-style-type: none"> • Material vegetal • Extracto • Cristales 			Responsables por la validación				
			Responsable		Firma		
			MCDG				
			SABU				
			Fecha de entrega del informe de la validación: Septiembre 30 de 2019				

PARÁMETROS DE VALIDACIÓN

Selectividad	X	Linealidad / intervalo de trabajo	X
Sensibilidad		Límite de detección	X
Límite de cuantificación	X	Veracidad	X
Repetibilidad	X	Reproducibilidad	X
Robustez	X	Recuperación	X

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10


DOCUMENTO CONTROLADO

ICR-TC-184-01

Informe de validación del ensayo de cannabinoides

AOXLAB S.A.S.


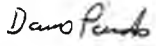
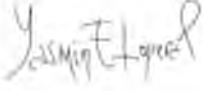
*** PROC – TC – 184 Procedimiento para la determinación de Cannabinoides**

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

DOCUMENTO CONTROLADO

ICR-TC-184-01 Informe de validación del ensayo de cannabinoides

Copia controlada No.: 1

	Nombre	Puesto o función	Firma	Fecha
Elaboró:	Wlner Ferney Ruiz Patiño	Líder Laboratorio		2019/08/16
Revisó:	Darío Pardo Pardo	Líder de Calidad		2019/08/16
Aprobó:	Yasmín Eliana Lopera Pérez	Gerente y Director Técnico		2019/08/16
Localización del documento:		http://107.190.139.42/~aoxlabsgc/sig/		

Control de Cambios

Estado	Fecha de inicio de vigencia	Revisión	Descripción del cambio realizado	Realizó	Revisó	Aprobó
Vigente	2019/08/16	1	Ninguno (versión original).	WFRP	DPP	YELP

*** PROC – TC – 184 procedimiento de ensayo cannabinoides**

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

Informe de validación del ensayo de cannabinoides


ICR-TC-184-01
2019/08/16

FOR-TC-047


AOXLAB S.A.S

ÍNDICE

1. OBJETIVO Y ALCANCE.....	5
----------------------------	---

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

1.1	Objetivo.....	5
1.2	Alcance.....	5
2.	DEFINICIONES Y NOTACIONES.....	5
2.1	Definiciones.....	5
2.2	Notaciones.....	7
3.	REFERENCIAS.....	7
4.	DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO A VALIDAR.....	8
5.	ESPECIFICACIÓN DE LOS REQUISITOS DEL MÉTODO A VALIDAR.....	8
6.	DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS O CARACTERÍSTICAS DE VALIDACIÓN.....	8
7.	VERIFICACIÓN DE CUMPLIMIENTO DE PARÁMETROS O CARACTERÍSTICAS DE VALIDACIÓN.....	9
7.1	RESULTADOS OBTENIDOS POR CADA MATRIZ EVALUADA.....	9
7.1.1	Especificidad.....	9
7.1.2	Selectividad.....	10
7.1.3	Intervalo de trabajo.....	11
7.1.4	Límite de cuantificación.....	16
7.1.5	Precisión- Reproducibilidad y repetibilidad.....	17
7.1.6	Exactitud.....	18
7.1.7	Recuperación.....	19
7.1.8	Veracidad.....	19
7.1.9	Robustez.....	21
8.	CONCLUSIONES DE LA VALIDACIÓN.....	22
9.	INFORME.....	24
9.1	Firmas del personal de validación.....	24
10.	RESPONSABILIDADES.....	25
10.1	Líder de Calidad.....	25
10.2	Líder de Laboratorio.....	25
10.3	Analistas.....	25
11.	FORMATOS RELACIONADOS.....	25
12.	ANEXOS.....	25

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

1. OBJETIVO Y ALCANCE.

1.1 Objetivo.

Evaluar los resultados obtenidos del ejercicio de validación del método analítico PROC – TC – 184 procedimiento de ensayo de cannabinoides, el cual es un desarrollo de Shimadzu Scientific Instruments, de acuerdo con el diseño experimental y criterios de aceptación establecidos en PROC-TC-012 y PLN-TC-184-01 Plan de Validación del ensayo de cannabinoides y atendiendo los requisitos establecidos por la norma ISO/IEC 17025:2017 [1].

1.2 Alcance.

Las conclusiones y declaraciones consignadas en el presente documento están basadas sobre los resultados obtenidos del desafío del procedimiento PROC – TC – 184 procedimiento de ensayo perfil de cannabinoides siguiendo fielmente el diseño experimental establecido en PLN-TC-184-01 Plan de Validación del ensayo de cannabinoides.

2. DEFINICIONES Y NOTACIONES.

2.1 Definiciones.

Analito [6].

Componente de un sistema a ser medido químicamente.

Blanco [6].

Material que es similar en matriz y estado físico de preparación a las muestras que están siendo analizadas como muestras problema, pero que no contiene el analito nativo y que es usado con el propósito de dar seguimiento a diferentes aspectos del proceso analítico.

Documento [2].

Información y su medio de soporte.

Ensayo/prueba [2].

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

Incertidumbre [3].


Parámetro no negativo que caracteriza la dispersión de los valores atribuidos a un mensurando, a partir de la información que se utiliza.

Intervalo de trabajo [6].

Intervalo de concentraciones analíticas o los valores de las propiedades sobre las cuales el método va a ser aplicado. Dentro del intervalo de trabajo puede existir un intervalo de respuesta lineal. Dentro de este intervalo lineal de respuesta habrá una relación lineal con la concentración del analito.

Límite de cuantificación [6].

Concentración mínima del analito en una muestra que puede determinarse con un nivel de incertidumbre aceptable, bajo las condiciones de operación establecidas.

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

Límite de detección [6].

Mínima concentración de un analito o sustancia en una muestra, la cual puede ser detectada pero no necesariamente cuantificada bajo las condiciones en que se lleva a cabo el método.

Material de referencia certificado [3].

Material de referencia acompañado por la documentación emitida por un organismo autorizado, que proporciona uno o varios valores de propiedades especificadas, con incertidumbres y trazabilidades asociadas, empleando procedimientos válidos.

Precisión [3].

Proximidad entre las indicaciones o los valores medidos obtenidos en mediciones repetidas de un mismo objeto, o de objetos similares, bajo condiciones especificadas.

Procedimiento [2].

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

Recuperación [6].

Proporción del analito presente o adicionado a una muestra que sirve para evaluar la eficiencia del método de ensayo.

Repetibilidad [3].

Precisión de medida bajo un conjunto de condiciones de repetibilidad.

Reproducibilidad [3].

Precisión de medida bajo un conjunto de condiciones de reproducibilidad

Robustez [6].

Medida de la capacidad de un método de ensayo de permanecer inalterado por variaciones pequeñas, pero deliberadas, en los parámetros del método y proporciona una indicación de su confiabilidad durante su uso normal.

Selectividad [6].

Capacidad de un método para determinar exacta y específicamente un analito de interés en presencia de otros componentes en la matriz bajo las condiciones de ensayos establecidos y puede ser:


Cualitativa: el grado en el cuál otras sustancias interfieren con la determinación de una sustancia de acuerdo con un procedimiento dado y/o

Cuantitativa: un término usado en conjunto con otros términos (por ejemplo: constante, coeficiente, índice, factor, número) para la caracterización cuantitativa de interferencias.

Sensibilidad [6].

La pendiente de la curva de calibración. Si la curva es efectivamente una “curva”, en lugar de ser una línea recta, entonces la sensibilidad será una función de la cantidad o concentración del analito.

Sesgo [6].

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

Medida del error sistemático de un procedimiento analítico dado y es la desviación, positiva o negativa, de la media de los resultados analíticos con respecto al valor convencionalmente verdadero.

Validación [2].

Verificación mediante la aportación de evidencia objetiva de que se han cumplido los requisitos para una utilización o aplicación específica prevista.

Verificación [2].

Verificación, a través de la aportación de evidencias objetivas, de que se cumplen los requisitos especificados.

Veracidad [3].

Proximidad entre la media de un número infinito de valores medidos repetidos y un valor de referencia.

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 al elemento o material bajo ensayo.

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] VIM: 2008, International vocabulary of metrology -- Basic and general concepts and associated terms.
- [4] ISO/IEC 17000:2004 Conformity assessment -- Vocabulary and general principles.
- [5] ISO/TR 10013:2001 Guidelines for quality management system documentation.
- [6] NMX-CH-152-IMNC: 2005 Metrología en química-vocabulario
- [7] Eurolab España. P.P. Morillas y colaboradores. Guía Eurachem: La adecuación al uso de los métodos analíticos – Una Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados (1ª ed. 2016). Disponible en www.eurachem.org.
- [8] MILLER, N. J. y MILLER, J. C.: ESTADÍSTICA Y QUIMIOMETRÍA PARA QUÍMICA ANALÍTICA (4ª ed. 2002). ISBN: 84-205-3514-1

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

4. DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO A VALIDAR.

PROC – TC – 184 Procedimiento para la determinación de Cannabinoides, el cual es un desarrollo de Shimadzu Scientific Instruments.

5. ESPECIFICACIÓN DE LOS REQUISITOS DEL MÉTODO A VALIDAR.


Las características deseables del método de ensayo PROC – TC – 184 Procedimiento para la determinación de Cannabinoides fueron consignadas en el numeral 5 del plan de validación PLN-TC-184-01 Plan de Validación del ensayo de cannabinoides.

6. DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS O CARACTERÍSTICAS DE VALIDACIÓN.

Los requisitos correspondientes a los parámetros de desempeño evaluados, que permitieron para establecer la aptitud del método analítico son:

PARAMETRO	CRITERIO	UNIDADES
Selectividad	Establecer las ventanas de tiempos de retención para cada mensurando	
Selectividad	Factor de selectividad mayor a 1 para todos los mensurandos Resolución mayor a 1.5	
Intervalo de trabajo	1 – 200	mg/g
Límite de cuantificación	1.0	mg/g
Exactitud	E. R. % máximo 5%	%
Veracidad	Veraz para el rango de trabajo evaluado y para cada mensurando	
Recuperación	95% - 105%	%
Precisión - repetibilidad	C. V. % máximo 5%	%
Precisión - reproducibilidad	C. V. % máximo 5%	%
Robustez ante el cambio de analista y cambios en las condiciones de extracción	Robusto	

La exactitud se evaluó sobre soluciones estándar preparadas en el laboratorio.

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

La repetibilidad se evaluó sobre duplicados de muestras representativas de cada matriz, las cuales variarán en cada lote de análisis.

La selectividad se evaluó mediante los resultados de resolución y factor de selectividad arrojados por el software sobre los cromatogramas obtenidos de las muestras reales

7. VERIFICACIÓN DE CUMPLIMIENTO DE PARÁMETROS O CARACTERÍSTICAS DE VALIDACIÓN.


A continuación, se muestra la tabla comparativa que muestra los valores de los requisitos a cumplir y los valores obtenidos por la aplicación del método.

PARAMETRO	CRITERIO	UNIDADES	CUMPLE SI/NO
Especificidad	Ventanas de tiempos de retención.		NO CUMPLE
Selectividad	Resolución mayor a 1.0		CUMPLE
Recuperación	80% - 120%	%	NO CUMPLE
Intervalo de trabajo	0 – 200	mg/g	CUMPLE
Límite de cuantificación	1.0	mg/g	NO CUMPLE
Exactitud*	E. R.% máximo 10%	%	NO CUMPLE
Veracidad	Veraz para el rango de trabajo evaluado y para cada mensurando		NO CUMPLE
Precisión - repetibilidad	C. V. % máximo 5%	%	CUMPLE
Precisión - reproducibilidad	C. V. % máximo 5%	%	CUMPLE
Robustez ante el cambio de analista	Robusto	N. A	

El laboratorio AOXLAB de acuerdo con los resultados obtenidos estableció declarar el valor máximo obtenido como resultado de la evaluación de cada atributo sobre las matrices evaluadas con el propósito de tener siempre presente el peor escenario en el desempeño del método analítico

7.1 RESULTADOS OBTENIDOS POR CADA MATRIZ EVALUADA

7.1.1 Especificidad

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

La especificidad del método analítico se evaluó a través del establecimiento de las ventanas de tiempo de retención. Estos intervalos fueron determinados de acuerdo con las directrices establecidas en el procedimiento PROC-TC-012, en el cual se define que esto debe realizarse a partir de tres inyecciones de una solución estándar que contenía los 11 mensurandos a una concentración de 10 mg/l inyectadas en un periodo no superior a 72 horas. Para este ejercicio, se utilizaron tres inyecciones realizadas en un lapso de 41 horas. Las ventanas de tiempo de retención para cada mensurando se muestran a continuación:

Ventana de tiempo de retención (minutos)

MENSURANDO	LI	LS
CBDV	2,540	2,630
CBDA	3,355	3,523
CBGA	3,646	3,858
CBG	3,815	4,037
CBD	3,969	4,184
THCV	4,138	4,340
CBN	5,563	5,765
Δ9-THC	6,423	6,611
Δ8-THC	6,552	6,743
CBC	7,249	7,456
THCA	7,491	7,702

La tabla anterior muestra que se presentan solapamientos en las ventanas de tiempo de retención calculadas para los siguientes compuestos:


- CBGA y CBG
- CBG y CBD
- CBD y THCV

Este hallazgo permite concluir que las ventanas de tiempo de retención calculadas para los compuestos anteriores no garantizan la especificidad del método analítico. Por tanto, las ventanas de tiempo de retención deben estimarse a partir de inyecciones menos espaciadas en el tiempo y por tanto deben monitorearse de manera más frecuente durante la ejecución del método analítico.

Por lo anterior, este parámetro queda pendiente por aprobación.

7.1.2 Selectividad

La selectividad se evaluó a través del cálculo de la resolución del sistema cromatográfico. La resolución es calculada por el software Cannabis Analyzer,

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

desarrollado por Shimadzu Cientific Instruments. Los resultados arrojados por dicha aplicación se muestran a continuación:

MENSURANDO	LI
CBDV	--
CBDA	8,661
CBGA	2,897
CBG	1,534
CBD	1,299
THCV	1,374
CBN	12,780
Δ9-THC	8,290
Δ8-THC	1,285
CBC	7,121
THCA	2,499

Los resultados anteriores muestran que la meta propuesta para este parámetro en el plan de validación PLN-184-01 se cumple. De acuerdo con la teoría, un valor de resolución de 1.5 indica un solapamiento entre picos de 0.3% y un valor de resolución de 1.0 indica un solapamiento del 4%. Por tanto, es importante tener en cuenta que para los compuestos en los cuales el sistema arrojó un valor de resolución entre estos valores, el solapamiento entre picos estará entre 0.3% y 4%, los cuales son niveles de riesgo aceptables para el laboratorio.


El hallazgo discutido anteriormente concuerda con lo encontrado en el numeral 7.1.1, donde se evidenció el solapamiento de las ventanas de tiempo de retención para los compuestos CBGA, CBD, y THCV.

Comparando la meta propuesta en el plan de validación PLN-184-01 para la selectividad, los valores de resolución resultan aceptables y por tanto se aprueba este parámetro.


7.1.3 Intervalo de trabajo

El intervalo de trabajo se evaluó en el rango de calibración del sistema cromatográfico sobre estándares preparados a partir de la solución certificada trazable, Shimadzu Phytocannabinoid mixture #11 Lote 0543185, cuyo certificado se encuentra en los anexos al presente informe.

El rango de calibración fue evaluado utilizando soluciones de concentración 0.5 mg/l, 1.0 mg/l, 5.0mg/l 10 mg/l, 50 mg/l y 100 mg/l, las cuales abarcan el rango de trabajo entre 1.0 mg/g y 200 mg/g. el modelo de regresión que empleado el software Shimadzu Cannabis analizar es un ajuste por el método de los mínimos cuadrados ponderados, que utiliza como factor de ponderación el inverso de la concentración (1/C).

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

Los resultados obtenidos de la evaluación del rango de trabajo se muestran a continuación:

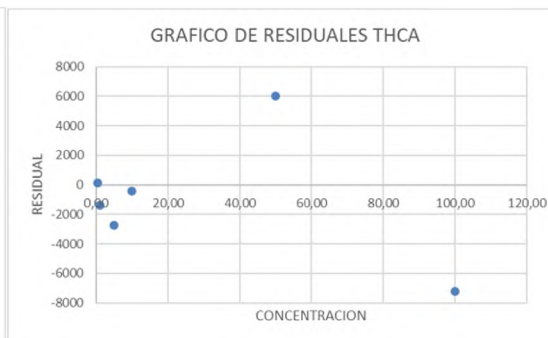
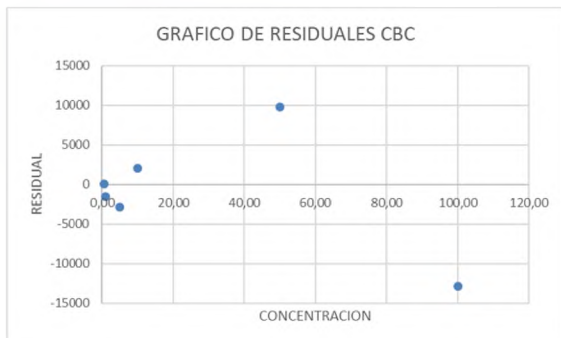
	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10


MENSURANDO	PENDIENTE	D. S. m	tCalc m	t Crit	INTERCEPTO	D. S. b	t Calc b	t Crit	R
CBDV	13646,12733	44,2278143	308,541752	2,77644511	-750,5893586	312,487684	-2,40198061	3,49540593	0,99998192
CBDA	13025,09292	149,5796	87,0780033	2,77644511	-64,30769898	1052,18752	-0,0611181	3,49540593	0,99978075
CBGA	13389,44942	55,6115291	240,76751	2,77644511	-651,5108642	393,390187	-1,65614417	3,49540593	0,99999264
CBG	12177,36444	167,975956	72,4946874	2,77644511	-109,6756358	1183,0183	-0,09270832	3,49540593	0,99981202
CBD	12159,01489	149,652701	81,2482153	2,77644511	-588,8997194	1057,35784	-0,55695404	3,49540593	0,99985284
THCV	12404,74886	94,0172969	131,941135	2,77644511	-211,3226282	666,93005	-0,31685876	3,49540593	0,99999542
CBN	18836,02273	133,807227	140,769846	2,77644511	-948,6269421	955,621575	-0,99268054	3,49540593	0,99991945
Δ^9 -THC	11911,17954	110,396688	107,894356	2,77644511	-103,7023985	790,302184	-0,13121867	3,49540593	0,99994254
Δ^8 -THC	9986,60084	70,3777754	141,899922	2,77644511	-287,2017186	494,262029	-0,58107178	3,49540593	0,99999606
CBC	11299,15528	86,7743198	130,213124	2,77644511	-616,2257327	613,5871	-1,00430034	3,49540593	0,99991618
THCA	11441,38804	52,5963898	217,531813	2,77644511	-807,8527327	371,615109	-2,17389636	3,49540593	0,99995598

Nota: D. S. m corresponde a la desviación estándar de la pendiente; D. S. b es la desviación estándar del intercepto; R corresponde al coeficiente de correlación; t Calc m corresponde al valor calculado para efectuar el contraste t de Student para evaluar la compatibilidad de la pendiente con el valor de cero; t Calc b corresponde con el valor calculado del contraste t de Student para evaluar la compatibilidad del intercepto con el valor cero.

Los gráficos de los residuos se muestran a continuación:





	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

Los gráficos anteriores muestran que los puntos se distribuyen aproximadamente de manera aleatoria entre valores positivos y negativos. Esto, junto con el alto valor obtenido para los coeficientes de correlación permiten establecer un comportamiento lineal del método de ensayo para cada mensurando. Además de lo anterior, el contraste t de Student calculado para evaluar la compatibilidad de la pendiente con el valor de cero, arrojaron valores superiores al valor crítico de t de Student, con cuatro grados de libertad y un nivel de confianza del 95%. Esto permite concluir que las pendientes de los modelos de ajuste son estadísticamente diferentes de cero y por tanto existe un aumento en la respuesta de la señal al aumentar la cantidad de los mensurandos. Así mismo, al comparar el valor obtenido para el contraste t de Student para evaluar la compatibilidad del valor del intercepto arrojado por el ajuste con el valor de cero, se encuentra que este valor es menor que el valor crítico de t con cuatro grados de libertad y una confiabilidad del 95%. Esto permite concluir que el valor del intercepto para todos los modelos de ajuste es estadísticamente compatible con el valor cero, lo que evidencia que no están presentes errores sistemáticos en el sistema cromatográfico. Por lo anterior, el parámetro intervalo de trabajo se aprueba.


7.1.4 Límite de cuantificación

El límite de cuantificación (LOQ) fue determinado evaluando la precisión y exactitud obtenida sobre un estándar de una concentración equivalente a 1.0 mg/g de material vegetal.

Los resultados obtenidos se muestran a continuación:

MENSURANDO	Exactitud	Precisión
	E. R. %	C. V. %
CBDV	4,7%	4,0%
CBDA	6,1%	3,9%
CBGA	4,9%	2,0%
CBG	7,3%	1,9%
CBD	6,1%	1,8%
THCV	11,6%	1,6%
CBN	3,1%	2,3%
Δ 9-THC	9,9%	2,2%
Δ 8-THC	7,4%	2,2%
CBC	5,6%	4,6%
THCA	12,8%	12,6%

Los resultados obtenidos muestran que para los mensurandos CBDA, CBG, CBD, THCV, Δ 9-THC, Δ 8-THC y THCA no cumplen la meta de exactitud propuesta. Por lo anterior, la aprobación de este parámetro no se aprueba.

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

7.1.5 Precisión- Reproducibilidad y repetibilidad

La precisión en términos de repetibilidad y reproducibilidad se evaluó sobre un estándar de 1.15 mg/l, equivalente a 2.30 mg/g de material vegetal.

Los resultados de la estimación de la precisión sobre estándares se muestran a continuación:


MENSURANDO	Repetibilidad	Reproducibilidad	F Calc	F Crit
	C. V. %	C. V. %		
CBDV	4,6%	3,7%	0,76774871	6,59138212
CBDA	0,5%	2,9%	19,1889371	6,59138212
CBGA	0,8%	3,2%	10,2090803	6,59138212
CBG	1,0%	N. D.	0,22159276	6,59138212
CBD	0,8%	1,8%	3,36390038	6,59138212
THCV	1,0%	3,4%	7,70799719	6,59138212
CBN	0,6%	2,4%	9,64172578	6,59138212
Δ9-THC	1,4%	0,5%	0,41467485	6,59138212
Δ8-THC	0,9%	N. D.	0,314741	6,59138212
CBC	2,4%	3,8%	1,99842327	6,59138212
THCA	1,4%	2,3%	2,18557621	6,59138212

No fue posible calcular la reproducibilidad para los mensurandos CBG y d8-THC toda vez que la varianza dentro de los lotes de análisis fue mayor que la correspondiente a la varianza entre lotes, lo cual arroja para la varianza de la reproducibilidad un valor negativo.

Los resultados obtenidos de coeficiente de variación de la repetibilidad y la reproducibilidad muestran que se cumple la meta de precisión propuesta en el plan de validación PLN-184-01. Para todos los mensurandos.

Por otro lado, al comparar el valor de F calculado en el análisis de varianza (ANOVA) muestra que existen diferencias estadísticamente significativas entre la repetibilidad y la reproducibilidad en los resultados obtenidos para los mensurandos CBDA, CBGA, THCV y CBN.

Los resultados de la evaluación de la precisión obtenida de la ejecución del ensayo sobre muestras adicionadas se muestran a continuación:

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

MENSURANDO	4364 + 25 ug/ml	5075 + 25 ug/ml	5344 + 25 ug/ml	5353 + 25 ug/ml
CBDV	2,2%	2,1%	1,6%	1,4%
CBDA	2,7%	2,2%	1,1%	2,2%
CBGA	3,1%	2,3%	1,3%	1,1%
CBG	1,5%	1,4%	1,0%	0,7%
CBD	1,4%	1,4%	0,9%	0,9%
THCV	2,0%	1,3%	0,8%	0,8%
CBN	2,0%	1,7%	1,8%	0,9%
Δ9-THC	1,5%	1,1%	1,0%	0,6%
Δ8-THC	1,3%	1,2%	0,3%	0,8%
CBC	2,8%	2,3%	2,4%	0,9%
THCA	2,9%	2,6%	3,0%	1,4%


La tabla anterior permite evidenciar, que la precisión del método analítico evaluada sobre las matrices adicionadas, objeto del alcance de la validación, cumplen la meta de precisión propuesta.

De acuerdo con las evidencias del desempeño del método de ensayo relacionadas con la precisión permiten declarar que se aprueba este atributo.

7.1.6 Exactitud

En la tabla siguiente se muestran los valores máximos del error relativo porcentual obtenidos hasta la fecha de emisión del presente informe para cada uno de los mensurandos. Estos valores fueron obtenidos a partir de los resultados obtenidos de la ejecución del método analítico sobre estándares preparados sintéticamente.

MENSURANDO	STD 0,5 ppm	STD 1,0 ppm	STD 1,0 ppm-2	STD 10 ppm	STD 100 ppm
CBDV	4,7%	1,3%	12,9%	2,9%	6,6%
CBDA	6,1%	6,1%	6,0%	1,1%	4,1%
CBGA	4,9%	8,0%	6,1%	1,4%	3,8%
CBG	7,3%	2,6%	2,8%	4,7%	12,5%
CBD	6,1%	3,4%	2,3%	5,1%	11,2%
THCV	11,6%	3,9%	4,6%	2,6%	11,0%
CBN	3,1%	5,6%	6,5%	2,4%	8,6%
Δ9-THC	9,9%	2,7%	3,8%	6,1%	7,8%
Δ8-THC	7,4%	2,0%	2,7%	4,5%	7,5%
CBC	5,6%	11,0%	6,0%	1,7%	9,0%
THCA	12,8%	6,3%	5,7%	1,0%	7,6%

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

Aun cuando se han obtenido valores de error relativo porcentual de hasta 12.9% para varios mensurandos en diferentes niveles de concentración, se observa que también se han obtenido valores bajos, teniéndose un error relativo porcentual promedio de 5.7%. Por lo tanto, este parámetro no se aprueba.

7.1.7 Recuperación

La recuperación se evaluó sobre matrices adicionadas a una concentración de 25 mg/l, los resultados obtenidos se muestran en la tabla siguiente:

MENSURANDO	4364		5075		5344		5353	
	Min	Máx	Min	Máx	Min	Máx	Min	Máx
CBDV	92,3%	96,3%	89,0%	93,1%	97,3%	100,7%	114,2%	117,4%
CBDA	92,0%	101,4%	84,5%	88,9%	99,0%	117,2%	111,3%	115,9%
CBGA	90,5%	96,7%	84,2%	88,8%	97,2%	100,1%	111,6%	113,6%
CBG	98,8%	104,6%	91,5%	94,7%	104,0%	108,8%	121,8%	123,6%
CBD	145,2%	224,1%	103,1%	108,7%	113,3%	120,1%	118,2%	120,5%
THCV	94,9%	99,5%	89,2%	91,9%	102,3%	104,4%	118,0%	119,9%
CBN	92,3%	96,4%	87,9%	91,3%	99,0%	102,9%	116,8%	118,9%
Δ9-THC	96,8%	100,4%	91,3%	93,7%	104,2%	106,3%	121,5%	122,7%
Δ8-THC	95,2%	97,8%	90,3%	92,6%	102,9%	103,7%	118,9%	120,8%
CBC	92,0%	98,0%	87,3%	91,9%	101,9%	107,1%	118,0%	120,1%
THCA	81,5%	87,2%	77,0%	81,5%	88,0%	93,5%	105,2%	108,2%


Aun cuando en un gran número mensurandos y matrices no cumple la meta propuesta en el plan de validación PLN-184-01, se puede ver que los resultados de recuperación se encuentran entre el 80% y el 120%. Caso contrario ocurre con el mensurando CBD, donde se obtuvieron recuperaciones particularmente altas en la matriz extracto, donde el alto contenido de este compuesto en tiene una incidencia importante en la recuperación del mensurando adicionado.

Igualmente, se observa que en el producto terminado presenta un efecto matriz significativo, evidenciado en las recuperaciones sistemáticamente superiores al 100% para cada uno de los mensurandos ensayados. Una causa posible para esto, puede ser la ocurrencia de errores sistemáticos durante la preparación de los adicionados. Por tal motivo, es importante buscar alternativas para la preparación de estos o contar con materiales de referencia certificados para la evaluación de este atributo.

Por lo anterior, este parámetro no se aprueba.

7.1.8 Veracidad

La veracidad se evaluó mediante un contraste t de Student a un nivel de confianza del 95% y n-1 grados de libertad, con el propósito de estimar la compatibilidad del

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

valor de la concentración promedio obtenida de manera experimental con el valor teórico de cada solución estándar.

Los resultados de este contraste y el valor crítico de t de Student se muestran a continuación:


MENSURANDO	STD 0,5 ppm	STD 1,0 ppm	STD 1,0 ppm-2	STD 10 ppm	STD 100 ppm	t Crit
CBDV	0,61821151	0,04466081	1,57201491	0,46536822	1,43646403	2,77644511
CBDA	0,71003254	4,19837031	5,77246219	2,86370814	0,06051268	2,77644511
CBGA	2,35829024	4,00151583	5,48234604	2,27627818	2,00290629	2,77644511
CBG	5,42466854	2,73167312	5,4176311	7,57051907	10,0806215	2,77644511
CBD	5,27184701	1,57273012	2,9361628	5,86006541	10,3799573	2,77644511
THCV	14,452285	3,12662606	1,73068688	1,51700393	4,72627718	2,77644511
CBN	0,22106235	5,032672	6,43132735	1,59962607	6,84776158	2,77644511
Δ 9-THC	6,89406674	2,94252107	6,06805399	4,36523793	7,61956818	2,77644511
Δ 8-THC	5,26782931	3,85213583	10,2073325	4,06074852	6,86269273	2,77644511
CBC	0,13953433	2,86397951	4,67268649	8,29755594	7,58919153	2,77644511
THCA	1,44491573	5,71581092	3,2812271	3,6983297	23,3673919	2,77644511

Los resultados anteriores muestran que el método analítico es veraz únicamente para el compuesto CBDV. Además, debe tenerse en cuenta que la alta precisión demostrada por el método de ensayo, de acuerdo con los resultados presentados en el numeral 7.1.5, se constituye en un factor que influye fuertemente en el resultado del parámetro veracidad. Por lo anterior, este parámetro no se aprueba.

Análogamente, se evaluó la veracidad del método analítico al ejecutarlo sobre muestras adicionadas, a través de ensayos de recuperación.

Para esto, se aplicó un contraste t de Student a un nivel de confianza del 95% y n-1 grados de libertad, con el propósito de estimar la compatibilidad del valor de la recuperación promedio obtenida de manera experimental con el valor teórico de recuperación total (100%). Los resultados del contraste t de Student y su correspondiente valor crítico se muestran en las tablas siguientes:

MENSURANDO	4364	5075	5344	t Crit
CBDV	7,13372304	9,57331962	0,3174327	2,77644511
CBDA	1,27743427	14,1357978	-2,49846159	2,77644511
CBGA	5,14612571	14,0325193	2,19459269	2,77644511
CBG	-1,57344632	10,6037761	-6,24817472	2,77644511
CBD	-4,93175385	-5,15606518	-12,0113444	2,77644511
THCV	3,2285863	16,6387881	-7,49407417	2,77644511
CBN	6,47380545	14,045629	-1,27610202	2,77644511

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

Δ9-THC	2,13852456	13,9187036	-11,9163948	2,77644511
Δ8-THC	6,55802614	16,3101494	-18,1959091	2,77644511
CBC	4,14449781	9,75250897	-2,93450637	2,77644511
THCA	12,7791241	18,7946415	5,35740312	2,77644511

En seguida, se muestran los resultados correspondientes al ensayo sobre la matriz producto terminado.


MENSURANDO	5353	t Crit
CBDV	-16,6479024	3,18244631
CBDA	-9,07832043	3,18244631
CBGA	-17,1512799	3,18244631
CBG	-43,2574206	3,18244631
CBD	-28,660756	3,18244631
THCV	-34,6704002	3,18244631
CBN	-28,658244	3,18244631
Δ9-THC	-52,8319812	3,18244631
Δ8-THC	-35,4168398	3,18244631
CBC	-30,3429915	3,18244631
THCA	-7,46157921	3,18244631

Los resultados obtenidos sobre matrices adicionadas muestran que el método analítico no es completamente veraz al aplicarse sobre las diferentes matrices. Debe tenerse en cuenta que las matrices tienen un carácter complejo y por tanto no se puede pretender cumplir ampliamente este criterio. No obstante, los valores de recuperación obtenidos y mostrados en el numeral 7.1.7 son aceptables. Este parámetro se declara como no aprobado.

7.1.9 Robustez

La robustez ante el cambio de analista fue evaluada mediante un diseño experimental de Youden – Steiner para el mensurando CBD.

De acuerdo con el procedimiento PROC-TC-012, el criterio para evaluar la influencia de los factores evaluados corresponde a la desviación estándar del método, multiplicado por raíz cuadrada de 2. Para elaborar dicho criterio se tomó la desviación estándar máxima obtenida durante el ejercicio de precisión relacionado con el mensurando CBD, que corresponde a la desviación estándar estimada sobre la muestra 4364-19, cuyo valor fue de 9.2 mg/g. Los resultados obtenidos se muestran a continuación:

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

FACTOR	1	2	3	4	5
Volumen de extracción (ml)	50	50	50	50	20
Centrifugación (RPM)	2000	2000	2000	3000	2000
Potencia del sonicador (%)	30	25	30	25	30
Tiempo de sonicación (min)	7	7	10	10	10
Fase móvil A % H3PO4	0,1	0,09	0,1	0,085	0,085
Fase móvil B % H3PO4	0,1	0,09	0,085	0,1	0,1
Analista	SABU	MCDG	MCDG	SABU	MCDG
Resultados mg/g	1028	330	397	342,71	844,2
Desviación estándar del método	9,2				
Criterio	13				

CALCULOS DE LOS FACTORES


FACTOR	X	x	X	x	Rango
Volumen de extracción (ml)	50	20	524,4	684,13	159,7
Centrifugación (RPM)	3000	300	347,7	211,04	136,7
Potencia del sonicador (%)	30	25	778,1	430,47	347,6
Tiempo de sonicación (min)	10	7	447,2	761,34	314,1
Fase móvil A % H3PO4	0,1	0,09	618,5	590,06	28,43
Fase móvil B % H3PO4	0,1	0,09	764,7	443,83	320,9
Analista	SABU	MCDG	604,7	603,86	0,836


Al comparar los rangos obtenidos para cada factor con el criterio de aceptación, se encuentra que el único factor cuyo rango es inferior al criterio es el factor analista. Esto permite concluir que el método es robusto ante el cambio de analista, pero es sensible a la modificación de los factores restantes y por tanto se debe tener extrema precaución en el control de dichas condiciones durante la ejecución del método. Este hallazgo es de alguna manera previsible, toda vez que varios de los factores evaluados afectaban las condiciones de extracción, las cuales tienen un impacto directo sobre la recuperación del mensurando.

Teniendo en cuenta lo discutido anteriormente, se aprueba el atributo.

8. CONCLUSIONES DE LA VALIDACIÓN.

Con base en los resultados obtenidos, la Directora Técnica de AOXLAB S. A. S., declara que no existe aún evidencia suficiente sobre el desempeño del método que permita declarar la aptitud del mismo para el uso previsto. Es necesario repetir la evaluación de los parámetros no aprobados para obtener los elementos de juicio suficientes para emitir dicha declaración.

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

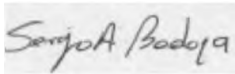
	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

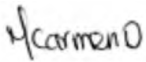
9. INFORME.

El presente informe es aprobado por la Directora Técnica y debe estar disponible para consulta permanente en los archivos correspondientes a este ensayo.

9.1 Firmas del personal de validación.

Realizó:





Nombre y firma
Analistas

Revisó:



Nombre y firma
Líder Laboratorio

Aprobó:



Nombre y firma
Directora técnica

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

10. RESPONSABILIDADES.

10.1 Líder de Calidad.

Asegurar la aplicación del presente documento y tomar decisiones en casos especiales no contemplados.

10.2 Líder de Laboratorio.

Asegurar la aplicación del presente documento por el personal subordinado o supervisado.

10.3 Analistas.

Aplicar el presente documento.

11. FORMATOS RELACIONADOS.

N. A.


12. ANEXOS.

	Plan de Validación o Verificación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S	Identificación: FOR-TC-013
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2017/08/01

PLN-TC-184-02

Plan de validación del ensayo de determinación de Cannabinoides


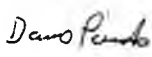

AOXLAB S.A.S.

	Plan de Validación o Verificación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S	Identificación: FOR-TC-013
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2017/08/01

DOCUMENTO CONTROLADO

PLN-TC-184-02 Plan de validación del ensayo de determinación de Cannabinoides

Copia controlada No.: 1

	Nombre	Puesto o función	Firma	Fecha
Elaboró:	Winer Ferney Ruiz Patiño	Líder Laboratorio		2019-07-15
Revisó:	Darío Pardo Pardo	Líder de Calidad		2019-07-18
Aprobó:	Yasmín Eliana Lopera Pérez	Gerente y Director Técnico		2019-07-22
Localización del documento:	Z:\7. PROCESO\REGISTROS AOXLAB\REGISTROS (RT)2018\Planes de validación			

Control de Cambios

Estado	Fecha de inicio de vigencia	Revisión	Descripción del cambio realizado	Realizó	Revisó	Aprobó
Vigente	2019-07-22	0	Ninguno (versión original).	WFR	DPP	YELP

	Plan de Validación o Verificación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S	Identificación: FOR-TC-013
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2017/08/01

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.....	4
3. REFERENCIAS.....	4
4. ESPECIFICACIÓN DE LOS REQUISITOS DEL MÉTODO A CONFIRMAR.....	4
5. DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS O CARACTERÍSTICAS DE VALIDACION.....	5
5.1 CARACTERISITICAS DE DESEMPEÑO A EVALUAR.....	5
5.2 DISEÑO EXPERIMENTAL	6
5.2.1 Condiciones generales	6
5.2.2 Condiciones Cromatográficas	6
5.2.3 Preparación de Solución Estándar para cuantificar CBD.....	7
5.2.4 Preparación de Solución Estándar para cuantificación de otros cannabinoides. .	7
5.2.5 Preparación de la solución muestra concentrada (d1).....	7
5.2.6 Preparación de la solución muestra diluida (d50).....	8
5.2.7 Materiales, equipos y reactivos	8
6. VERIFICACIÓN DE CUMPLIMIENTO DE PARÁMETROS O CARACTERÍSTICAS DE VALIDACION.....	9
7. CONCLUSIONES DE LA CONFIRMACIÓN.....	9
8. INFORME.....	9
9. RESPONSABILIDADES.....	10
9.1 Director Técnico.....	10
9.2 Líder de Laboratorio.....	10
9.3 Analistas.....	10
10. FORMATOS RELACIONADOS.....	10
11. ANEXOS.....	11

	Plan de Validación o Verificación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S	Identificación: FOR-TC-013
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2017/08/01

1. OBJETIVO Y ALCANCE.

1.1 Objetivo.

Establecer la lista de características de desempeño a evaluar, los respectivos criterios de aceptación y describir el diseño experimental para realizar la validación del método analítico PROC – TC – 184 Procedimiento para la determinación de Cannabinoides, mediante la técnica de cromatografía líquida (HPLC) con detector de arreglo de diodos (DAD). Este método de ensayo es un desarrollo de Shimadzu Scientific Instruments.

El desempeño del método analítico será evaluado sobre la matriz aislado de CBD. La validación del procedimiento analítico se realizará atendiendo los requisitos establecidos por la norma ISO/IEC 17025:2017 y el procedimiento PROC-TC-012.

1.2 Alcance.

Aplica para la validación del procedimiento analítico PROC – TC – 184 Procedimiento para la determinación de Cannabinoides, ejecutado sobre las matrices relacionadas en el numeral 1.1

2. DEFINICIONES Y NOTACIONES.

2.1 Definiciones.

Para el presente documento aplicarán las definiciones establecidas en el numeral 2.1 del procedimiento PROC – TC- 012 [1]

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 al elemento o material bajo ensayo.

3. REFERENCIAS.

[1] PROC – TC – 012. Procedimiento para la validación o confirmación de métodos analíticos.

[2] PROC – TC – 184 Procedimiento para la determinación de Cannabinoides

4. ESPECIFICACIÓN DE LOS REQUISITOS DEL MÉTODO A CONFIRMAR.

El método bajo validación debe cumplir los siguientes requisitos, a fin de que sea considerado como apto o válido para el uso previsto.

El método debe permitir la identificación y cuantificación de los siguientes compuestos:

- Δ 9-Tetrahidrocannabinol (Δ 9-THC)
- Δ 8-Tetrahidrocannabinol (Δ 8-THC)

	Plan de Validación o Verificación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S	Identificación: FOR-TC-013
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2017/08/01

- Cannabidiol (CBD)
- Ácido cannabidiólico (CBDA)
- Cannabinol (CBN)

Estos mensurandos deben poderse identificar y cuantificar en la matriz aislado de CBD.

5. DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS O CARACTERÍSTICAS DE VALIDACION.

5.1 CARACTERISITICAS DE DESEMPEÑO A EVALUAR

Como resultado del ejercicio de validación se debe evidenciar que el procedimiento de ensayo cumple con los siguientes parámetros de desempeño para todos y cada uno de los mensurandos especificados en el numeral 4:

PARAMETRO	CRITERIO	UNIDADES
Selectividad	Establecer las ventanas de tiempos de retención para cada mensurando	
Límite de detección	0.2 S/N >3.3	ug/ml
Límite de cuantificación	0.5 S/N >10	ug/ml
Veracidad	Veraz para el rango de trabajo evaluado y para cada mensurando	
Exactitud	R% 90% - 110%	%

La selectividad se evaluará estableciendo las ventanas de tiempo de retención para los mensurandos objeto del alcance. Las ventanas de retención se establecerán como el intervalo de confianza establecido siguiendo una distribución t de Student con un 99% de confiabilidad, a partir de los resultados de tiempo de retención de 18 mediciones en condiciones de repetibilidad.

Además, debe comprobarse que las señales provenientes de la fase móvil y la matriz, no interfieren con las señales características de los compuestos a determinar.

La exactitud se evaluará sobre soluciones de aislado de CBD enriquecidas con los compuestos a determinar, las cuales se analizarán por triplicado, en condiciones de repetibilidad. La exactitud se evaluará como porcentaje de recuperación, el cual debe cumplir el criterio $90\% < R\% < 110\%$. Estas soluciones se prepararán de acuerdo con lo establecido en el numeral 5.2.

La veracidad se evaluará aplicando un contraste t de Student a un nivel de confianza del 95% y n-1 grados de libertad, sobre los resultados de porcentaje de recuperación

	Plan de Validación o Verificación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S	Identificación: FOR-TC-013
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2017/08/01

obtenidos durante la evaluación de la exactitud. El propósito de la aplicación de este contraste estadístico es evaluar la compatibilidad de la recuperación obtenida con el valor de 100%. Como resultado se espera que dicho test establezca que las recuperaciones obtenidas no difieran estadísticamente del valor de 100%

Los límites de detección y cuantificación instrumental, se verificarán preparando soluciones estándar de 0.2 ug/ml y 0.5 ug/ml de cada uno de los mensurandos y analizándolas en el sistema cromatográfico, en condiciones de repetibilidad. El criterio establecido para el Límite de cuantificación es que el coeficiente de variación sea inferior al 20% y la relación señal/ruido sea superior a 3.3. Los criterios para el límite de cuantificación es que el coeficiente de variación no supere el 10% y la relación señal/ruido para cada compuesto sea superior a 10.

5.2 DISEÑO EXPERIMENTAL

5.2.1 Condiciones generales

Los parámetros son determinados de acuerdo con las siguientes instrucciones: Se analizarán ocho lotes de ítems de ensayo cada uno en un día diferente. Estos serán procesados y analizados por el analista María Carmen Domínguez (MCDG).

5.2.2 Condiciones Cromatográficas

Fase móvil:	Fase A: 0.085% de Ácido Fosfórico en agua Fase B: 0.085% de Ácido Fosfórico en ACN		
Volumen de inyección:	5 µl		
Longitud de onda:	220 nm		
Flujo:	1,6 mL/min		
Equipo:	LC2030 Serie I Prominence con detector PDA		
Columna:	NexLeaf CBX 150x4,6 mm (2,7µm), Uso de precolumna SH-EXP Guarder Holder		
Temperatura auto muestreador:	4 °C		
Temperatura columna:	35 °C		
Tiempo de corrida:	12 minutos		
Tiempos de Retención picos identificados	Entre 3,0 y 7,0 minutos		
Solvente para diluciones	Fase B		
Solvente para lavado de aguja	Fase B		
Gradiente	Tiempo (min)	A (%)	B (%)
	INICIAL	30,0	70,0

	Plan de Validación o Verificación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S	Identificación: FOR-TC-013
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2017/08/01

	3,00	30,0	70,0
	7,00	15,0	85,0
	7,01	5,0	95,0
	8,00	5,0	95,0
	8,01	30,0	70,0
	12,00	30,0	70,0
System suitability test	RSD%: $\leq 2,0\%$ Evaluada sobre mínimo 5 inyecciones repetidas de la solución estándar de CBD. Resolución entre $\Delta 9 - \text{THC}$ y $\Delta 8 - \text{THC}$ > picos mayor al 1,2 en la solución estándar para cuantificación de otros cannabinoides. Platos teóricos > 2000 y simetría entre 0,8 a 2,0 en la solución muestra d50.		

5.2.3 Preparación de Solución Estándar para cuantificar CBD.

Transferir con exactitud en un vial de 2mL 80 μL del Estándar mix de ($\Delta 9 - \text{THC}$, CBN y CBD), 80 μL de estándar de CBDA y 80 μL de estándar $\Delta 8 - \text{THC}$ y adicionar y 760 μL de solución diluyente (fase B). Someter por 1 minuto en agitación vortex. Se obtiene una concentración de 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de cada mensurando.

5.2.4 Preparación de Solución Estándar para cuantificación de otros cannabinoides.

Tomar 100 μL de la Solución estándar para cuantificar CBD Numeral 5.2.3 y transferir a un vial, adicionar 900 μL de solución diluyente (fase B) y someta agitación en vortex durante 1 minuto. Se obtiene una solución con una concentración de 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de cada mensurando.

5.2.5 Preparación de la solución muestra concentrada (d1).

Triturar una porción de la muestra y homogenizar, pesar y transferir con exactitud 40 mg de Cristales de CBD y llevar a un balón a forado de 10mL, adicionar el diluyente (fase B) hasta $\frac{3}{4}$ partes del volumen y someter a ultrasonido por 5 minutos a temperatura ambiente. Finalizado el tiempo, llevar a volumen con el mismo diluyente y homogenizar. Filtrar por membrana de PVDF de 0,22 μm y transferir a un vial. Se obtiene una concentración aproximada de 4000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de CBD.

	Plan de Validación o Verificación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S	Identificación: FOR-TC-013
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2017/08/01

Con esta solución se van a cuantificar los cannabinoides identificados de Δ -9-THC, Δ -8-THC y CBN, además de cuantificar la presencia de CBDA como posible porción del CBD y otros cannabinoides presentes no identificados por método de normalización.

5.2.6 Preparación de la solución muestra diluida (d50).

De la solución 5.2.5 “Preparación de la solución muestra concentrada (d1)” tomar un volumen de 100uL y transferir a un balón aforado de 5mL, completar volumen con el diluyente (fase B). Para obtener una concentración de 80 μ g/mL de CBD.

Con esta solución se realiza la cuantificación de CBD presente en la muestra.

5.2.7 Materiales, equipos y reactivos

Los equipos que se utilizarán para la realización del ejercicio de validación son:

EQUIPO	ID
Cromatógrafo líquido de alta resolución	0207
Balanza analítica	006 /235
Vortex Mixer	239
Micropipeta	0012
Ultra sonido	0128
Centrífuga	0007

Los equipos deben contar con el respectivo mantenimiento preventivo programado, calificación y/o calibración vigente.

El material con el cual se realizará el ejercicio de validación es el siguiente:

MATERIAL	ID	CANTIDAD	CALIBRACIÓN
BEAKER 50 ml	N.A	2	
BALON VOLUMETRICO 10 mL	N.A	2	
Probeta de 50 ml de vidrio	N. A.	1	
Biales de vidrio ámbar con tapa rosca	N. A.	100	
Micropipeta de volumen variable200 ul	012	1	Vigente
Puntas para Micropipeta de 200 ul	N. A.	100	
Micropipeta de volumen variable1000 ul	017	1	Vigente
Puntas para Micropipeta de 1000 ul	N. A.	100	

Los reactivos empleados para la preparación de soluciones y estándares se relacionan en la tabla siguiente:

	Plan de Validación o Verificación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S	Identificación: FOR-TC-013
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2017/08/01

Metanol HPLC >99.9%
Acetonitrilo HPLC >99.9%
Isopropanol HPLC >99.9%
Ácido fosfórico 85%

Estos deben contar con certificado de análisis vigente

Estándar	Lote	Pureza (ug/mL) B.H.	Fecha de Vencimiento
CBD	A0145489	1002,8	2021-01-31
CBDA	A0145482	1000,88	2019-07-31
CBN	A0145489	1004	2020-01-31
δ9-THC	A0145489	1000,5	2020-01-31
δ8-THC	A0138790	1006,3	2020-01-31

6. VERIFICACIÓN DE CUMPLIMIENTO DE PARÁMETROS O CARACTERÍSTICAS DE VALIDACION.

La verificación de cumplimiento de los parámetros o características del método a validar es realizada a través de una tabla comparativa entre los valores de los requisitos a cumplir (numeral 5.1) y los valores obtenidos por la aplicación del método en cada matriz.

Utilizar el formato FOR-TC-047 Formato de informe de confirmación de método analítico.

7. CONCLUSIONES DE LA CONFIRMACIÓN.

Al término de la confirmación, se emitirá una declaratoria acerca de la aptitud del laboratorio para operar el método normalizado, en función de los resultados obtenidos.

Esta declaratoria es registrada en el formato FOR-TC-047 Formato de informe de confirmación de método analítico.

8. INFORME.

La validación del método es reportada en un Informe de Confirmación, que incluye al menos: a) los resultados obtenidos, b) el procedimiento utilizado para la confirmación y c) una declaración sobre la aptitud del laboratorio para operar el método normalizado.

Usar el formato FOR-TC-047 Formato de informe de confirmación de método analítico.

	<p align="center">Plan de Validación o Verificación de métodos analíticos</p> <p align="center">AOXLAB S.A.S</p>	Identificación: FOR-TC-013
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2017/08/01

9. RESPONSABILIDADES.

9.1 Director Técnico.

Revisar y aprobar el presente plan de validación

Asegurar los recursos para la ejecución del plan de validación.

Brindar orientación técnica durante la ejecución del plan de validación.

9.2 Líder de Laboratorio.

Asegurar la aplicación del presente documento por el personal subordinado o supervisado.

9.3 Analistas.

Preparar los reactivos y materiales requeridos para ejecutar el plan de validación, de acuerdo con las instrucciones establecidas en este documento

Realizar los ensayos de acuerdo con el procedimiento de ensayo y el diseño experimental establecido.

10. FORMATOS RELACIONADOS.

FOR-TC-047 Formato de informe de confirmación de método analítico.

	Plan de Validación o Verificación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S	Identificación: FOR-TC-013
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2017/08/01

11. ANEXOS.


ANEXO 1: FICHA RESUMEN DEL PLAN DE VALIDACION

IDENTIFICACIÓN DEL MÉTODO DE ENSAYO VALIDADO

Nombre completo del método: Determinación de Cannabinoides Método de referencia: Shimadtzu – Cannabis analyzer. Procedimiento interno: PROC – TC - 164							
Tipo de método:	Cualitativo		Cuantitativo	X			
Origen del método	Normalizado		No Normalizado	X	Otro		
	Normalizado modificado		Interno				
Mensurandos: <ul style="list-style-type: none"> • Δ9-Tetrahydrocannabinol (Δ9-THC) • Δ8-Tetrahydrocannabinol (Δ8-THC) • Cannabidiol (CBD) • Ácido cannabidiolico (CBDA) • Cannabinol (CBN) Unidades: ug/mL Matrices: <ul style="list-style-type: none"> • Cristales 			Responsables por la validación				
			Responsable		Firma		
			MCDG				
			Fecha de entrega del informe de la validación: Septiembre 30 de 2019				

PARÁMETROS DE VALIDACIÓN

Selectividad	X	Linealidad / intervalo de trabajo	
Sensibilidad		Límite de detección	X
Límite de cuantificación	X	Veracidad	X
Repetibilidad		Reproducibilidad	
Robustez		Recuperación	X

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10


DOCUMENTO CONTROLADO

ICR-TC-184-02

Adenda al Informe de validación del ensayo de cannabinoides

AOXLAB S.A.S.


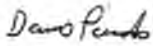
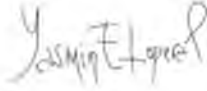
*** PROC – TC – 184 Procedimiento para la determinación de Cannabinoides**

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

DOCUMENTO CONTROLADO

ICR-TC-184-02 Adenda al Informe de validación del ensayo de cannabinoides


Copia controlada No.: 1

	Nombre	Puesto o función	Firma	Fecha
Elaboró:	Wlner Ferney Ruiz Patiño	Líder Laboratorio		2019/11/01
Revisó:	Darío Pardo Pardo	Líder de Calidad		2019/11/01
Aprobó:	Yasmín Eliana Lopera Pérez	Gerente y Director Técnico		2019/11/08
Localización del documento:		http://107.190.139.42/~aoxlabsgc/sig/		

Control de Cambios

Estado	Fecha de Inicio de vigencia	Revisión	Descripción del cambio realizado	Realizó	Revisó	Aprobó
Vigente	2019/11/08	1	Ninguno (versión original).	WFRP	DPP	YELP

* PROC – TC – 184 procedimiento de ensayo cannabinoides


	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

Adenda al Informe de validación del ensayo de cannabinoides

ICR-TC-184-02
2019/11/08


FOR-TC-047

AOXLAB S.A.S

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

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.....	7
3. REFERENCIAS.....	7
4. DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO A VALIDAR.....	8
5. ESPECIFICACIÓN DE LOS REQUISITOS DEL MÉTODO A VALIDAR.....	8
6. DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS O CARACTERÍSTICAS DE VALIDACIÓN.....	8
7. VERIFICACIÓN DE CUMPLIMIENTO DE PARÁMETROS O CARACTERÍSTICAS DE VALIDACIÓN.....	8
7.1 RESULTADOS OBTENIDOS POR CADA MATRIZ EVALUADA.....	9
7.1.1 Selectividad.....	9
7.1.2 Exactitud.....	12
7.1.3 Veracidad.....	15
7.1.4 Límite de detección.....	16
7.1.5 Límite de cuantificación.....	16
8. CONCLUSIONES DE LA VALIDACIÓN.....	17
9. INFORME.....	18
9.1 Firmas del personal de validación.....	18
10. RESPONSABILIDADES.....	19
10.1 Líder de Calidad.....	19
10.2 Líder de Laboratorio.....	19
10.3 Analistas.....	19
11. FORMATOS RELACIONADOS.....	19
12. ANEXOS.....	19

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

1. OBJETIVO Y ALCANCE.

1.1 Objetivo.

Complementar la evaluación de los atributos de desempeño pendientes por aprobación del primer ejercicio de validación del método analítico PROC – TC – 184 procedimiento de ensayo de cannabinoides, el cual es un desarrollo de Shimadzu Scientific Instruments, de acuerdo con el diseño experimental y criterios de aceptación establecidos en PROC-TC-012 y PLN-TC-184-02 Plan de Verificación del ensayo de cannabinoides y atendiendo los requisitos establecidos por la norma ISO/IEC 17025:2017 [1].

1.2 Alcance.

Las conclusiones y declaraciones consignadas en el presente documento están basadas sobre los resultados obtenidos del desafío del procedimiento PROC – TC – 184 procedimiento de ensayo proteína siguiendo fielmente el diseño experimental establecido en PLN-TC-184-02 Plan de validación del ensayo de cannabinoides.

2. DEFINICIONES Y NOTACIONES.

2.1 Definiciones.

Analito [6].

Componente de un sistema a ser medido químicamente.

Blanco [6].

Material que es similar en matriz y estado físico de preparación a las muestras que están siendo analizadas como muestras problema, pero que no contiene el analito nativo y que es usado con el propósito de dar seguimiento a diferentes aspectos del proceso analítico.

Documento [2].

Información y su medio de soporte.

Ensayo/prueba [2].

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

Incertidumbre [3].


Parámetro no negativo que caracteriza la dispersión de los valores atribuidos a un mensurando, a partir de la información que se utiliza.

Intervalo de trabajo [6].

Intervalo de concentraciones analíticas o los valores de las propiedades sobre las cuales el método va a ser aplicado. Dentro del intervalo de trabajo puede existir un intervalo de respuesta lineal. Dentro de este intervalo lineal de respuesta habrá una relación lineal con la concentración del analito.

Límite de cuantificación [6].

Concentración mínima del analito en una muestra que puede determinarse con un nivel de incertidumbre aceptable, bajo las condiciones de operación establecidas.

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

Límite de detección [6].

Mínima concentración de un analito o sustancia en una muestra, la cual puede ser detectada pero no necesariamente cuantificada bajo las condiciones en que se lleva a cabo el método.

Material de referencia certificado [3].

Material de referencia acompañado por la documentación emitida por un organismo autorizado, que proporciona uno o varios valores de propiedades especificadas, con incertidumbres y trazabilidades asociadas, empleando procedimientos válidos.

Precisión [3].

Proximidad entre las indicaciones o los valores medidos obtenidos en mediciones repetidas de un mismo objeto, o de objetos similares, bajo condiciones especificadas.

Procedimiento [2].

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

Recuperación [6].

Proporción del analito presente o adicionado a una muestra que sirve para evaluar la eficiencia del método de ensayo.

Repetibilidad [3].

Precisión de medida bajo un conjunto de condiciones de repetibilidad.

Reproducibilidad [3].

Precisión de medida bajo un conjunto de condiciones de reproducibilidad

Robustez [6].

Medida de la capacidad de un método de ensayo de permanecer inalterado por variaciones pequeñas, pero deliberadas, en los parámetros del método y proporciona una indicación de su confiabilidad durante su uso normal.

Selectividad [6].

Capacidad de un método para determinar exacta y específicamente un analito de interés en presencia de otros componentes en la matriz bajo las condiciones de ensayos establecidos y puede ser:


Cualitativa: el grado en el cuál otras sustancias interfieren con la determinación de una sustancia de acuerdo con un procedimiento dado y/o

Cuantitativa: un término usado en conjunto con otros términos (por ejemplo: constante, coeficiente, índice, factor, número) para la caracterización cuantitativa de interferencias.

Sensibilidad [6].

La pendiente de la curva de calibración. Si la curva es efectivamente una “curva”, en lugar de ser una línea recta, entonces la sensibilidad será una función de la cantidad o concentración del analito.

Sesgo [6].

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

Medida del error sistemático de un procedimiento analítico dado y es la desviación, positiva o negativa, de la media de los resultados analíticos con respecto al valor convencionalmente verdadero.

Validación [2].

Verificación mediante la aportación de evidencia objetiva de que se han cumplido los requisitos para una utilización o aplicación específica prevista.

Verificación [2].

Verificación, a través de la aportación de evidencias objetivas, de que se cumplen los requisitos especificados.

Veracidad [3].

Proximidad entre la media de un número infinito de valores medidos repetidos y un valor de referencia.

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 al elemento o material bajo ensayo.

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] VIM: 2008, International vocabulary of metrology -- Basic and general concepts and associated terms.
- [4] ISO/IEC 17000:2004 Conformity assessment -- Vocabulary and general principles.
- [5] ISO/TR 10013:2001 Guidelines for quality management system documentation.
- [6] NMX-CH-152-IMNC: 2005 Metrología en química-vocabulario
- [7] Eurolab España. P.P. Morillas y colaboradores. Guía Eurachem: La adecuación al uso de los métodos analíticos – Una Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados (1ª ed. 2016). Disponible en www.eurachem.org.
- [8] MILLER, N. J. y MILLER, J. C.: ESTADÍSTICA Y QUIMIOMETRÍA PARA QUÍMICA ANALÍTICA (4ª ed. 2002). ISBN: 84-205-3514-1

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

4. DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO A VALIDAR.

PROC – TC – 184 Procedimiento para la determinación de Cannabinoides, el cual es un desarrollo de Shimadzu Scientific Instruments.

5. ESPECIFICACIÓN DE LOS REQUISITOS DEL MÉTODO A VALIDAR.

Las características deseables del método de ensayo PROC – TC – 184 Procedimiento para la determinación de Cannabinoides fueron consignadas en el numeral 5 del plan de validación PLN-TC-184-02 Plan de validación del ensayo de cannabinoides.


6. DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS O CARACTERÍSTICAS DE VALIDACIÓN.

Los requisitos correspondientes a los parámetros de desempeño evaluados, que permitieron para establecer la aptitud del método analítico son:

PARAMETRO	CRITERIO	UNIDADES
Selectividad	Establecer las ventanas de tiempos de retención para cada mensurando	
Límite de detección	0.2 S/N >3.3	ug/ml
Límite de cuantificación	0.5 S/N >10	ug/ml
Veracidad	Veraz para el rango de trabajo evaluado y para cada mensurando	
Exactitud	R% 90% - 110%	%

7. VERIFICACIÓN DE CUMPLIMIENTO DE PARÁMETROS O CARACTERÍSTICAS DE VALIDACIÓN.

A continuación, se muestra la tabla comparativa que muestra los valores de los requisitos a cumplir y los valores obtenidos por la aplicación del método.

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10


PARAMETRO	CRITERIO	UNIDADES	CUMPLE SI/NO
Selectividad	Ventanas de tiempo de retención no traslapadas		CUMPLE
Límite de detección	0.2	ug/ml	CUMPLE
Límite de cuantificación	0.5	ug/ml	CUMPLE
Exactitud*	R% 90% - 110%	%	CUMPLE
Veracidad	Veraz para el rango de trabajo evaluado y para cada mensurando		CUMPLE

El laboratorio AOXLAB de acuerdo con los resultados obtenidos estableció declarar el valor máximo obtenido como resultado de la evaluación de cada atributo sobre las matrices evaluadas con el propósito de tener siempre presente el peor escenario en el desempeño del método analítico

7.1 RESULTADOS OBTENIDOS POR CADA MATRIZ EVALUADA

7.1.1 Selectividad

La especificidad del método analítico se evaluó para los mensurandos CBDA, CBD, CBN, $\Delta 8$ -THC y $\Delta 9$ -THC a través del establecimiento de las ventanas de tiempo de retención. Estos intervalos fueron determinados de acuerdo con las directrices establecidas en el procedimiento PROC-TC-012, a partir de 18 inyecciones a seis niveles de concentración, realizadas en condiciones de repetibilidad. Dichos intervalos se calcularon con una confiabilidad del 99%, siguiendo una distribución t de Student con n-1 grados de libertad. Las ventanas de tiempo de retención para cada mensurando se muestran a continuación:

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

TRAZABILIDAD	Tiempo de retención (min)				
	CBDA	CBD	CBN	Δ8-THC	Δ9-THC
LINEALIDAD DEL SISTEMA N1_L-1_024,lcd	3,44	4,07	5,66	6,51	6,64
LINEALIDAD DEL SISTEMA N1_L-2_025,lcd	3,44	4,07	5,65	6,51	6,64
LINEALIDAD DEL SISTEMA N1_L-3_026,lcd	3,44	4,07	5,65	6,51	6,64
LINEALIDAD DEL SISTEMA N2_L-1_027,lcd	3,44	4,07	5,65	6,51	6,64
LINEALIDAD DEL SISTEMA N2_L-2_028,lcd	3,44	4,08	5,66	6,51	6,64
LINEALIDAD DEL SISTEMA N2_L-3_029,lcd	3,44	4,07	5,65	6,51	6,64
LINEALIDAD DEL SISTEMA N3_L-1_030,lcd	3,44	4,07	5,65	6,51	6,64
LINEALIDAD DEL SISTEMA N3_L-2_031,lcd	3,44	4,07	5,65	6,50	6,63
LINEALIDAD DEL SISTEMA N3_L-3_032,lcd	3,44	4,07	5,65	6,51	6,64
LINEALIDAD DEL SISTEMA N4_L-1_033,lcd	3,44	4,07	5,65	6,51	6,64
LINEALIDAD DEL SISTEMA N4_L-2_034,lcd	3,44	4,08	5,66	6,52	6,65
LINEALIDAD DEL SISTEMA N4_L-3_035,lcd	3,45	4,08	5,67	6,53	6,66
LINEALIDAD DEL SISTEMA N5_L-1_036,lcd	3,46	4,09	5,67	6,53	6,66
LINEALIDAD DEL SISTEMA N5_L-2_037,lcd	3,46	4,09	5,68	6,53	6,66
LINEALIDAD DEL SISTEMA N5_L-3_038,lcd	3,46	4,10	5,68	6,54	6,67
LINEALIDAD DEL SISTEMA N6_L-1_039,lcd	3,46	4,10	5,68	6,54	6,67
LINEALIDAD DEL SISTEMA N6_L-2_040,lcd	3,46	4,10	5,68	6,54	6,67
LINEALIDAD DEL SISTEMA N6_L-3_041,lcd	3,47	4,11	5,69	6,55	6,68
PROMEDIO	3,4478	4,0811	5,6628	6,5206	6,6506
D,S,	0,0106	0,0137	0,0141	0,0147	0,0147
	3,414	4,037	5,618	6,473	6,603
VENTANA DE TIEMPO DE RETENCIÓN (min)	3,482	4,125	5,708	6,568	6,698
ANCHO DE LA VENTANA (min)	0,0678	0,0874	0,0899	0,0943	0,0943


La tabla anterior muestra que no se presentan solapamientos en las ventanas de tiempo de retención para los compuestos de interés, lo cual permite afirmar, que las ventanas de tiempo de retención calculadas para los compuestos anteriores garantizan la especificidad del método analítico.

Por otro lado, La comparación del resultado de inyecciones para volumen muerto, fase móvil, fase móvil B (Diluyente) estándar (CBDA- CBD- CBN- Δ9-THC y Δ8-THC) a concentraciones de 8 y 80 µg/mL, y Cristales de CBD, se muestran en la tabla siguiente y los cromatogramas se encuentran en el anexo No. 1:

MUESTRA	COMPONENTES ENCONTRADOS	TIEMPO DE RETENCIÓN (min)	Área	INTERFERENCIA (%)	RESOLUCIÓN (PEOR CASO)	PLATOS TEÓRICOS	RRT
Volumen 0	N.D	N.A	N.A	N.D	N.A	N.A	N.A
Fase Móvil	N.D	2,13	781	N.D	N.A	N.A	0,5200
Fase B	N.D	6,80	8690	N.D	N.A	N.A	1,6800

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

MUESTRA	COMPONENTES ENCONTRADOS	TIEMPO DE RETENCIÓN (min)	Área	INTERFERENCIA (%)	RESOLUCIÓN (PEOR CASO)	PLATOS TÉCNICOS	RRT	
Estándar Mix estándares 8ug/mL	CBDA	3,42	87601	N.D	1,3000	15100	0,85	
	CBD	4,05	76794	N.D		18400	1,00	
	CBN	5,64	120000	N.D		46000	1,39	
	Δ9-THC	6,50	72109	N.D		67000	1,60	
	Δ8-THC	6,63	64638	N.D		70000	1,63	
Estándar Mix estándares 80ug/mL	CBDA	3,42	957175	N.D	1,3000	15200	0,84	
	CBD	4,05	822202	N.D		18200	1,00	
	CBN	5,64	1295854	N.D		46200	1,39	
	Δ9-THC	6,50	762332	N.D		66300	1,60	
	Δ8-THC	6,63	686927	N.D		68900	1,64	
Producto terminado d1	Señal 1	1,45	15560	N.D	1,3000	4228	0,36	
	Señal 2	1,57	17503	N.D		4867	0,39	
	Señal 3	1,86	18617	N.D		6843	0,46	
	Señal 4	2,45	26622	N.D		9695	0,60	
	Señal 5	2,58	48348	N.D		11543	0,64	
	Señal 6	3,18	130603	N.D		130709	0,79	
	CBDA	3,43	8450	N.D		13825	0,85	
	CBD	4,03	23796170	N.D		9126	0,99	
	Señal 7	5,18	15218	N.D		36702	1,28	
	Señal 8	6,28	11259	N.D		25689	1,55	
	Δ9-THC	6,51	15543	N.D		68184	1,60	
	Señal 9	7,34	8928	N.D		91219	1,81	
	Producto terminado d50	CBD	4,05	824459	N.D	N.A	18130	1,00
CBDA 20ug/mL	Señal 1	1,42	3073		1,3000	2,7000	3505	0,35
	Fase Móvil	2,12	944	N.D			10980	0,52
	Señal 6	3,14	1211		0,5000		14520	0,77
	CBDA	3,43	232336		0,9700		15099	0,85
	CBD	4,06	2927		1,2300		18809	1,00
CBD 20ug/mL	Señal 3	1,86	574		0,0030	3,5000	9426	0,46
	Fase Móvil	2,12	1176	N.A			11970	0,52
	CBD	4,07	180986		0,9970		18372	1,00
CBN 20ug/mL	Señal 3	1,85	1768		0,0060	2,7000	8683	0,46
	Fase Móvil	2,12	994	N.A			12012	0,52

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

MUESTRA	COMPONENTES ENCONTRADOS	TIEMPO DE RETENCIÓN (min)	Área	INTERFERENCIA (%)	RESOLUCIÓN (PEOR CASO)	PLATOS TÉCNICOS	RRT
	Señal asociada a CBN	2,30	1232	0,0040		13196	0,57
	CBN	5,65	292300	0,9900		46312	1,39
Δ9-THC 20ug/mL	Señal 3	1,85	1395	0,0070	2,3000	8901	0,46
	Fase Móvil	2,12	1181	N.A		11717	0,52
	Señal asociada a Δ9-THC	2,30	925	0,0050		13908	0,57
	Δ9-THC	6,50	190601	0,9880		66557	1,60
	Señal 3	1,85	1555	0,0100	2,3000	9160	0,46
Δ8-THC 20ug/mL	Fase Móvil	2,12	1525	N.A		11948	0,52
	Señal asociada a Δ8-THC	2,30	1200	0,0080		13255	0,57
	Δ8-THC	6,6300	154425	0,9820		70865	1,64

Los cromatogramas obtenidos muestran que a partir de los 8 minutos el ruido aumenta por incidencia del gradiente del sistema cromatográfico.

La señal característica de la fase móvil no interfiere con ningún pico de interés. Lo mismo sucede con la señal que aporta la fase B.

Otras señales presentes no interfieren con los cannabinoides identificados.


La señal 1 con un RRT de 0,35 también se puede observar en la muestra d1, a 0,52 se observa el pico característico de la fase móvil y se observa una generación de CBD.

La señal a 0,46 se encuentra presente en la muestra d1, en el CBN, CBD, y los 2 isómeros de THC. También se observa una señal a 0,57 que la presenta los isómeros de THC pero que no se encuentra en la muestra analizada, aunque no se observa la presencia en la muestra d1.

El análisis anterior, también demuestra la selectividad del método de ensayo y, por lo tanto, este parámetro se aprueba.


7.1.2 Exactitud

La exactitud se evaluó, enriqueciendo una solución de aislado de CBD, de acuerdo con lo descrito en el plan PLN-TC-184-02. Para esto, se enriqueció la solución a niveles de 60 ug/ml, 80 ug/ml y 100 ug/ml en CBD y a 4 ug/ml, 8 ug/ml y 12 ug/ml para CBDA, CBN, Δ8-THC y Δ9-THC. Los resultados obtenidos se muestran a continuación:

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10


Concentración CBD (ug/mL)	AREA	CONCENTRACIÓN HALLADA (µg/mL) PROMEDIO	PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN INDIVIDUAL	PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN PROMEDIO
3.1 Muestra 60 g/mL	680872	62,4	96,7	96,8
	681865	62,5	96,9	
	680454	62,4	96,7	
3.2 Muestra 80 ug/mL	927815	85,0	100,6	100,6
	928613	85,1	100,6	
	926929	85,0	100,5	
3.3 Muestra 100 ug/mL	1151187	105,5	100,9	100,7
	1148125	105,2	100,6	
	1150254	105,4	100,8	
PROMEDIO				99,36
DESVIACION ESTANDAR				1,946
CV.				1,959
t_{cal}=				0,574
t_{taba} α=0,05, n-1=				4,303
CONCLUSION				EL METODO ES VERAZ

Concentración CBDA (ug/mL)	AREA	CONCENTRACIÓN HALLADA (µg/mL) PROMEDIO	PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN INDIVIDUAL	PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN PROMEDIO
3.1 Muestra 4,0 g/mL	43457	4,0	100,8	100,9
	43518	4,0	101,0	
	43510	4,0	100,9	
3.2 Muestra 8,0 ug/mL	91070	8,5	105,6	105,6
	91019	8,5	105,6	
	90937	8,4	105,5	
3.3 Muestra 12 ug/mL	134249	12,5	103,8	103,8
	134231	12,5	103,8	
	134344	12,5	103,9	
PROMEDIO				103,44
DESVIACION ESTANDAR				2,042
CV.				1,974
t_{cal}=				2,919
t_{taba} α=0,05, n-1=				4,303
CONCLUSION				EL METODO ES VERAZ

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

Concentración CBN (ug/mL)	AREA	CONCENTRACIÓN HALLADA (µg/mL) PROMEDIO	PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN INDIVIDUAL	PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN PROMEDIO
3.1 Muestra 4,0 g/mL	63764	4,1	102,0	101,9
	63662	4,1	101,8	
	63798	4,1	102,0	
3.2 Muestra 8,0 ug/mL	133359	8,6	106,6	106,6
	133465	8,6	106,7	
	133229	8,6	106,5	
3.3 Muestra 12 ug/mL	197432	12,7	105,2	105,1
	196912	12,6	104,9	
	197061	12,7	105,0	
PROMEDIO				104,53
DESVIACION ESTANDAR				2,391
CV.				2,288
t_{cal}=				3,282
t_{taba} α=0,05, n-1=				4,303
CONCLUSION				EL METODO ES VERAZ

Concentración Δ9-THC (ug/mL)	AREA	CONCENTRACIÓN HALLADA (µg/mL) PROMEDIO	PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN INDIVIDUAL	PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN PROMEDIO
3.1 Muestra 4,0 g/mL	37735	4,0	100,2	100,6
	37825	4,0	100,5	
	38039	4,0	101,0	
3.2 Muestra 8,0 ug/mL	80001	8,5	106,3	106,1
	79870	8,5	106,1	
	79678	8,5	105,8	
3.3 Muestra 12 ug/mL	118294	12,6	104,7	104,7
	117938	12,5	104,4	
	118354	12,6	104,8	
PROMEDIO				103,77
DESVIACION ESTANDAR				2,841
CV.				2,738
t_{cal}=				2,296
t_{taba} α=0,05, n-1=				4,303
CONCLUSION				EL METODO ES VERAZ

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10


Concentración $\Delta 8$ -THC (ug/mL)	AREA	CONCENTRACIÓN HALLADA (ug/mL) PROMEDIO	PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN INDIVIDUAL	PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN PROMEDIO
3.1 Muestra 4,0 g/mL	32377	4,1	103,1	103,6
	32722	4,2	104,2	
	32482	4,2	103,4	
3.2 Muestra 8,0 ug/mL	67711	8,7	107,8	108,2
	67974	8,7	108,2	
	68248	8,7	108,6	
3.3 Muestra 12 ug/mL	100513	12,9	106,7	106,8
	100763	12,9	106,9	
	100737	12,9	106,9	
		PROMEDIO	106,21	
		DESVIACION ESTANDAR	2,391	
		CV.	2,251	
		$t_{cal} =$	4,495	
		$t_{taba \alpha=0,05, n-1} =$	4,303	
		CONCLUSION	EL METODO NO ES VERAZ	

Los resultados obtenidos muestran que para los cinco compuestos se tuvieron resultados de recuperación entre el 90% y el 110%, cumpliendo los requisitos establecidos en el plan PLN-TC-184-02. Lo anterior permite declarar el parámetro como aprobado.

7.1.3 Veracidad

La veracidad se evaluó aplicando un contraste t de Student a un nivel de confianza del 95% y n-1 grados de libertad, sobre los resultados de porcentaje de recuperación calculado en el numeral anterior, para evaluar la compatibilidad de la recuperación obtenida con el valor de 100%.

Al comparar el valor de t calculado (t_{cal}) con su respectivo valor crítico ($t_{taba \alpha=0,05, n-1}$), encontramos que los primeros son menores que los últimos, excepto para el $\Delta 8$ -THC. Esto arroja como conclusión que el método analítico es veraz para los mensurandos, exceptuando el $\Delta 8$ -THC. Teniendo en cuenta que de acuerdo con lo descrito en el numeral 7.1.2, se cumplen las metas de exactitud propuestas, los resultados obtenidos mediante la aplicación del método de ensayo se consideran exactos. En el caso en el cual se requiera una determinación rigurosa de $\Delta 8$ -THC, deberán corregirse los resultados por recuperación. El parámetro veracidad se aprueba.

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

7.1.4 Límite de detección


El límite de detección se comprobó a través de la verificación de una solución de 0.2 ug/ml inyectada 10 veces en condiciones de repetibilidad, de acuerdo con lo establecido en el plan PLN-TC-184-02. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla siguiente:

MENSURANDO		CBDA	CBD	CBN	Δ9-THC	Δ8-THC
Concentración teórica (ug/mL)	TRAZABILIDAD	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
1	LIMITE DE DETECCION_L-01_011.lcd	0,17	0,24	0,21	0,22	0,23
2	LIMITE DE DETECCION_L-02_012.lcd	0,17	0,23	0,21	0,22	0,25
3	LIMITE DE DETECCION_L-03_013.lcd	0,17	0,25	0,22	0,21	0,24
4	LIMITE DE DETECCION_L-04_014.lcd	0,18	0,26	0,21	0,21	0,21
5	LIMITE DE DETECCION_L-05_015.lcd	0,17	0,25	0,21	0,22	0,24
6	LIMITE DE DETECCION_L-06_016.lcd	0,17	0,25	0,21	0,21	0,21
7	LIMITE DE DETECCION_L-07_017.lcd	0,17	0,25	0,22	0,21	0,22
8	LIMITE DE DETECCION_L-08_018.lcd	0,17	0,25	0,21	0,2	0,22
9	LIMITE DE DETECCION_L-09_019.lcd	0,17	0,25	0,21	0,22	0,23
10	LIMITE DE DETECCION_L-10_020.lcd	0,17	0,25	0,21	0,2	0,21
Promedio ug/mL		0,171	0,248	0,212	0,212	0,226
D.E.		0,003	0,008	0,004	0,008	0,014
RSD% <10%		1,85%	3,18%	1,99%	3,72%	6,33%
E. R.%		-14,50%	24,00%	6,00%	6,00%	13,00%
S/N > 3,3		9,4	11,9	17,7	10,8	8,7
CRITERIO		Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple

De acuerdo con el plan PLN-TC-184-02, los criterios de aceptación para el establecimiento del límite de detección, era que la precisión fuera menor al 20%, expresada como coeficiente de variación criterio que se superó ampliamente. El segundo criterio establecido en el mismo plan, consistía en que la relación señal / ruido fuera superior a 3.3, criterio que también fue alcanzado con éxito. Lo anterior, permite declarar que el límite de detección establecido es de 0.2 ug/ml.

7.1.5 Límite de cuantificación

El límite de cuantificación se comprobó a verificando una verificación de una solución de 0.5 ug/ml inyectada 10 veces en condiciones de repetibilidad, de acuerdo con lo establecido en el plan PLN-TC-184-02. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla siguiente:


	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

MENSURANDO		CBDA	CBD	CBN	Δ9-THC	Δ8-THC
Concentración teórica (ug/mL)	TRAZABILIDAD	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
1	LIMITE DE CUANTIFICACION_L-01_021.lcd	0,45	0,60	0,54	0,54	0,56
2	LIMITE DE CUANTIFICACION_L-02_022.lcd	0,45	0,59	0,55	0,54	0,54
3	LIMITE DE CUANTIFICACION_L-03_023.lcd	0,45	0,58	0,54	0,53	0,54
4	LIMITE DE CUANTIFICACION_L-04_024.lcd	0,44	0,59	0,54	0,53	0,53
5	LIMITE DE CUANTIFICACION_L-05_025.lcd	0,45	0,59	0,54	0,55	0,56
6	LIMITE DE CUANTIFICACION_L-06_026.lcd	0,44	0,59	0,55	0,54	0,54
7	LIMITE DE CUANTIFICACION_L-07_027.lcd	0,44	0,59	0,53	0,53	0,54
8	LIMITE DE CUANTIFICACION_L-08_028.lcd	0,45	0,60	0,54	0,53	0,56
9	LIMITE DE CUANTIFICACION_L-09_029.lcd	0,45	0,59	0,53	0,53	0,54
10	LIMITE DE CUANTIFICACION_L-10_030.lcd	0,43	0,58	0,54	0,52	0,54
Promedio ug/mL		0,445	0,590	0,540	0,534	0,545
D.E.		0,007	0,007	0,007	0,008	0,011
RSD% <10%		1,59%	1,13%	1,23%	1,58%	1,98%
E. R.%		-11,00%	18,00%	8,00%	6,80%	9,00%
S/N > 3,3		19,9	22,9	36,8	22,7	19,7
CRITERIO		Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple

De acuerdo con los criterios establecidos en el plan de validación, la precisión estimada como coeficiente de variación debe ser menor del 20%, condición que el método superó ampliamente. Del mismo modo, los resultados consignados en la tabla anterior, permiten evidenciar que la exactitud expresada como E. R.%, obtenida para cada uno de los mensurandos fue menor al criterio establecido en el plan de validación. Esto permite declarar que el límite de cuantificación para el método es de 0.5 ug/ml.

8. CONCLUSIONES DE LA VALIDACIÓN.

Con base en los resultados presentados y analizados en el presente informe, junto con los contenidos en el documento ICR-TC-184-01, la Directora Técnica de AOXLAB S. A. S., declara que no existe aún evidencia suficiente sobre el desempeño del método que permita declarar la aptitud del mismo para el uso previsto.

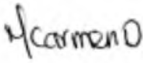
	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

9. INFORME.

El presente informe es aprobado por la Directora Técnica y debe estar disponible para consulta permanente en los archivos correspondientes a este ensayo.

9.1 Firmas del personal de validación.

Realizó:



Nombre y firma
Analistas

Revisó:




Nombre y firma
Líder Laboratorio

Aprobó:



Nombre y firma
Director técnico

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

10. RESPONSABILIDADES.

10.1 Líder de Calidad.

Asegurar la aplicación del presente documento y tomar decisiones en casos especiales no contemplados.

10.2 Líder de Laboratorio.

Asegurar la aplicación del presente documento por el personal subordinado o supervisado.

10.3 Analistas.

Aplicar el presente documento.

11. FORMATOS RELACIONADOS.

N. A.

12. ANEXOS.

Cromatogramas obtenidos durante los análisis cromatográficos realizados.

Datos primarios relacionados con la ejecución de los ensayos, consignados en el formato FOR-TC-149.

Registros de preparación de soluciones de estándares en FOR-TC-045.

	Plan de Validación o Verificación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S	Identificación: FOR-TC-013
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2017/08/01

PLN-TC-184-03

Plan de validación del ensayo de determinación de Cannabinoides

AOXLAB S.A.S.

	Plan de Validación o Verificación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S	Identificación: FOR-TC-013
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2017/08/01

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.....	4
3. REFERENCIAS.....	4
4. ESPECIFICACIÓN DE LOS REQUISITOS DEL MÉTODO A CONFIRMAR.....	4
5. DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS O CARACTERÍSTICAS DE CONFIRMACIÓN.....	5
5.1 CARACTERISITICAS DE DESEMPEÑO A EVALUAR.....	5
5.2 DISEÑO EXPERIMENTAL.....	5
5.2.1 Condiciones generales.....	5
5.2.2 Materiales, equipos y reactivos.....	6
6. VERIFICACIÓN DE CUMPLIMIENTO DE PARÁMETROS O CARACTERÍSTICAS DE VALIDACION.....	7
7. CONCLUSIONES DE LA CONFIRMACIÓN.....	7
8. INFORME.....	7
9. RESPONSABILIDADES.....	7
9.1 Director Técnico.....	7
9.2 Líder de Laboratorio.....	7
9.3 Analistas.....	7
10. FORMATOS RELACIONADOS.....	8
11. ANEXOS.....	8

	Plan de Validación o Verificación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S	Identificación: FOR-TC-013
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2017/08/01

1. OBJETIVO Y ALCANCE.

1.1 Objetivo.

Establecer la lista de características de desempeño a evaluar, los respectivos criterios de aceptación y describir el diseño experimental para realizar la validación del método analítico PROC – TC – 184 Procedimiento para la determinación de Cannabinoides, mediante la técnica de cromatografía líquida (HPLC) con detector de arreglo de diodos (DAD). Este método de ensayo es un desarrollo de Shimadzu Scientific Instruments.

El desempeño del método analítico será evaluado sobre material vegetal

La validación del procedimiento analítico se realizará atendiendo los requisitos establecidos por la norma ISO/IEC 17025:2017 y el procedimiento PROC-TC-012.

1.2 Alcance.

Aplica para la validación del procedimiento analítico PROC – TC – 184 Procedimiento para la determinación de Cannabinoides, ejecutado sobre las matrices relacionadas en el numeral 1.1

2. DEFINICIONES Y NOTACIONES.

2.1 Definiciones.

Para el presente documento aplicarán las definiciones establecidas en el numeral 2.1 del procedimiento PROC – TC- 012 [1]

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 al elemento o material bajo ensayo.

3. REFERENCIAS.

[1] PROC – TC – 012. Procedimiento para la validación o confirmación de métodos analíticos.

[2] PROC – TC – 184 Procedimiento para la determinación de Cannabinoides

4. ESPECIFICACIÓN DE LOS REQUISITOS DEL MÉTODO A CONFIRMAR.

El método bajo validación debe cumplir los siguientes requisitos, a fin de que sea considerado como apto o válido para el uso previsto.

El método debe permitir la identificación y cuantificación de los siguientes compuestos:

- Tetrahidrocannabinol (THC)

	Plan de Validación o Verificación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S	Identificación: FOR-TC-013
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2017/08/01

- Ácido Tetrahydrocannabinólico (THCA)
- Cannabidiol (CBD)
- Cannabinol (CBN)
- Ácido cannabidiólico (CBDA)
- Cannabicromeno (CBC)

Así mismo, el método debe lograr un límite de cuantificación de 1 mg/g.

5. DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS O CARACTERÍSTICAS DE CONFIRMACIÓN.

5.1 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO A EVALUAR

Como resultado del ejercicio de validación del procedimiento se debe evidenciar que el procedimiento de ensayo cumple con los siguientes parámetros de desempeño para todos y cada uno de los mensurandos especificados en el numeral 4:

PARAMETRO	CRITERIO	UNIDADES
Límite de cuantificación	1.0	mg/g
Exactitud	E. R. % máximo 20%	%
Veracidad	Veraz para el rango de trabajo evaluado y para cada mensurando	/
Precisión	C. V. % máximo 20%	%

La exactitud, la precisión y la veracidad se evaluarán sobre material de referencia certificado Ground Hemp de la marca Absolute Standards Inc, identificado con la referencia 54999B y número de lote 101419, vigente hasta 2022-10-14.

Nota: aun cuando el alcance del método de ensayo descrito en el procedimiento PROC-TC-184 abarca 11 analitos, el alcance del presente plan deberá limitarse a aquellos descritos en el numeral 5, debido a que no hay disponible en el mercado un CRM que contenga el perfil de cannabinoides completo en los niveles de concentración que abarca el procedimiento analítico a validar.

5.2 DISEÑO EXPERIMENTAL

5.2.1 Condiciones generales

Los parámetros son determinados de acuerdo con las siguientes instrucciones: Se realizarán seis ensayos independientes sobre el material de referencia descrito en el numeral anterior. Estos serán procesados y analizados por la analista María Carmen Domínguez (MCDG). Teniendo en cuenta el material de referencia certificado del cual se dispone en el laboratorio contiene un nivel de concentración

	Plan de Validación o Verificación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S	Identificación: FOR-TC-013
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2017/08/01

fuera del intervalo de trabajo del método analítico, se realizarán inyecciones directas del extracto de material vegetal. Esta directriz, se establece, dado que el CBN constituye un atributo importante en el control de calidad de los productos de Cannabis, El resultado que se espera para este compuesto, es que se pueda identificar positivamente durante la realización del presente ejercicio de validación

5.2.2 Materiales, equipos y reactivos

Los equipos que se utilizarán para la realización del ejercicio de validación son:

EQUIPO	ID
Cromatógrafo Líquido de alta resolución	0207
Balanza analítica	006 /235
Vortex Mixer	239
Micropipeta	0012
Ultra sonido	0128
Centrífuga	0007

Los equipos deben contar con el respectivo mantenimiento preventivo programado, calificación y/o calibración vigente.

El material con el cual se realizará el ejercicio de validación es el siguiente:

MATERIAL	ID	CANTIDAD	CALIBRACIÓN
Tubos Eppendorf de 1.5 ml	N. A.	10	
Tubos Falcon de 50 ml	N. A.	10	
Biales de vidrio ámbar con tapa rosca	N. A.	10	
Micropipeta de volumen variable 200 ul	012	1	Vigente
Jeringas plásticas	N. A.	10	
Puntas para Micropipeta de 200 ul	N. A.	10	
Filtros plásticos 0.22 um	N. A.	10	
Micropipeta de volumen variable 1000 ul	017	1	Vigente
Puntas para Micropipeta de 1000 ul	N. A.	10	

Los reactivos empleados para la preparación de soluciones y estándares se relacionan en la tabla siguiente:

Metanol HPLC >99.9%
Acetonitrilo HPLC >99.9%
Isopropanol HPLC >99.9%
Ácido fosfórico 85%
CRM Material vegetal Lote 101419

Estos deben contar con certificado de análisis vigente

	Plan de Validación o Verificación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S	Identificación: FOR-TC-013
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2017/08/01

El ensayo del CRM deberá realizarse siguiendo las directrices establecidas en el procedimiento PROC-TC-184, incorporando en los lotes de ensayo los controles de calidad establecidos en dicho procedimiento.

6. VERIFICACIÓN DE CUMPLIMIENTO DE PARÁMETROS O CARACTERÍSTICAS DE VALIDACION.

La verificación de cumplimiento de los parámetros o características del método a validar es realizada a través de una tabla comparativa entre los valores de los requisitos a cumplir (numeral 5.1) y los valores obtenidos por la aplicación del método en cada matriz.

Utilizar el formato FOR-TC-047 Formato de informe de confirmación de método analítico.

7. CONCLUSIONES DE LA CONFIRMACIÓN.

Al término de la confirmación, se emitirá una declaratoria acerca de la aptitud del laboratorio para operar el método normalizado, en función de los resultados obtenidos.

Esta declaratoria es registrada en el formato FOR-TC-047 Formato de informe de confirmación de método analítico.

8. INFORME.

La validación del método es reportada en un Informe de Confirmación, que incluye al menos: a) los resultados obtenidos, b) el procedimiento utilizado para la confirmación y c) una declaración sobre la aptitud del laboratorio para operar el método normalizado.

Usar el formato FOR-TC-047 Formato de informe de confirmación de método analítico.

9. RESPONSABILIDADES.

9.1 Director Técnico.

Revisar y aprobar el presente plan de validación

Asegurar los recursos para la ejecución del plan de validación.

Brindar orientación técnica durante la ejecución del plan de validación.

9.2 Líder de Laboratorio.

Asegurar la aplicación del presente documento por el personal subordinado o supervisado.

9.3 Analistas.

Preparar los reactivos y materiales requeridos para ejecutar el plan de validación, de acuerdo con las instrucciones establecidas en este documento

Realizar los ensayos de acuerdo con el procedimiento de ensayo y el diseño experimental establecido.

	Plan de Validación o Verificación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S	Identificación: FOR-TC-013
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2017/08/01

10. FORMATOS RELACIONADOS.

FOR-TC-047 Formato de informe de confirmación de método analítico.

11. ANEXOS.


ANEXO 1: FICHA RESUMEN DEL PLAN DE VALIDACION

IDENTIFICACIÓN DEL MÉTODO DE ENSAYO VALIDADO

Nombre completo del método: Determinación de Cannabinoides Método de referencia: Shimadzu – Cannabis analyzer. Procedimiento interno: PROC – TC - 184								
Tipo de método:	Cualitativo		Cuantitativo	X				
Origen del método	Normalizado		No Normalizado	X				
	Normalizado modificado		Interno					
Mensurandos: <ul style="list-style-type: none"> • Tetrahidrocannabinol (THC) • Ácido Tetrahydrocannabinolico (THCA) • Cannabidiol (CBD) • Ácido cannabidiolico (CBDA) • Cannabicromeno (CBC) Unidades: % Matrices: <ul style="list-style-type: none"> • Material vegetal 			Responsables por la validación <table border="1"> <thead> <tr> <th>Responsable</th> <th>Firma</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>MCDG</td> <td><i>H. Carmona</i></td> </tr> </tbody> </table>		Responsable	Firma	MCDG	<i>H. Carmona</i>
Responsable	Firma							
MCDG	<i>H. Carmona</i>							
			Fecha de entrega del informe de la validación: Enero 17 de 2020					

PARÁMETROS DE VALIDACIÓN

Selectividad		Linealidad / intervalo de trabajo	
Sensibilidad		Límite de detección	
Límite de cuantificación	X	Veracidad	X
Repetibilidad		Reproducibilidad	X
Robustez		Exactitud	X

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10


DOCUMENTO CONTROLADO

ICR-TC-184-03

Informe de validación del ensayo de cannabinoides

AOXLAB S.A.S.


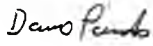
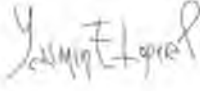
*** PROC – TC – 184 Procedimiento para la determinación de Cannabinoides**

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

DOCUMENTO CONTROLADO

ICR-TC-184-03 Informe de validación del ensayo de cannabinoides


Copia controlada No.: 1

	Nombre	Puesto o función	Firma	Fecha
Elaboró:	Wlner Ferney Ruiz Patiño	Líder Laboratorio		2020-01-14
Revisó:	Darío Pardo	Líder de Calidad		2020-01-14
Aprobó:	Yasmín Eliana Lopera Pérez	Gerente y Director Técnico		2020-01-14
Localización del documento:		http://107.190.139.42/~aoxlabsgc/sig/		

Control de Cambios

Estado	Fecha de Inicio de vigencia	Revisión	Descripción del cambio realizado	Realizó	Revisó	Aprobó
Vigente	2020-01-14	1	Ninguno (versión original).	WFRP	DPP	JCO

* PROC – TC – 184 procedimiento de ensayo cannabinoides

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

Informe de validación del ensayo de cannabinoides


ICR-TC-184-03
2020/01/08

FOR-TC-047


AOXLAB S.A.S

ÍNDICE

1. OBJETIVO Y ALCANCE.....	5
----------------------------	---

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

1.1	Objetivo.....	5
1.2	Alcance.....	5
2.	DEFINICIONES Y NOTACIONES.....	5
2.1	Definiciones.....	5
2.2	Notaciones.....	7
3.	REFERENCIAS.....	7
4.	DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO A VALIDAR.....	8
5.	ESPECIFICACIÓN DE LOS REQUISITOS DEL MÉTODO A VALIDAR.....	8
6.	DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS O CARACTERÍSTICAS DE VALIDACIÓN.....	8
7.	VERIFICACIÓN DE CUMPLIMIENTO DE PARÁMETROS O CARACTERÍSTICAS DE VALIDACIÓN.....	8
7.1	RESULTADOS OBTENIDOS POR CADA MATRIZ EVALUADA.....	9
7.1.1	Límite de cuantificación.....	9
7.1.2	Precisión.....	10
7.1.3	Exactitud.....	10
7.1.4	Veracidad.....	11
8.	CONCLUSIONES DE LA VALIDACIÓN.....	12
9.	INFORME.....	12
9.1	Firmas del personal de validación.....	12
10.	RESPONSABILIDADES.....	13
10.1	Líder de Calidad.....	13
10.2	Líder de Laboratorio.....	13
10.3	Analistas.....	13
11.	FORMATOS RELACIONADOS.....	13
12.	ANEXOS.....	13

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

1. OBJETIVO Y ALCANCE.

1.1 Objetivo.

Evaluar los resultados obtenidos del ejercicio de validación del método analítico PROC – TC – 184 procedimiento de ensayo de cannabinoides, el cual es un desarrollo de Shimadzu Scientific Instruments, de acuerdo con el diseño experimental y criterios de aceptación establecidos en PROC-TC-012 y PLN-TC-184-03 Plan de Validación del ensayo de cannabinoides y atendiendo los requisitos establecidos por la norma ISO/IEC 17025:2017 [1].

1.2 Alcance.

Las conclusiones y declaraciones consignadas en el presente documento están basadas sobre los resultados obtenidos del desafío del procedimiento PROC – TC – 184 procedimiento de ensayo para perfil de cannabinoides, siguiendo fielmente el diseño experimental establecido en PLN-TC-184-03 Plan de Validación del ensayo de cannabinoides.

2. DEFINICIONES Y NOTACIONES.

2.1 Definiciones.

Analito [6].

Componente de un sistema a ser medido químicamente.

Blanco [6].

Material que es similar en matriz y estado físico de preparación a las muestras que están siendo analizadas como muestras problema, pero que no contiene el analito nativo y que es usado con el propósito de dar seguimiento a diferentes aspectos del proceso analítico.

Documento [2].

Información y su medio de soporte.

Ensayo/prueba [2].

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

Incertidumbre [3].


Parámetro no negativo que caracteriza la dispersión de los valores atribuidos a un mensurando, a partir de la información que se utiliza.

Intervalo de trabajo [6].

Intervalo de concentraciones analíticas o los valores de las propiedades sobre las cuales el método va a ser aplicado. Dentro del intervalo de trabajo puede existir un intervalo de respuesta lineal. Dentro de este intervalo lineal de respuesta habrá una relación lineal con la concentración del analito.

Límite de cuantificación [6].

Concentración mínima del analito en una muestra que puede determinarse con un nivel de incertidumbre aceptable, bajo las condiciones de operación establecidas.

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

Límite de detección [6].

Mínima concentración de un analito o sustancia en una muestra, la cual puede ser detectada pero no necesariamente cuantificada bajo las condiciones en que se lleva a cabo el método.

Material de referencia certificado [3].

Material de referencia acompañado por la documentación emitida por un organismo autorizado, que proporciona uno o varios valores de propiedades especificadas, con incertidumbres y trazabilidades asociadas, empleando procedimientos válidos.

Precisión [3].

Proximidad entre las indicaciones o los valores medidos obtenidos en mediciones repetidas de un mismo objeto, o de objetos similares, bajo condiciones especificadas.

Procedimiento [2].

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

Recuperación [6].

Proporción del analito presente o adicionado a una muestra que sirve para evaluar la eficiencia del método de ensayo.

Repetibilidad [3].

Precisión de medida bajo un conjunto de condiciones de repetibilidad.

Reproducibilidad [3].

Precisión de medida bajo un conjunto de condiciones de reproducibilidad

Robustez [6].

Medida de la capacidad de un método de ensayo de permanecer inalterado por variaciones pequeñas, pero deliberadas, en los parámetros del método y proporciona una indicación de su confiabilidad durante su uso normal.

Selectividad [6].

Capacidad de un método para determinar exacta y específicamente un analito de interés en presencia de otros componentes en la matriz bajo las condiciones de ensayos establecidos y puede ser:


Cualitativa: el grado en el cuál otras sustancias interfieren con la determinación de una sustancia de acuerdo con un procedimiento dado y/o

Cuantitativa: un término usado en conjunto con otros términos (por ejemplo: constante, coeficiente, índice, factor, número) para la caracterización cuantitativa de interferencias.

Sensibilidad [6].

La pendiente de la curva de calibración. Si la curva es efectivamente una “curva”, en lugar de ser una línea recta, entonces la sensibilidad será una función de la cantidad o concentración del analito.

Sesgo [6].

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

Medida del error sistemático de un procedimiento analítico dado y es la desviación, positiva o negativa, de la media de los resultados analíticos con respecto al valor convencionalmente verdadero.

Validación [2].

Verificación mediante la aportación de evidencia objetiva de que se han cumplido los requisitos para una utilización o aplicación específica prevista.

Verificación [2].

Verificación, a través de la aportación de evidencias objetivas, de que se cumplen los requisitos especificados.

Veracidad [3].

Proximidad entre la media de un número infinito de valores medidos repetidos y un valor de referencia.

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 al elemento o material bajo ensayo.

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] VIM: 2008, International vocabulary of metrology -- Basic and general concepts and associated terms.
- [4] ISO/IEC 17000:2004 Conformity assessment -- Vocabulary and general principles.
- [5] ISO/TR 10013:2001 Guidelines for quality management system documentation.
- [6] NMX-CH-152-IMNC: 2005 Metrología en química-vocabulario
- [7] Eurolab España. P.P. Morillas y colaboradores. Guía Eurachem: La adecuación al uso de los métodos analíticos – Una Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados (1ª ed. 2016). Disponible en www.eurachem.org.
- [8] MILLER, N. J. y MILLER, J. C.: ESTADÍSTICA Y QUIMIOMETRÍA PARA QUÍMICA ANALÍTICA (4ª ed. 2002). ISBN: 84-205-3514-1

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

4. DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO A VALIDAR.

PROC – TC – 184 Procedimiento para la determinación de Cannabinoides, el cual es un desarrollo de Shimadzu Scientific Instruments.

5. ESPECIFICACIÓN DE LOS REQUISITOS DEL MÉTODO A VALIDAR.

Las características deseables del método de ensayo PROC – TC – 184 Procedimiento para la determinación de Cannabinoides fueron consignadas en el numeral 5 del plan de validación PLN-TC-184-03 Plan de Validación del ensayo de cannabinoides.

6. DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS O CARACTERÍSTICAS DE VALIDACIÓN.


Los requisitos correspondientes a los parámetros de desempeño evaluados, que permitieron para establecer la aptitud del método analítico son:

PARAMETRO	CRITERIO	UNIDADES
Límite de cuantificación	1.0	mg/g
Exactitud	E. R. % máximo 20%	%
Veracidad	Veraz para el rango de trabajo evaluado y para cada mensurando	
Precisión	C. V. % máximo 20%	%

Los atributos precisión, exactitud y veracidad se evaluaron ejecutando el método de ensayo sobre material de referencia certificado Ground Hemp de la marca Absolute Standards Inc, identificado con la referencia 54999B y número de lote 101419, vigente hasta 2022-10-14. Una copia del certificado se adjunta en los anexos.

7. VERIFICACIÓN DE CUMPLIMIENTO DE PARÁMETROS O CARACTERÍSTICAS DE VALIDACIÓN.

A continuación, se muestra la tabla comparativa que muestra los valores de los requisitos a cumplir y los valores obtenidos por la aplicación del método.

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

PARAMETRO	CRITERIO	UNIDADES	CUMPLE SI/NO
Recuperación	80% - 120%	%	CUMPLE
Límite de cuantificación	1.0	mg/g	CUMPLE
Exactitud*	E. R.% máximo 20%	%	CUMPLE
Veracidad	Veraz para el rango de trabajo evaluado y para cada mensurando		CUMPLE
Precisión	C. V. % máximo 20%	%	CUMPLE

El laboratorio AOXLAB de acuerdo con los resultados obtenidos estableció declarar el valor máximo obtenido como resultado de la evaluación de cada atributo sobre las matrices evaluadas con el propósito de tener siempre presente el peor escenario en el desempeño del método analítico


7.1 RESULTADOS OBTENIDOS POR CADA MATRIZ EVALUADA

7.1.1 Límite de cuantificación

El límite de cuantificación (LOQ) fue determinado evaluando la precisión y exactitud obtenida sobre un estándar de una concentración equivalente a 1.0 mg/g en material vegetal.

Los resultados obtenidos se muestran a continuación:

MENSURANDO	Exactitud	Precisión
	E. R. %	C. V. %
CBDV	4,7%	4,0%
CBDA	6,1%	3,9%
CBGA	4,9%	2,0%
CBG	7,3%	1,9%
CBD	6,1%	1,8%
THCV	11,6%	1,6%
CBN	3,1%	2,3%
Δ 9-THC	9,9%	2,2%
Δ 8-THC	7,4%	2,2%
CBC	5,6%	4,6%
THCA	12,8%	12,6%

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

Los resultados obtenidos muestran que para todos los Cannabinoides la meta de exactitud propuesta se cumple (C. V.% menor al 20%, E. R. % menor al 20%). Por lo anterior, este parámetro se aprueba.

7.1.2 Precisión

Los resultados obtenidos de los ensayos sobre el CRM utilizado para el ejercicio, se muestran a continuación:


ANALITOS	VALOR DE REF (%)	LOTE 1 (%)	LOTE 2 (%)	LOTE 3 (%)	LOTE 4 (%)	LOTE 5 (%)	LOTE 6 (%)	C. V. %
FECHA		2019-12-23	2019-12-28	2020-01-04	2020-01-10	2020-01-11	2020-01-14	
CBDA	5,19	5,65	4,72	5,18	5,69	5,58	5,54	7,0%
CBD	1,67	1,80	1,55	1,71	1,83	1,84	1,80	6,3%
CBN	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,0%
THC	0,14	0,13	0,15	0,15	0,14	0,13	0,14	6,4%
CBC	0,20	0,22	0,19	0,21	0,22	0,22	0,22	5,7%
THCA	0,10	0,11	0,11	0,12	0,11	0,12	0,11	4,6%

La tabla anterior, muestra que los compuestos objeto del alcance de la validación cumplen la meta de precisión propuesta en el plan de validación PLN-TC-084-3, la cual consiste en obtener un coeficiente de variación menor al 20%. Por lo anterior, este atributo se aprueba.

7.1.3 Exactitud

En la tabla siguiente se muestran los valores máximos del error relativo porcentual obtenidos hasta la fecha de emisión del presente informe para cada uno de los mensurandos. Estos valores fueron obtenidos a partir de los resultados obtenidos de la ejecución del método analítico sobre el material de referencia certificado Ground Hemp de la marca Absolute Standards Inc, identificado con la referencia 54999B y número de lote 101419.

ANALITOS	VALOR DE REF (%)	LOTE 1 (%)	LOTE 2 (%)	LOTE 3 (%)	LOTE 4 (%)	LOTE 5 (%)	LOTE 6 (%)	E. R. % MAX.
FECHA		2019-12-23	2019-12-28	2019-12-28	2020-01-04	2020-01-04	2020-01-08	
CBDA	5,19	8,9%	-9,1%	-0,2%	9,6%	7,5%	6,7%	9,6%
CBD	1,67	7,8%	-7,2%	2,4%	9,6%	10,2%	7,8%	10,2%
CBN	0,01	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
THC	0,14	-7,1%	7,1%	7,1%	0,0%	-7,1%	0,0%	7,1%
CBC	0,20	10,0%	-5,0%	5,0%	10,0%	10,0%	10,0%	10,0%
THCA	0,10	10,0%	10,0%	20,0%	10,0%	20,0%	10,0%	20,0%

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

Los resultados anteriores muestran que todos los analitos objeto del alcance de la presente validación, cumplen la meta de exactitud propuesta en el plan de validación PLN-TC-184-3. Debido a que no fue posible conseguir en el mercado un MRC con un nivel de concentración de CBN en que estuviera en el rango de trabajo del método de ensayo, para la obtención de resultados para este mensurando, debieron realizarse inyecciones directas del extracto, tal como se estableció en el plan PLN-TC-184-03. Por tanto, debe tenerse en cuenta que el resultado de exactitud debe interpretarse como la detección positiva del compuesto, lo cual pudo lograrse en todos y cada uno de los lotes ensayados durante el ejercicio de validación. Teniendo en cuenta lo discutido anteriormente, este atributo se aprueba.


7.1.4 Veracidad

La veracidad se evaluó sobre los resultados obtenidos de la ejecución del ensayo sobre el material de referencia descrito en el numeral 6. Para esto, se realizó un contraste t de Student a un nivel de confianza del 99% y n-1 grados de libertad, con el propósito de estimar la compatibilidad del valor de la concentración promedio obtenida de manera experimental con el valor certificado para cada compuesto en el CRM.

Los resultados de este contraste y el valor crítico de t de Student se muestran a continuación:

ANALITOS	VALOR DE REF (%) FECHA	LOTE 1 (%) 2019-12-23	LOTE 2 (%) 2019-12-28	LOTE 3 (%) 2020-01-04	LOTE 4 (%) 2020-01-10	LOTE 5 (%) 2020-01-11	LOTE 6 (%) 2020-01-14	VERACIDAD		
								t _{calc}	t _{tabla}	CONCLUSION
CBDA	5,19	5,65	4,72	5,18	5,69	5,58	5,54	1,32	3,71	EL METODO ES VERAZ
CBD	1,67	1,80	1,55	1,71	1,83	1,84	1,80	1,896	3,71	EL METODO ES VERAZ
CBN	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	-----	3,71	-----
THC	0,14	0,13	0,15	0,15	0,14	0,13	0,14	0	3,71	EL METODO ES VERAZ
CBC	0,20	0,22	0,19	0,21	0,22	0,22	0,22	2,70	3,71	EL METODO ES VERAZ
THCA	0,10	0,11	0,11	0,12	0,11	0,12	0,11	6,32	3,71	EL METODO NO ES VEAZ

Al comparar los resultados obtenidos de la aplicación del test de Student, con el valor crítico de t, se advierte que los primeros son menores que los segundos, excepto para el compuesto THCA. Esto permite concluir que el método de ensayo es verás para todos los analitos, excepto para el THCA. Debe tenerse en cuenta, que el nivel de concentración para este compuesto en el CRM, es igual al límite de cuantificación establecido para el método de ensayo, (1 mg/g =0.1%), lo cual hace que la exactitud de los resultados obtenidos sea menor. No obstante, y como se discutió en el numeral 7.1.3, los resultados obtenidos para este compuesto, muestran que se cumple la meta de exactitud propuesta.

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

En cuanto al CBN, no fue posible aplicar el contraste t de Student, ya que en los seis lotes de ensayo se obtuvo consistentemente el resultado 0.01%. El análisis de este fenómeno fue discutido en el numeral 7.1.3. Teniendo en cuenta lo anterior, este atributo se aprueba.

8. CONCLUSIONES DE LA VALIDACIÓN.

En próximas ocasiones, debe procurarse evaluar el desempeño del método de ensayo, sobre un material de referencia con un nivel de concentración para los compuestos que no fue posible evaluar en este estudio, que se encuentre en el intervalo de trabajo del método de ensayo. Con base en los resultados obtenidos, el Director Técnico de AOXLAB S. A. S., declara que el desempeño del método de ensayo establecido en el procedimiento PROC-TC-084 es apto para el uso previsto en para la determinación del perfil de cannabinoides en material vegetal.

9. INFORME.

El presente informe es aprobado por el Director Técnico y debe estar disponible para consulta permanente en los archivos correspondientes a este ensayo.

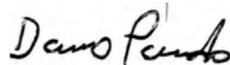
9.1 Firmas del personal de validación.

Realizó:



Nombre y firma
Analistas

Revisó:




Nombre y firma
Líder Laboratorio

Aprobó:



Nombre y firma
Director técnico

	Informe de validación o confirmación de métodos analíticos AOXLAB S.A.S.	Identificación: FOR-TC-047
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/01/10

10. RESPONSABILIDADES.

10.1 Líder de Calidad.

Asegurar la aplicación del presente documento y tomar decisiones en casos especiales no contemplados.

10.2 Líder de Laboratorio.

Asegurar la aplicación del presente documento por el personal subordinado o supervisado.

10.3 Analistas.

Aplicar el presente documento.

11. FORMATOS RELACIONADOS.

N. A.

12. ANEXOS.

Cromatogramas obtenidos durante los análisis cromatográficos realizados.
Certificado del material de referencia empleado durante la ejecución de los ensayos.

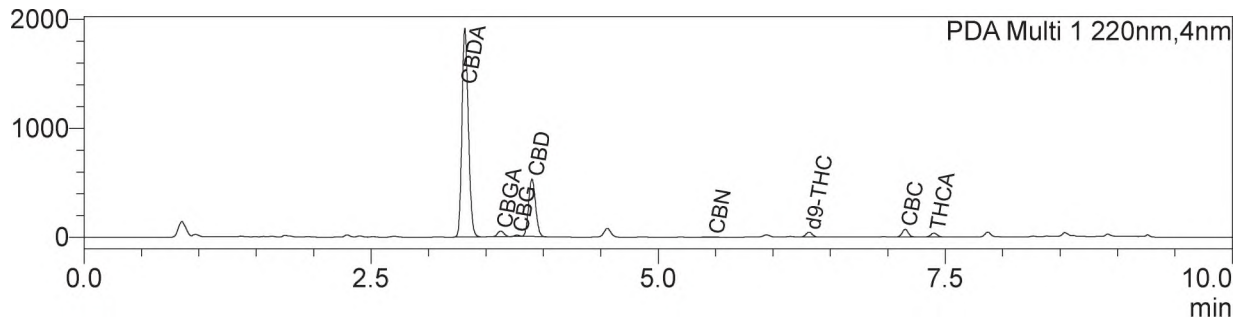
**AOXLAB S.A.S.
REPORTE CANABINOIDES**

Información de la muestra

AI4852			
Sample Name	: Material de referencia concentrado	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: Material de referencia concentr	Level	: 1
Data Filename	: Material de referencia concentrado.lcd		
Method Filename	: HighSensitivity_PDA-2.lcm		
Batch Filename	: 2020-01-11.lcb		
Vial #	: 3-4		
Injection Volume	: 5 uL		
Sample Amount	: 200.1 mg		
Extraction Vol.	: 20 mL		
Dilution Factor	: 1		
Date Acquired	: 11/1/2020 03:37:10	Acquired by	: AI4852
Date Processed	: 14/1/2020 08:29:32	Processed by	: AI4852

Cromatograma

mAU



Resultados

PDA

ID#	Name	Ret. Time	Weight %	Area	Height
1	CBDV	--	0.00	--	--
2	CBDA	3.318	5.69	7381256	1913922
3	CBGA	3.630	0.14	188298	50823
4	CBG	3.773	0.03	37563	12398
5	CBD	3.902	1.83	2222793	526605
6	THCV	--	0.00	--	--
7	CBN	5.474	0.01	15849	2872
8	d9-THC	6.316	0.14	162317	43294
9	d8-THC	--	0.00	--	--
10	CBC	7.152	0.22	249333	69191
11	THCA	7.404	0.11	126572	34343

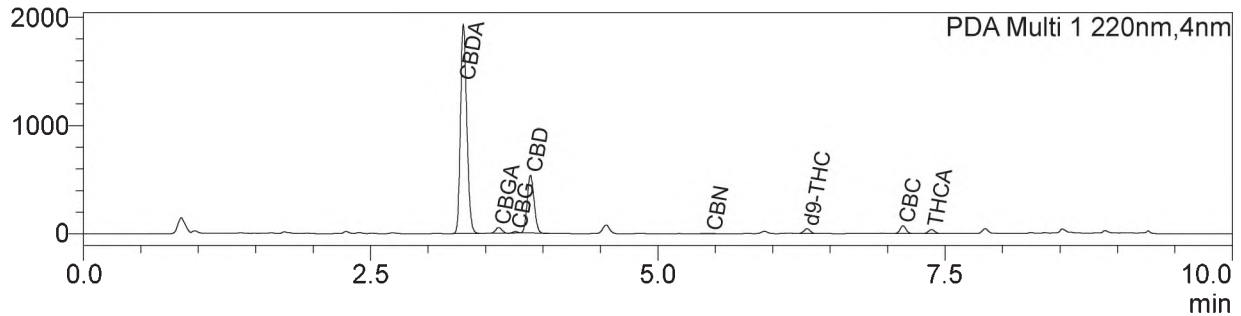
**AOXLAB S.A.S.
REPORTE CANABINOIDES**

Información de la muestra

AI4852			
Sample Name	: Material de referencia concentrado	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: Material de referencia concentr	Level	: 1
Data Filename	: Material de referencia concentr.lcd		
Method Filename	: HighSensitivity_PDA-2.lcm		
Batch Filename	: 2020-01-10.lcb		
Vial #	: 3-4		
Injection Volume	: 5 uL		
Sample Amount	: 200.1 mg		
Extraction Vol.	: 20 mL		
Dilution Factor	: 20		
Date Acquired	: 10/1/2020 03:35:46	Acquired by	: AI4852
Date Processed	: 10/1/2020 03:45:48	Processed by	: AI4852

Cromatograma

mAU



Resultados

PDA

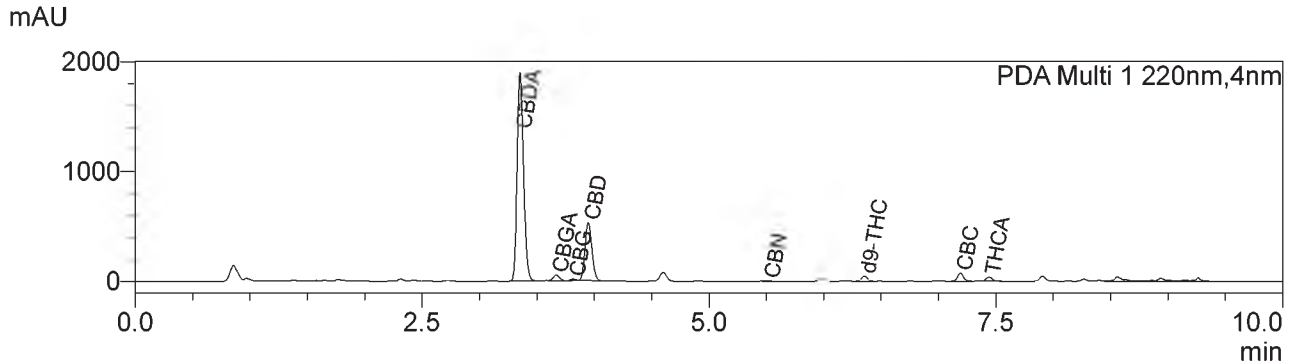
ID#	Name	Ret. Time	Weight %	Area	Height
1	CBDV	--	0.00	--	--
2	CBDA	3.308	5.69	7379903	1920091
3	CBGA	3.616	0.14	188890	51015
4	CBG	3.762	0.03	40860	13046
5	CBD	3.893	1.83	2228101	531046
6	THCV	--	0.00	--	--
7	CBN	5.458	0.01	15962	2977
8	d9-THC	6.300	0.14	162533	44039
9	d8-THC	--	0.00	--	--
10	CBC	7.135	0.22	249303	70793
11	THCA	7.383	0.11	125589	34902

**AOXLAB S.A.S.
 REPORTE CANABINOIDES**

Información de la muestra

AI4852			
Sample Name	: Material de referencia concentrado	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: Material de referencia concentr	Level	: 1
Data Filename	: Material de referencia concentr.lcd		
Method Filename	: HighSensitivity_PDA-2.lcm		
Batch Filename	: 2020-01-08.lcb		
Vial #	: 3-4		
Injection Volume	: 5 uL		
Sample Amount	: 200.1 mg		
Extraction Vol.	: 20 mL		
Dilution Factor	: 1		
Date Acquired	: 8/1/2020 01:12:58	Acquired by	: AI4852
Date Processed	: 8/1/2020 01:23:00	Processed by	: AI4852

Cromatograma



Resultados

PDA

ID#	Name	Ret. Time	Weight %
1	CBDV	--	0.00
2	CBDA	3.354	5.67
3	CBGA	3.670	0.14
4	CBG	3.818	0.03
5	CBD	3.949	1.82
6	THCV	--	0.00
7	CBN	5.516	0.01
8	d9-THC	6.355	0.15
9	d8-THC	--	0.00
10	CBC	7.192	0.22
11	THCA	7.441	0.11

Total THC	0.25	%
Total THC	2.49	mg/g
Total CBD	6.80	%
Total CBD	67.98	mg/g
Total CBN	0.00	%
Total CBN	0.00	mg/g

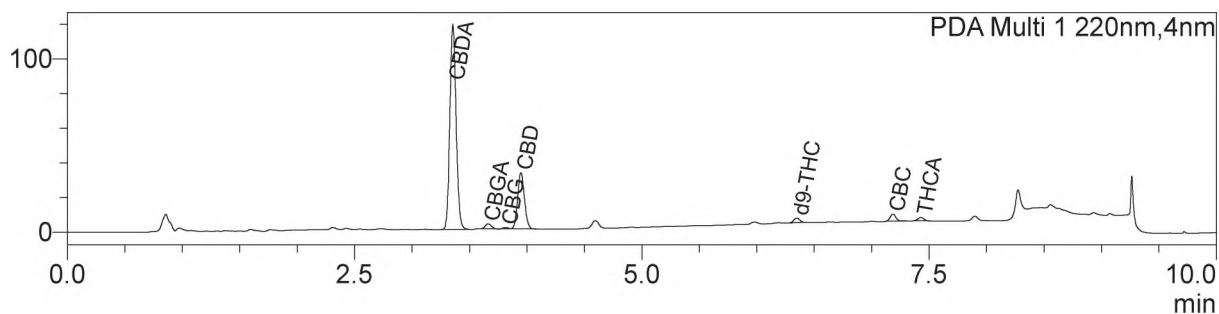
**AOXLAB S.A.S.
REPORTE CANABINOIDES**

Información de la muestra

AI4852			
Sample Name	: Material referencia-diluido.lcd	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: Material referencia-diluido.lcd	Level	: 1
Data Filename	: Material referencia-diluido.lcd		
Method Filename	: HighSensitivity_PDA-2.lcm		
Batch Filename	: Analysis20191223.lcb		
Vial #	: 1-3		
Injection Volume	: 5 uL		
Sample Amount	: 200.1 mg		
Extraction Vol.	: 20 mL		
Dilution Factor	: 20		
Date Acquired	: 23/12/2019 15:51:38	Acquired by	: AI4852
Date Processed	: 24/12/2019 05:58:28	Processed by	: AI4852

Cromatograma

mAU



Resultados

PDA

ID#	Name	Ret. Time	Weight %	Area	Height
1	CBDV	--	0.00	--	--
2	CBDA	3.356	6.89	446654	117651
3	CBGA	3.663	0.17	10521	2901
4	CBG	3.815	0.04	2418	771
5	CBD	3.949	2.19	132785	32194
6	THCV	--	0.00	--	--
7	CBN	--	0.00	--	--
8	d9-THC	6.350	0.17	9942	2652
9	d8-THC	--	0.00	--	--
10	CBC	7.186	0.27	14440	4084
11	THCA	7.430	0.13	6852	1933

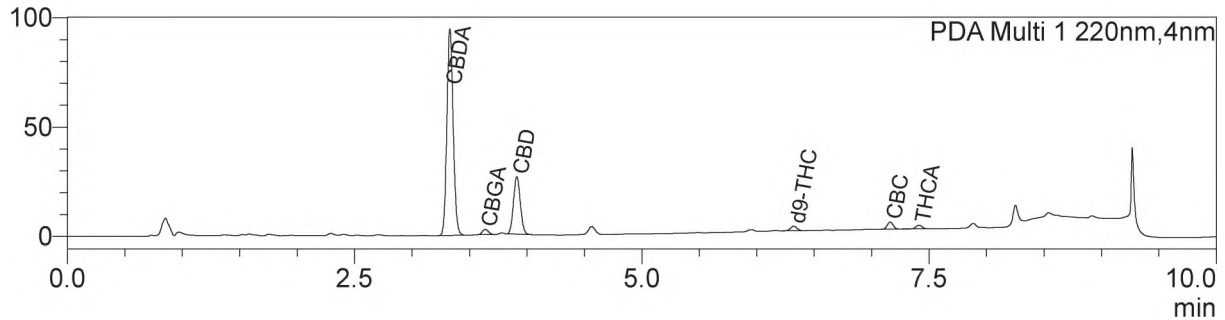
**AOXLAB S.A.S.
REPORTE CANABINOIDES**

Información de la muestra

AI4852			
Sample Name	: Material de referencia diluido	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: Material de referencia diluido	Level	: 1
Data Filename	: Material de referencia diluido.lcd		
Method Filename	: HighSensitivity_PDA-2.lcm		
Batch Filename	: 2020-01-14.lcb		
Vial #	: 3-3		
Injection Volume	: 5 uL		
Sample Amount	: 200.1 mg		
Extraction Vol.	: 20 mL		
Dilution Factor	: 20		
Date Acquired	: 14/1/2020 02:19:50	Acquired by	: AI4852
Date Processed	: 14/1/2020 02:29:52	Processed by	: AI4852

Cromatograma

mAU



Resultados

PDA

ID#	Name	Ret. Time	Weight %	Area	Height
1	CBDV	--	0.00	--	--
2	CBDA	3.331	5.54	358959	93486
3	CBGA	3.639	0.14	8947	2408
4	CBG	--	0.00	--	--
5	CBD	3.913	1.80	108639	26103
6	THCV	--	0.00	--	--
7	CBN	--	0.00	--	--
8	d9-THC	6.323	0.14	8184	2072
9	d8-THC	--	0.00	--	--
10	CBC	7.163	0.23	12176	3273
11	THCA	7.413	0.13	6652	1643

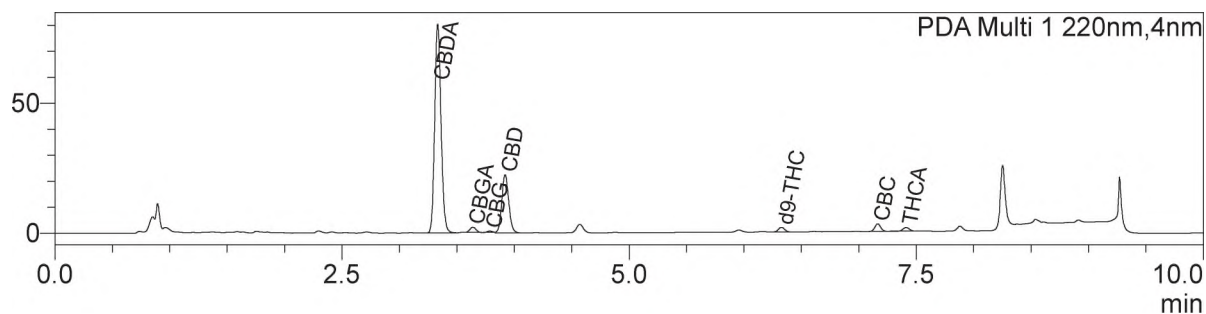
**AOXLAB S.A.S.
REPORTE CANABINOIDES**

Información de la muestra

AI4852			
Sample Name	: Material de referencia diluido	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: Material de referencia diluido	Level	: 1
Data Filename	: Material de referencia diluido.lcd		
Method Filename	: HighSensitivity_PDA-2.lcm		
Batch Filename	: Tabla 2019-12-28.lcb		
Vial #	: 1-7		
Injection Volume	: 5 uL		
Sample Amount	: 200.1 mg		
Extraction Vol.	: 20 mL		
Dilution Factor	: 20		
Date Acquired	: 28/12/2019 02:32:17	Acquired by	: AI4852
Date Processed	: 28/12/2019 03:23:56	Processed by	: AI4852

Cromatograma

mAU



Resultados

PDA

ID#	Name	Ret. Time	Weight %	Area	Height
1	CBDV	--	0.00	--	--
2	CBDA	3.334	4.72	305989	80240
3	CBGA	3.640	0.12	7223	1976
4	CBG	3.789	0.03	1568	510
5	CBD	3.921	1.55	93745	22135
6	THCV	--	0.00	--	--
7	CBN	--	0.00	--	--
8	d9-THC	6.328	0.11	6501	1768
9	d8-THC	--	0.00	--	--
10	CBC	7.166	0.19	9954	2876
11	THCA	7.413	0.11	5407	1439



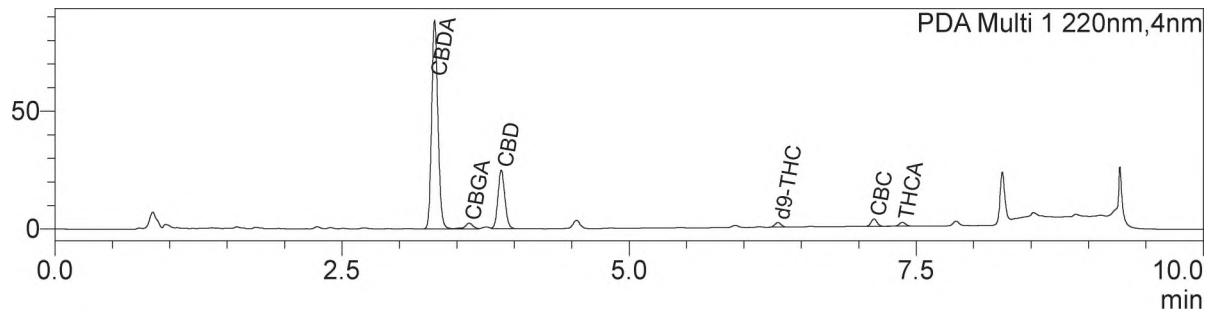
AOXLAB S.A.S.
REPORTE CANABINOIDES

Información de la muestra

AI4852			
Sample Name	: Material de referencia diluido	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: Material de referencia diluido	Level	: 1
Data Filename	: Material de referencia diluido.lcd		
Method Filename	: HighSensitivity_PDA-2.lcm		
Batch Filename	: Tabla 2020-01-04.lcb		
Vial #	: 1-3		
Injection Volume	: 5 uL		
Sample Amount	: 200.1 mg		
Extraction Vol.	: 20 mL		
Dilution Factor	: 20		
Date Acquired	: 4/1/2020 06:12:30	Acquired by	: AI4852
Date Processed	: 4/1/2020 06:22:31	Processed by	: AI4852

Cromatograma

mAU



Resultados

PDA

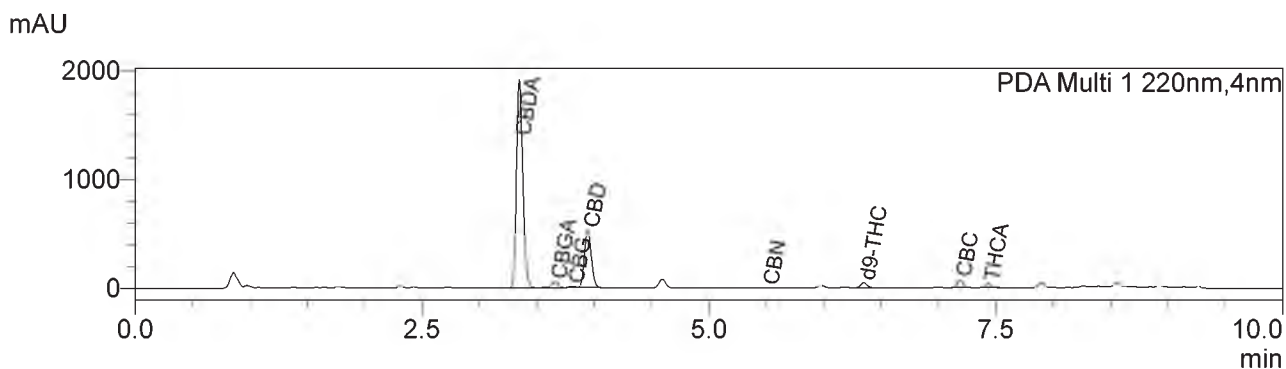
ID#	Name	Ret. Time	Weight %	Area	Height
1	CBDV	--	0.00	--	--
2	CBDA	3.308	5.18	335952	87778
3	CBGA	3.608	0.17	10972	2412
4	CBG	--	0.00	--	--
5	CBD	3.888	1.71	103389	24648
6	THCV	--	0.00	--	--
7	CBN	--	0.00	--	--
8	d9-THC	6.297	0.12	7021	1906
9	d8-THC	--	0.00	--	--
10	CBC	7.133	0.21	11070	3140
11	THCA	7.380	0.12	5885	1554

**AOXLAB S.A.S.
REPORTE CANABINOIDES**

Información de la muestra

AI4852			
Sample Name	: Material referencia-Concentrado.lcd	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: Material referencia-Concentrado	Level	: 1
Data Filename	: Material referencia-Concentrado.lcd		
Method Filename	: HighSensitivity_PDA-2.lcm		
Batch Filename	: Analysis20191223.lcb		
Vial #	: 1-4		
Injection Volume	: 5 uL		
Sample Amount	: 200.1 mg		
Extraction Vol.	: 20 mL		
Dilution Factor	: 1		
Date Acquired	: 23/12/2019 16:01:59	Acquired by	: AI4852
Date Processed	: 24/12/2019 07:04:39	Processed by	: AI4852

Cromatograma



Resultados

PDA

ID#	Name	Ret. Time	Weight %	Area	Height
1	CBDV	--	0.00	--	--
2	CBDA	3.348	5.65	7319736	1899700
3	CBGA	3.660	0.17	229033	53003
4	CBG	3.812	0.03	41405	13155
5	CBD	3.944	1.80	2188666	520954
6	THCV	--	0.00	--	--
7	CBN	5.509	0.01	15030	2886
8	d9-THC	6.349	0.13	159890	44117
9	d8-THC	--	0.00	--	--
10	CBC	7.188	0.22	248772	71453
11	THCA	7.433	0.11	126509	34546

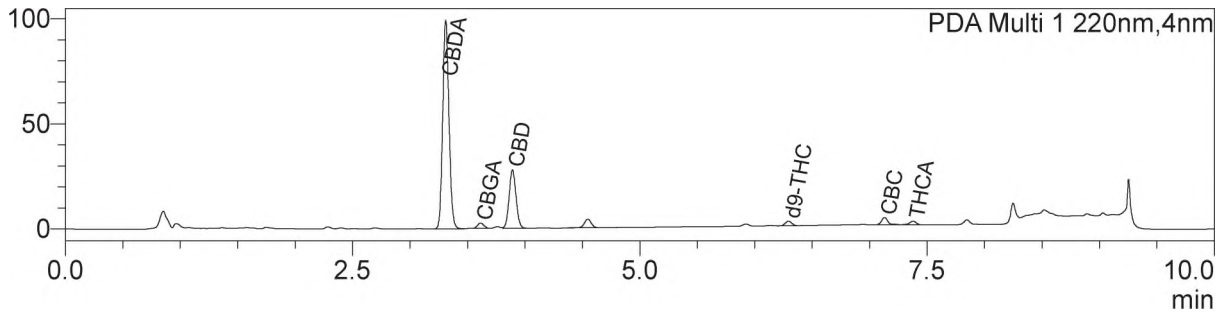
**AOXLAB S.A.S.
REPORTE CANABINOIDES**

Información de la muestra

AI4852			
Sample Name	: Material de referencia diluido	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: Material de referencia diluido	Level	: 1
Data Filename	: Material de referencia diluido.lcd		
Method Filename	: HighSensitivity_PDA-2.lcm		
Batch Filename	: 2020-01-10.lcb		
Vial #	: 3-3		
Injection Volume	: 5 uL		
Sample Amount	: 200.1 mg		
Extraction Vol.	: 20 mL		
Dilution Factor	: 20		
Date Acquired	: 10/1/2020 03:25:25	Acquired by	: AI4852
Date Processed	: 10/1/2020 03:35:27	Processed by	: AI4852

Cromatograma

mAU



Resultados

PDA

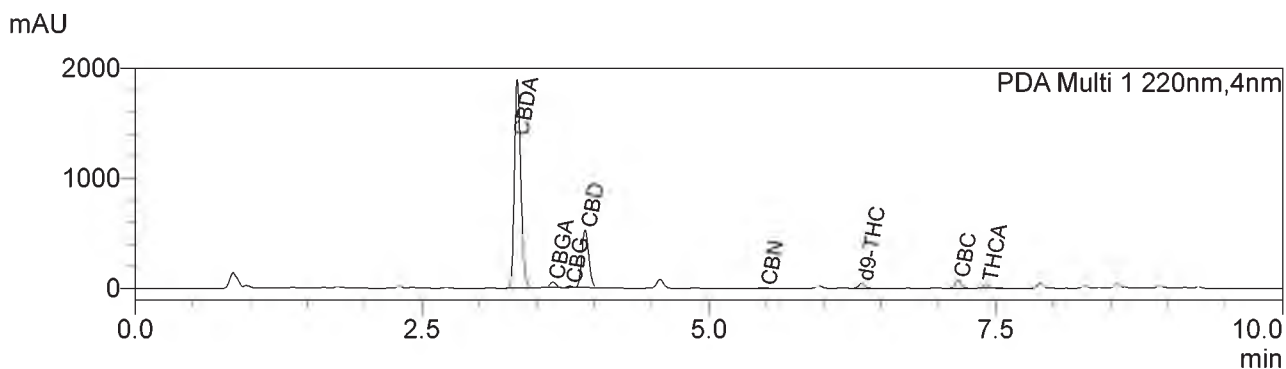
ID#	Name	Ret. Time	Weight %	Area	Height
1	CBDV	--	0.00	--	--
2	CBDA	3.311	5.80	375643	98872
3	CBGA	3.615	0.15	9228	2496
4	CBG	--	0.00	--	--
5	CBD	3.892	1.92	115813	27699
6	THCV	--	0.00	--	--
7	CBN	--	0.00	--	--
8	d9-THC	6.295	0.13	8010	2158
9	d8-THC	--	0.00	--	--
10	CBC	7.131	0.24	13070	3413
11	THCA	7.379	0.14	7023	1703

**AOXLAB S.A.S.
REPORTE CANABINOIDES**

Información de la muestra

AI4852			
Sample Name	: Material de referencia concentrado	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: Material de referencia concentr	Level	: 1
Data Filename	: Material de referencia concentr.lcd		
Method Filename	: HighSensitivity_PDA-2.lcm		
Batch Filename	: Tabla 2019-12-28.lcb		
Vial #	: 1-8		
Injection Volume	: 5 uL		
Sample Amount	: 200.1 mg		
Extraction Vol.	: 20 mL		
Dilution Factor	: 1		
Date Acquired	: 28/12/2019 02:42:39	Acquired by	: AI4852
Date Processed	: 28/12/2019 03:26:49	Processed by	: AI4852

Cromatograma



Resultados

PDA

ID#	Name	Ret. Time	Weight %	Area	Height
1	CBDV	--	0.00	--	--
2	CBDA	3.330	5.63	7295827	1863233
3	CBGA	3.640	0.13	179610	48910
4	CBG	3.790	0.03	38900	12710
5	CBD	3.921	1.81	2194598	515747
6	THCV	--	0.00	--	--
7	CBN	5.490	0.01	12862	2880
8	d9-THC	6.332	0.15	175737	45361
9	d8-THC	--	0.00	--	--
10	CBC	7.172	0.24	271714	72851
11	THCA	7.419	0.11	120437	33970

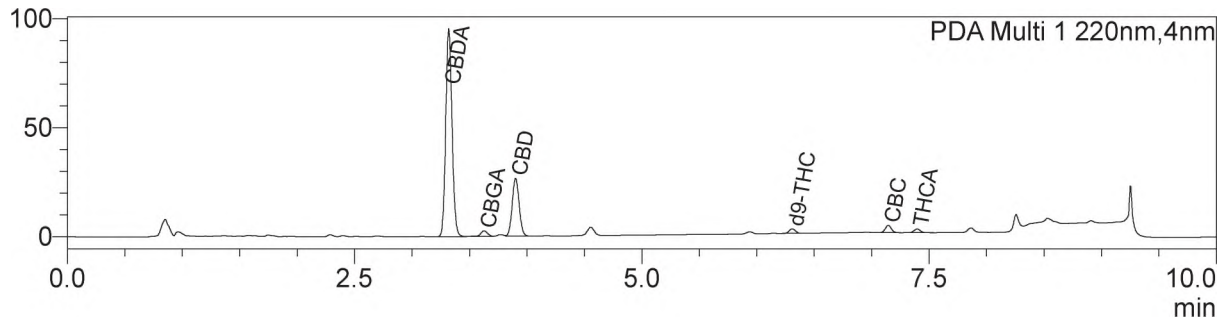
**AOXLAB S.A.S.
 REPORTE CANABINOIDES**

Información de la muestra

AI4852			
Sample Name	: Material de referencia diluido	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: Material de referencia diluido	Level	: 1
Data Filename	: Material de referencia diluido.lcd		
Method Filename	: HighSensitivity_PDA-2.lcm		
Batch Filename	: 2020-01-11.lcb		
Vial #	: 3-3		
Injection Volume	: 5 uL		
Sample Amount	: 200.1 mg		
Extraction Vol.	: 20 mL		
Dilution Factor	: 20		
Date Acquired	: 11/1/2020 03:26:48	Acquired by	: AI4852
Date Processed	: 11/1/2020 04:30:32	Processed by	: AI4852

Cromatograma

mAU



Resultados

PDA

ID#	Name	Ret. Time	Weight %	Area	Height
1	CBDV	--	0.00	--	--
2	CBDA	3.321	5.58	361560	94565
3	CBGA	3.628	0.17	10780	2533
4	CBG	--	0.00	--	--
5	CBD	3.902	1.84	111503	26558
6	THCV	--	0.00	--	--
7	CBN	--	0.00	--	--
8	d9-THC	6.311	0.13	7708	2072
9	d8-THC	--	0.00	--	--
10	CBC	7.146	0.22	11805	3250
11	THCA	7.397	0.12	6008	1618

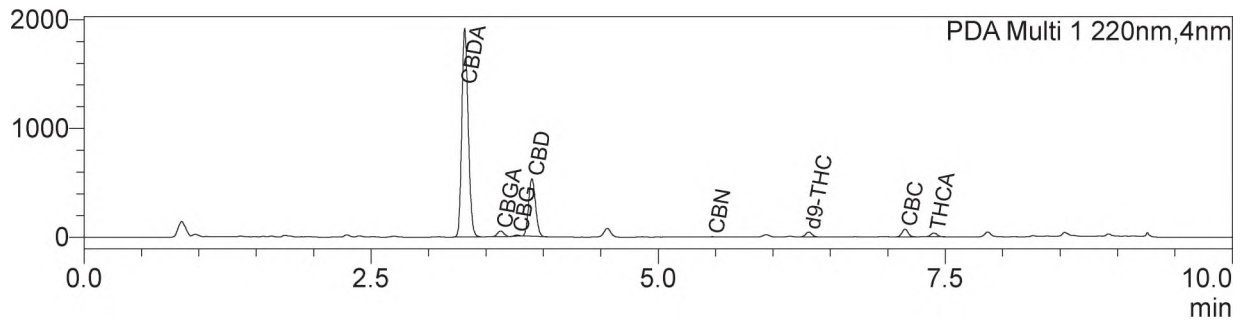
**AOXLAB S.A.S.
REPORTE CANABINOIDES**

Información de la muestra

AI4852			
Sample Name	: Material de referencia concentrado	Sample Type	: Unknown
Sample ID	: Material de referencia concentr	Level	: 1
Data Filename	: Material de referencia concentrado.lcd		
Method Filename	: HighSensitivity_PDA-2.lcm		
Batch Filename	: 2020-01-14.lcb		
Vial #	: 3-4		
Injection Volume	: 5 uL		
Sample Amount	: 200.1 mg		
Extraction Vol.	: 20 mL		
Dilution Factor	: 1		
Date Acquired	: 14/1/2020 02:30:11	Acquired by	: AI4852
Date Processed	: 14/1/2020 10:09:04	Processed by	: AI4852

Cromatograma

mAU



Resultados

PDA

ID#	Name	Ret. Time	Weight %	Area	Height
1	CBDV	--	0.00	--	--
2	CBDA	3.317	5.71	7405014	1907350
3	CBGA	3.629	0.14	188091	50936
4	CBG	3.772	0.03	37289	12384
5	CBD	3.902	1.84	2230070	528319
6	THCV	--	0.00	--	--
7	CBN	5.471	0.01	15187	2850
8	d9-THC	6.313	0.14	163559	43180
9	d8-THC	--	0.00	--	--
10	CBC	7.151	0.22	249379	69329
11	THCA	7.403	0.11	125340	33895



CERTIFIED WEIGHT REPORT

Part Number: **54999B**
Lot Number: **101419**
Description: **Ground Hemp**

Expiration Date: 101422
Recommended Storage: Freezer (0 °C)

NIST Test Number: 6UTB 5E-05 Balance Uncertainty

Giovanni Esposito
Formulated By: Giovanni Esposito 101419
Pedro L. Rentas
Reviewed By: Pedro L. Rentas 101419

Compound	RM#	Lot Number	Purity (%)	Uncertainty Purity (%)	Target Weight (g)	Actual Weight (g)	Expanded Uncertainty (+/- g)	SDS Information (Solvent Safety Info. On Attached pg.)		
								CAS#	OSHA PEL (TWA)	LD50 ¹
1. Hemp tea	3964	451414	100	0.2	2.500	2.5050	0.00005	NA	N/A	N/A

