
	Procedimiento de Determinación de Catequina. AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-XXX
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/XX/XX

Procedimiento de Determinación Catequina.


AOXLAB S.A.S.

	Procedimiento de Determinación de Catequina. AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-XXX
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/XX/XX

DOCUMENTO CONTROLADO


PROC-TC-xx---x. Procedimiento de Determinación de Catequina.

Copia controlada No. : 1

	Nombre	Puesto o función	Firma	Fecha
Elaboró:	Edwin Alexander Arboleda	Analista		2018/xx/xx
Revisó:	Wlner Ferney Ruiz	Líder de laboratorio		2018/xx/xx
Aprobó:	Yasmín Eliana Lopera Pérez	Gerente y Director Técnico		2018/xx/xx
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	2018/xx/XX	1	Ninguno (versión original).	Alexander	WFR	YELP

	Procedimiento de Determinación de Catequina. AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-XXX
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/XX/XX

ÍNDICE

Sección	Página
1. OBJETIVO Y ALCANCE.	4
1.1 Objetivo.	4
1.2 Alcance.	4
2. DEFINICIONES Y NOTACIONES.	5
2.1 Definiciones.	5
2.2 Notaciones.	5
3. REFERENCIAS.	6
4. EQUIPOS	6
5. INSPECCIÓN VISUAL.	6
5.1 Revisión general.	6
5.2 Estabilización.	7
5.3 Verificación de equipos	7
5.4 Manejo de la muestra.	7
5.5 Medidas de seguridad.	8
6. INSTRUCCIONES DE ENSAYO.	8
6.1 Reactivos y/o Soluciones	8
6.2 Aptitud del sistema	9
6.2.1 Requisitos de aptitud.	9
6.3 Preparación del estándar	9
6.3.1 Estándar de Patrón:	9
6.3.2 Estándar de trabajo:	10
6.4 Preparación de la muestra:	11
6.5 Condiciones Cromatográficas	12
7. INFORME.	12
8. ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD	13
9. RESPONSABILIDADES.	13
9.1 Director Técnico	13
9.1 Líder de Calidad.	13
9.2 Líder de Laboratorio.	13
9.3 Analistas.	14
10. FORMATOS RELACIONADOS.	14
11. ANEXOS.	14

	Procedimiento de Determinación de Catequina. AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-XXX
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/XX/XX

1. OBJETIVO Y ALCANCE.

1.1 Objetivo.

Describir los pasos para realizar en la Determinación del análisis de Catequina de acuerdo los parámetros de Sensitive determination of catechins in tea by HPLC Aplic 275 Dionex Corporation LPN 2799 PDF 08/16 y los requisitos establecidos por la norma ISO/IEC 17025:2017 [1].

1.2 Alcance.

Prueba o ensayo	Norma o método de referencia	Técnica o Método
Determinación de Catequina	Sensitive determination of catechins in tea by HPLC Aplic 275 Dionex Corporation LPN 2799 PDF 08/16	Cromatografía Líquida De alta resolución (HPLC)

Este método se aplica a las siguientes matrices:

- Café y Derivados
- Te
- Hortalisas, hojas y especias
- Cacao y Derivados


El intervalo de trabajo del método es de Xx g/x g.

2. DEFINICIONES Y NOTACIONES.

2.1 Definiciones.

Calibración [4].

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

	Procedimiento de Determinación de Catequina. AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-XXX
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/XX/XX

Ensayo/prueba [3].

Determinación de una o más características de acuerdo con un procedimiento

Procedimiento [3].

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

Catequina [5]

La Catequina es un antioxidante polifenólico que procede de las plantas en las cuales aparece como un metabolito secundario. El término catequina se emplea comúnmente para referirse a la familia de los flavonoides y al subgrupo de los flavan-3-oles (o simplemente flavonoles). El nombre de catequina proviene de la familia de plantas denominada catechu (Terra Japonica) y concretamente del jugo extraído de la Mimosa catechu (Acacia catechu L.f)

2.2 Notaciones.

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


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

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

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

3. REFERENCIAS.

- [1] 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] Sensitive determination of catechins in tea by HPLC Aplic 275 Dionex Corporation LPN 2799 PDF 08/16
- [3] ISO 9000:2015 Quality management systems -- Fundamentals and vocabulary/ Sistemas de gestión de la calidad-- Fundamentos y vocabulario.
- [4] ISO/IEC 17000:2004 Conformity assessment -- Vocabulary and general principles.
- [5] Zheng LT, Ryu GM, Kwon BM, Lee WH, Suk K (junio de 2008). «Anti-inflammatory effects of catechols in lipopolysaccharide-stimulated microglia cells: inhibition of microglial neurotoxicity». Eur. J. Pharmacol. 588 (1): 106-13.

	Procedimiento de Determinación de Catequina. AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-XXX
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/XX/XX

4. EQUIPOS.

Para realizar el ensayo se utilizan los siguientes equipos y componentes clave:

No. Inventario	Equipos y/o componentes clave	Marca	Modelo	No. Serie
0207	Cromatógrafo líquido de alta resolución	Shimadzu	LC-2030C 3D PLUS	L21455510235 AE
0006 A	Balanza analítica	RADWAG	AS 220/C/2	348577/12
0001	Baño María	MEMERT	-----	L13120239
0003 A	Vortex Mixer	VELP SCIENTIFICA	F202A0173	251121
0007	Centrifuga	EPPENDORF	5427	5427AJ213219

5. INSPECCIÓN VISUAL.

5.1 Revisión general.

Al recibirse la muestra en el Laboratorio, éste es inspeccionado a fin de asegurar que se garantizan las condiciones conforme lo indicado en el procedimiento PROC-TC-008 "Procedimiento de aseguramiento de integridad de los ítems bajo servicio".


Antes de iniciar el análisis, se debe verificar que la muestra se encuentra empacada y sellada herméticamente, y etiquetada con el sticker de identificación interna del laboratorio. Se debe contar con al menos 50 gramos de muestra para realizar este análisis.

En caso de que la muestra no presente alguna de estas condiciones, informar de inmediato al líder comercial a través del Líder de laboratorio.

5.2 Estabilización.

Una vez revisada la muestra, se aplican las siguientes instrucciones:

Los patrones y equipos de referencia del laboratorio a intervenir en el ensayo y la muestra se mantienen en el lugar de ensayo, y encendidos (si es el caso), antes de realizar las mediciones. El cromatógrafo líquido de alta resolución debe encenderse y ajustarse a los parámetros de medida, acondicionando el sistema al menos 30 minutos antes de iniciar la corrida cromatográfica. a fin de lograr su operación óptima o estabilización térmica.

	Procedimiento de Determinación de Catequina. AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-XXX
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/XX/XX

5.3 Verificación de equipos.

A fin de confirmar que los equipos a utilizar en el ensayo se encuentran en condiciones adecuadas para realizar el servicio, se inspecciona la verificación de cada uno de los equipos mencionados en el ítem 4. Y la verificación diaria de la balanza analítica teniendo en cuenta los factores de corrección obtenidos del certificado de la última calibración.

5.4 Manejo de la muestra.

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

Las muestras que vienen para análisis de vitaminas hidrosolubles y liposolubles deben tener protección actínica.


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

Sí la muestra es sólida, moler o triturar en su totalidad hasta homogeneidad aparente, y realizar un cuarteo atendiendo los siguientes pasos:

- Colocar la muestra previamente homogeneizada sobre una superficie lisa, limpia y seca, donde no existan corrientes de aire fuertes.
- Limpiar los instrumentos a utilizar (espátula o cuchara).
- Mezclar la muestra echando repetidas veces el material de los bordes hacia el centro.
- Juntar todo el material dándole forma circular con espesor uniforme.
- Dividir el material en cuatro sectores iguales.
- Eliminar los sectores opuestos quedando la masa del material reducida a la mitad.
- Mezclar los dos sectores restantes echando repetidas veces el material de los bordes hacia el centro.

5.5 Medidas de seguridad.

Se deben seguir las siguientes medidas de seguridad antes y durante la realización del servicio: Verificar que el sticker de calibración y mantenimiento del equipo se encuentre vigente y no requiere alguna intervención. Verificar que todos los reactivos preparados en el laboratorio al momento de realizar el ensayo o los que se encontraban almacenados se encuentren identificados conforme al formato

	Procedimiento de Determinación de Catequina. AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-XXX
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/XX/XX

FOR-TC-024 “Formato para rotular reactivos elaborados en el laboratorio”. En caso de que se encuentre alguna anomalía al respecto, dar aviso a la Dirección Técnica a través del Líder de Laboratorio.

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

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

6. INSTRUCCIONES DE ENSAYO.

6.1 Reactivos y/o Soluciones

-Acetonitrilo Grado HPLC

-Ácido Trifluoroacético (TFA)Grado Analítico

-Ácido Fórmico Grado Analítico

-Metanol Grado HPLC


-Ácido Trifluoroacético (0,1%) en Acetonitrilo(5%): Transferir 50 mL de Acetonitrilo en un balón volumétrico de 1 L que contiene 850 mL de Agua tipo I, adicionar 1 mL de TFA y mezclar hasta homogeneidad, luego llevar a volumen con Agua Tipo I.

-Ácido Trifluoroacético (0,1%) en Acetonitrilo: (Transferir 900mL a un balón volumetrico de 1 L y adicionar 1 mL de TFA, mezclar hasta homogeneidad y llevar a volumen con acetonitrilo.

-Ácido Fórmico (0,05%) en 70% metanol (solución extractora): Transferir 700 mL de metanol grado HPLC a un Balón volumétrico de 1000 mL y adicionar 500 uL de Ácido Fórmico, mezclar hasta homogeneidad y luego llevar a volumen con Agua tipo I.

6.2 Aptitud del sistema

Para la aptitud del sistema cromatográfico Se corre El nivel 3 De la curva de calibración del estándar de Catequina por triplicado y se evalúa la desviación estándar relativa, los platos teóricos de la columna y la asimetría. Se genera por medio del software un informe de aptitud y se guarda en la carpeta de aptitud del sistema.

	Procedimiento de Determinación de Catequina. AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-XXX
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/XX/XX

6.2.1 Requisitos de aptitud.

Desviación estándar Relativa (RSD): < 2,0 %

Platos Teóricos: > 1000

Asimetría: <2,0 %

6.3 Preparación del estándar de Catequina.

6.3.1 Estándar patrón:

Pesar del estándar 20,0 mg en balón volumétrico de 25mL, Diluir con 20 ml de Solución extractora y homogenizar en vortex por 60 s, luego aforar con Solución extractora.

6.3.2 Estándar de trabajo.

De la solución anterior tomar una alícuota de 1 mL en un balón volumétrico de 10mL, diluir con Solución extractora y agitar en vortex por 40 s y luego aforar con Solución extractora.

6.3.3 Curva de calibración.

A partir del estándar de trabajo hacer las siguientes diluciones.

Nivel 1: 0,020mL / 1,5mL

Nivel 2: 0,1mL / 1,5mL


Nivel 3: 0,2mL / 1,5mL

Nivel 4: 0,4mL / 1,5mL

Nivel 5: 0,8mL / 1,5mL

6.4 Preparación de la muestra:

Pesar de la muestra 0,1 g en un tubo de 15 mL, adicionar 7 mL de Solución extractora y sonicar por 10 min luego centrifugar a 5000 rpm por 10 min, luego adicionar Solución extractora hasta un volumen de 15mL, mezclar en vortex por 60 s y sonicar 30 min, luego centrifugar a 5000 rpm por 10 min y filtrar el sobrenadante con membrana de nylon 0,22um en un vial LC.

	Procedimiento de Determinación de Catequina. AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-XXX
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/XX/XX

Nota: Si es necesario hacer dilución a la muestra de modo que el analito entre dentro del rango de la curva de calibración.

6.5 Condiciones Cromatográficas

Modo: HPLC

Detector: UV 280 nm

Columna: Kinetex EVO C18 100 °A 150x 4,6mm

Fase móvil: Gradiente (Ácido Fosforico 1 %: Acetonitrilo).

Tiempo, min	Flujo, mL/min	TFA 0,1% en Acetonitrilo	TFA 0,1% : acetonitrile 5%
0,01	0,5	0	100
1,20	0,5	0	100
15,50	0,5	28,5	71,5
17	0,5	28,5	71,5
17	0,5	0	100
20	0,5	0	100

Flujo: 0,5mL/min

Temperatura columna: 25 °C


Volumen de inyección: 50 uL

7. INFORME

Los datos serán registrados en el formato FOR-TC- xxx “Formato para el registro de datos primarios para el ensayo de Catequina”

Los resultados se analizan de la siguiente manera:

En el cromatógrafo se corre una curva de calibración del estándar de Catequina descrito en el punto [6.3.3] y también se corre por duplicado las muestras preparadas descritas en el punto [6.4], se adiciona un blanco y el nivel 3 de la curva por triplicado para la aptitud del sistema, con las condiciones cromatográficas descritas en el punto [6.5].

	Procedimiento de Determinación de Catequina. AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-XXX
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/XX/XX

El software de lab solutions calcula la muestra por medio de la regresión lineal arrojando una concentración. Ese dato de la concentración se registra en el cuadro de mando de Excel del laboratorio para análisis instrumental, Soft-TC_XXX "Formato cuadro de mando de análisis de Catequina", en la ruta de acceso\LABORATORIO\REGISTROS RT. Esa Concentración se multiplica por el peso y la dilución de la muestra y se obtiene el resultado de Catequina correspondiente.

El Reporte que se genera en el software se guarda con la siguiente codificación (HP_Año_Cod procedimiento_Mes_Dia_Lote diario_ID de la muestra)

8. ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD

Para asegurar y controlar la validez de los resultados, se debe verificar los requisitos de aptitud del sistema del equipo cromatográfico establecidos en este procedimiento, además se corre un blanco, y se corre duplicados de matriz y evaluar semestralmente con un material de referencia.

Estos datos son registrados en las cartas control, lo que permite realizar el análisis de tendencias, de acuerdo con PROC -TC – 077 (Procedimiento de Elaboración de gráficos de control).

9. RESPONSABILIDADES.

9.1 Director técnico.

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

Aprobar los informes técnicos una vez han sido revisados por el Líder de Laboratorio.

9.2 Líder de Calidad.

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

9.3 Líder de Laboratorio.

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

Revisar los resultados ingresados por el analista, haciendo seguimiento de la trazabilidad del análisis.

	<p align="center">Procedimiento de Determinación de Catequina.</p> <p align="center">AOXLAB S.A.S</p>	Identificación: PROC-TC-XXX
		Revisión: 1
		Inicio de vigencia: 2018/XX/XX

9.4 Analista.

Aplicar el presente documento llevando a cabo todas las instrucciones y reglamentos del laboratorio, ingresar los resultados en los tiempos pactados, entregar formatos de datos primarios completamente diligenciados al líder del laboratorio.

Realizar revisión de datos primarios y cálculos realizados, informar al líder del laboratorio en caso de observar alguna desviación en los resultados obtenidos teniendo en cuenta las cartas de control.

10. FORMATOS RELACIONADOS.

SOFT-TC-XXX Formato cuadro de mando de análisis de Catequina.

FOR-TC- xxx “Formato para el registro de datos primarios para el ensayo de Catequina”.

11. ANEXOS.