


aoxlab	Procedimiento de ensayo Determinación de Vitamina D3 (Colecalciferol) en alimentos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-162
		Revisión: 4
		Inicio de vigencia: 2025-11-28

Procedimiento de ensayo de Determinación de Vitamina D3 (Colecalciferol) en alimentos

AOXLAB S.A.S.

	Procedimiento de ensayo Determinación de Vitamina D3 (Colecalciferol) en alimentos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-162
		Revisión: 4
		Inicio de vigencia: 2025-11-28

DOCUMENTO CONTROLADO


PROC-TC-162 Procedimiento de ensayo de determinación Vitamina D3 (Colecalciferol) en alimentos

Copia controlada No.: 1

	Nombre	Puesto o función	Firma	Fecha
Elaboró:	Santiago Valencia	Analista de Laboratorio		2025-11-26
Revisó:	Angela P. Patiño Pérez	Director de Calidad		2025-11-26
Aprobó:	María Carmen Domínguez	Director Técnico		2025-11-28
Localización del documento:		Plataforma SGC		

Control de Cambios

Estado	Fecha de Inicio de vigencia	Revisión	Descripción del cambio realizado	Realizó	Revisó	Aprobó
Obsoleto	2018-12-28	1	Ninguno (versión original).	EAA	WFRP	YELP
Obsoleto	2021-10-22	2	Se actualiza método de referencia y se actualiza formato	LMOB	DPP	YELP
Obsoleto	2024-08-29	3	Se ajusta los valores de la curva de calibración y condiciones cromatográficas	SVA	APPP	JOZA
Vigente	2025-11-28	4	Se adicionan los demás puntos para la curva de calibración, se complementa la nota con respecto a las diluciones de la muestra. Se organiza la tabla de control calidad adicionando la muestra de retención y el estándar que deben de pasar por todo el proceso analítico.	SVA	APPP	MCDG


	Procedimiento de ensayo Determinación de Vitamina D3 (Colecalciferol) en alimentos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-162
		Revisión: 4
		Inicio de vigencia: 2025-11-28

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.....	6
3 REFERENCIAS.....	6
4 DESARROLLO.....	8
4.1 CONDICIONES GENERALES.....	8
4.1.1 Revisión general.....	8
4.1.2 Estabilización.....	8
4.1.3 Verificación de equipos.....	8
4.1.4 Manejo de la muestra.....	9
4.1.5 Medidas de seguridad.....	10
4.2 INSTRUCCIONES DE ENSAYO.....	10
4.2.1 Patrones y equipos de medición.....	10
4.2.1.1 Equipos de medición.....	10
4.2.1.2 Materiales y consumibles.....	10
4.2.1.3 Reactivos y soluciones.....	10
4.2.2 Preparación de soluciones.....	11
4.2.2.1 Solución KOH 50% para saponificación.....	11
4.2.2.2 Solución de extracción.....	11
4.2.2.3 Solución stock vitamina D3.....	11
4.2.2.4 Solución stock vitamina D2 (Estándar interno).....	11
4.2.2.5 Solución de trabajo vitamina D3.....	11
4.2.2.6 Curva de calibración.....	11
4.2.2.7 Solución estándar de trabajo vitamina D2 (Estándar interno).....	12
4.2.3 Preparación del estándar.....	12
4.2.4 Preparación de la muestra.....	12
4.2.4.1 Cantidad de muestra:.....	12
4.2.4.2 Saponificación.....	13
4.2.4.3 Extracción.....	13
4.2.4.4 Derivatización.....	13

aoxlab	Procedimiento de ensayo Determinación de Vitamina D3 (Colecalciferol) en alimentos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-162
		Revisión: 4
		Inicio de vigencia: 2025-11-28

4.2.5	Condiciones cromatográficas	14
4.2.6	Calibración	15
4.3	INFORME	15
4.4	CONTROL DE LA CALIDAD	15
5	RESPONSABILIDADES.	17
5.1	Director técnico.	17
5.2	Director de Calidad.	17
5.3	Líder de Laboratorio.	17
5.4	Analista.	17
6	FORMATOS RELACIONADOS.	18
7	ANEXOS	18

	Procedimiento de ensayo Determinación de Vitamina D3 (Colecalciferol) en alimentos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-162
		Revisión: 4
		Inicio de vigencia: 2025-11-28

1. OBJETIVO Y ALCANCE.

1.1 Objetivo.

Describir los pasos para realizar el ensayo de determinación de vitamina D3 (Colecalciferol) de acuerdo con las directrices establecidas en el método desarrollado en Aoxlab 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 Vitamina D3 (Colecalciferol) en alimentos.	[2]	Cromatografía gases acoplada al espectrofotómetro de masas (GC/MS/MS)

Tabla 1 Descripción del método analítico

Este método es aplicable a las siguientes matrices:

- Leche y productos lácteos
- Margarina
- Queso
- Huevo
- Cereales
- Carnes y derivados cárnicos
- Suplementos dietarios
- Alimentos y productos terminados

2 DEFINICIONES Y NOTACIONES.

2.1 Definiciones.


Documento [3].

Información y su medio de soporte.

Ensayo/prueba [3].

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

Procedimiento [3].

	Procedimiento de ensayo Determinación de Vitamina D3 (Colecalciferol) en alimentos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-162
		Revisión: 4
		Inicio de vigencia: 2025-11-28

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

Calibración [4].

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

Vitamina D [6].

La vitamina D está representada por el colecalfiferol (vitamina D3) y el ergo calciferol (vitamina D2), que son secosteroides estructuralmente similares derivados de la irradiación UV de esteroides de provitamina D. En los vertebrados la vitamina D3 se produce in vivo por la acción de la luz solar sobre el 7-dehidrocolesterol en la piel. La vitamina D2 se produce en las plantas, los hongos y las levaduras mediante la irradiación del ergosterol. En la irradiación, las provitaminas se convierten en previtamina D, que sufre una transformación térmica en vitamina D.

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] A. Lehner et. Al, 2021, Vitamin D analyses in veterinary feeds by gas chromatography-tandem mass spectrometry


[3] ISO 9000:2015 Quality management systems -- Fundamentals and vocabulary/ Sistemas de gestión de la calidad- Fundamentos y vocabulario.

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

	Procedimiento de ensayo Determinación de Vitamina D3 (Colecalciferol) en alimentos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-162
		Revisión: 4
		Inicio de vigencia: 2025-11-28

[5] ISO/IEC 17000:2004 Conformity assessment -- Vocabulary and general principles.

[6] Food análisis by HPLC, third edition (2012), Fat soluble vitamins, vitamin D, peg 279.

	Procedimiento de ensayo Determinación de Vitamina D3 (Colecalciferol) en alimentos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-162
		Revisión: 4
		Inicio de vigencia: 2025-11-28

4 DESARROLLO

Para realizar el ensayo se utilizan los siguientes equipos clave:

Equipos
Cromatógrafo gases con detector de masas de triple cuadrupolo
Balanza analítica con resolución de 0.1 mg
Baño María
Vortex Mixer
Destilador de agua

Tabla 2 Equipos empleados en el análisis

4.1 CONDICIONES GENERALES

4.1.1 Revisión general.

Al recibirse la muestra en el Laboratorio, ésta es inspeccionada con el fin de verificar que las condiciones de cantidad, empaque y preservación se mantienen, conforme lo indicado en el procedimiento PROC-TC-008 "Procedimiento de aseguramiento de integridad de los ítems bajo servicio".

Antes de iniciar el análisis, se debe verificar que se cuenta con mínimo 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.


4.1.2 Estabilización.

Los ítems de ensayo, patrones y controles de calidad deben atemperarse con suficiente antelación de tal manera que se encuentren en equilibrio térmico con el ambiente en el cual se ejecutarán los ensayos.

La balanza analítica y otros equipos electrónicos que realicen mediciones de alguna magnitud correspondiente a condiciones de influencia en la ejecución del ensayo deben encenderse por lo menos media hora antes de su uso. Así mismo, el cromatógrafo líquido de alta resolución debe encenderse, adecuarse y ajustarse a los parámetros de medida, acondicionando el sistema al menos 30 minutos antes de iniciar la corrida cromatográfica, a fin de lograr su operación óptima o estabilización térmica.

4.1.3 Verificación de equipos.

Antes de iniciar el ensayo, debe verificarse que el estado de funcionamiento de los equipos sea adecuado. Esto puede llevarse a cabo revisando que cuenten con la etiqueta de mantenimiento vigente y que estos no tengan alguna etiqueta que lo identifique

	Procedimiento de ensayo Determinación de Vitamina D3 (Colecalciferol) en alimentos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-162
		Revisión: 4
		Inicio de vigencia: 2025-11-28

como “Fuera de servicio”. Además, en el caso en el cual se lleve el control de uso, deben registrarse los últimos registros consignados en el formato FOR-TC-017, con el propósito de verificar que no se han registrado fallas en el funcionamiento. Si algún equipo es utilizado para la medición de alguna magnitud de influencia en el ensayo, este debe estar calibrado. Por tanto, se debe verificar la etiqueta de calibración adherida a este, y comprobar que se encuentre vigente.

Así mismo, debe verificarse que se haya realizado y registrado la verificación diaria de la balanza analítica en el formato FOR-TC-005.

Además de lo anterior, debe verificarse la fecha de expiración de los patrones, materiales de referencia y controles de calidad empleados en el ensayo con el fin de evitar el uso de materiales vencidos. Verificar que todos los reactivos preparados en el laboratorio al momento de realizar el ensayo o los que se encontraban almacenados se encuentren identificados conforme al formato FOR-TC-024 “Formato para rotular reactivos elaborados en el laboratorio”. En caso de que se encuentre alguna anomalía al respecto, avisar a la Dirección Técnica a través del Líder de Laboratorio.


4.1.4 Manejo de la muestra.

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

Sí la muestra es líquida, mezclar hasta homogeneidad aparente mediante agitación magnética, y con la ayuda de un gotero o una pipeta tomar la cantidad necesaria de muestra, mientras se continúa con la agitación.

Sí la muestra es sólida, moler o triturar en su totalidad hasta homogeneidad aparente, 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.

	Procedimiento de ensayo Determinación de Vitamina D3 (Colecalciferol) en alimentos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-162
		Revisión: 4
		Inicio de vigencia: 2025-11-28

- Mezclar los dos sectores restantes echando repetidas veces el material de los bordes hacia el centro.

NOTA: es importante evitar la exposición de la muestra a la luz y alta temperatura.

4.1.5 Medidas de seguridad.

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

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

4.2 INSTRUCCIONES DE ENSAYO.

4.2.1 Patrones y equipos de medición

4.2.1.1 Equipos de medición


- Cromatógrafo gases con detector de masas de triple cuadrupolo (GC/MS/MS)
- Columna SH-Rxi-5ms 30m x 0,25mmID, 0,25 µm
- Balanza analítica con resolución de 0.1 mg
- Transferpipetas de 10 µL, 1000 µL y 10 mL
- Baño María
- Plancha de calentamiento

4.2.1.2 Materiales y consumibles

- Micro espátula metálica
- Tubos falcon 50 mL
- Tubos de vidrio con tapa rosca
- Balón aforado de 50 mL y 25 mL
- Beaker de 250 mL
- Probeta de 50 mL y 100 mL
- Puntas para micropipeta de 1000 µL y 10 mL
- Viales ámbar de 2 mL con tapa
- Jeringas desechables de 5 mL
- Microfiltros desechables de 0.22 µm

4.2.1.3 Reactivos y soluciones

- Agua tipo I
- Dimetilformamida (DMF)
- Trimetilclorosilano (TMCS)
- Hexametildisilano (HMDS)

	Procedimiento de ensayo Determinación de Vitamina D3 (Colecalciferol) en alimentos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-162
		Revisión: 4
		Inicio de vigencia: 2025-11-28

- Etanol absoluto.
- Metanol
- Acetonitrilo
- Éter etílico
- Hexano
- Heptano
- Hidróxido de potasio
- Pirogalol
- Estándar colecalciferol (vitamina D3)
- Estándar ergocalciferol (vitamina D2)

4.2.2 Preparación de soluciones

4.2.2.1 Solución KOH 50% para saponificación

A 50 ml de agua tipo I adicionar lentamente 50 g de KOH en pellets. Homogenizar hasta completa disolución y dejar enfriar.

4.2.2.2 Solución de extracción

Mezclar 20 mL de éter etílico con 80 ml de hexano, homogenizar.

4.2.2.3 Solución stock vitamina D3

En un balón volumétrico de 50 mL, pesar 20 mg de estándar de colecalciferol, llevar a volumen y solubilizar con etanol.

4.2.2.4 Solución stock vitamina D2 (Estándar interno)

En un balón volumétrico de 50 mL, pesar 15 mg de estándar de ergocalciferol, llevar a volumen y solubilizar con etanol.


4.2.2.5 Solución de trabajo vitamina D3

En un balón de 25 mL, Tomar una alícuota de 3 ml de la solución stock de vitamina D3 y llevar a volumen con DMF, de esta solución tomar una alícuota de 0,6 mL y adicionarla a un balón de 25 mL, llevar a volumen con DMF.

4.2.2.6 Curva de calibración

4.2.2.6.1 Estándar 1,150 µg/mL: En un vial adicionar 0 µL de DMF, adicionar una alícuota de 1000 µL del estándar de trabajo de vitamina D3.

4.2.2.6.2 Estándar 0,8625 µg/mL: En un vial adicionar 250 µL de DMF, adicionar una alícuota de 750 µL del estándar de trabajo de vitamina D3.

	Procedimiento de ensayo Determinación de Vitamina D3 (Colecalciferol) en alimentos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-162
		Revisión: 4
		Inicio de vigencia: 2025-11-28

- 4.2.2.6.3 Estándar 0,575 µg/mL:** En un vial adicionar 500 µL de DMF, adicionar una alícuota de 500 µL del estándar de trabajo de vitamina D3.
- 4.2.2.6.4 Estándar 0,460 µg/mL:** En un vial adicionar 600 µL de DMF, adicionar una alícuota de 400 µL del estándar de trabajo de vitamina D3.
- 4.2.2.6.5 Estándar 0,3456 µg/mL:** En un vial adicionar 700 µL de DMF, adicionar una alícuota de 300 µL del estándar de trabajo de vitamina D3
- 4.2.2.6.6 Estándar 0,230 µg/mL:** En un vial adicionar 800 µL de DMF, adicionar una alícuota de 200 µL del estándar de trabajo de vitamina D3
- 4.2.2.6.7 Estándar 0,115 µg/mL:** En un vial adicionar 900 µL de DMF, adicionar una alícuota de 100 µL del estándar de trabajo de vitamina D3
- 4.2.2.6.8 Estándar 0,058 µg/mL:** En un vial adicionar 950 µL de DMF, adicionar una alícuota de 50 µL del estándar de trabajo de vitamina D3
- 4.2.2.6.9 Estándar 0,029 µg/mL:** En un vial adicionar 975 µL de DMF, adicionar una alícuota de 25 µL del estándar de trabajo de vitamina D3
- 4.2.2.6.10 Estándar 0,0115 µg/mL:** En un vial adicionar 990 µL de DMF, adicionar una alícuota de 10 µL del estándar de trabajo de vitamina D3
- 4.2.2.6.11 Estándar 0,00575 µg/mL:** En un vial adicionar 995 µL de DMF, adicionar una alícuota de 5 µL del estándar de trabajo de vitamina D3

4.2.2.7 Solución estándar de trabajo vitamina D2 (Estándar interno)

En un balón de 25 mL, Tomar una alícuota de 3 ml de la solución stock de vitamina D2 y llevar a volumen con DMF, de esta solución tomar una alícuota de 0,8 mL y adicionarla a un balón de 25 mL, llevar a volumen con DMF.

4.2.3 Preparación del estándar.

Preparar cada nivel de la misma manera

Tomar una alícuota de 1 mL de la solución estándar de la curva de calibración y transferir a un tubo de vidrio tapa rosca, adicionar 200 µL de la solución estándar de trabajo vitamina D2.

Continuar desde derivatización 4.2.4.4.


4.2.4 Preparación de la muestra

Cuando la muestra este finalmente homogenizada se procede a realizar la preparación de la solución de prueba como se describe a continuación:

NOTA: Las muestras deben estar protegidas de la luz durante todo el proceso

4.2.4.1 Cantidad de muestra:

En un tubo falcón de 50 mL:

	Procedimiento de ensayo Determinación de Vitamina D3 (Colecalciferol) en alimentos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-162
		Revisión: 4
		Inicio de vigencia: 2025-11-28

- Pesar 2 g de muestras solidas
- Tomar 6 mL de muestras liquidas

NOTA: en caso de tener muestras con alta concentraciones de vitamina D, pesar o tomar menos cantidad de muestra. En caso de que se necesite pesar menos muestra debido a la alta concentración de vitamina D, se sugiere realizar una solución pesando la muestra y diluyendo a un volumen conocido con solvente agua y tratar esta muestra como una muestra liquida, tener en cuenta los factores de dilución ya descritos para hacer el cálculo. Si la matriz no es soluble en agua, realizar diluciones con sólidos, es decir se pesa una cantidad de muestra ejemplo 1 g y se lleva a 10 gramos con cloruro de sodio, lo que nos daría una dilución m/m de 10, esta dilución se macera para asegurar su homogeneidad, luego de macerada la muestra, se pesa y se continua con el análisis.

4.2.4.2 Saponificación


- Adicionar 200 µL de estándar de trabajo vitamina D2
- Adicionar 50 mg de pirogalol
- Adicionar 6 mL de agua tipo I (únicamente a las muestras solidas), y homogenizar en vortex durante 30 seg
- Adicionar 6 mL de metanol, agitar en vortex durante 30 segundos
- Adicionar 4 mL de solución de KOH 50 %, agitar en vortex durante 10 segundos
- Poner la muestra en baño maría a 75°C durante 60 minutos, agitando las muestras cada 10 minutos.
- Transcurrido el tiempo enfriar inmediatamente a temperatura ambiente empleando baño de hielo.

4.2.4.3 Extracción

- Adicionar 5 mL de acetonitrilo, homogenizar en vortex durante 30 segundos
- Adicionar 20 mL de solución de extracción. Agitar en vortex durante 2 minutos.
- Llevar el tubo a centrifuga a 7000 rpm durante 5 minutos. Si es necesario, se puede repetir de centrifugación con más tiempo.
- Transferir 15 mL de la fase orgánica a un tubo ámbar de vidrio tapa rosca
- Evaporar hasta sequedad con flujo de nitrógeno y en baño a temperatura de 40°C
- Reconstituir con 1,2 ml de DMF, agitar en vortex durante 10 segundos

4.2.4.4 Derivatización

- Una vez la muestra reconstituida adicionar 0,2 mL de HMDS y 0,1 mL de TMCS, tapar el tubo y agitar en vortex durante 30 segundos
- Dejar reposar la muestra durante 15 minutos
- Pasado este tiempo, adicionar 1 mL de heptano, adicionar 10 mL de agua tipo I. Tapar el tubo y agitar vigorosamente 30 segundos, dejar reposar 5 minutos aproximadamente para la separación de fases. En caso de no presentarse una buena

	Procedimiento de ensayo Determinación de Vitamina D3 (Colecalciferol) en alimentos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-162
		Revisión: 4
		Inicio de vigencia: 2025-11-28

separación de fases, se transfiere la muestra a un tubo falcón de 15 mL y se centrifuga por 5 minutos a 5000 rpm.

- Transferir suficiente fase orgánica superior a un vial para la inyección en el GC. Asegurarse de no transferir fase acuosa. Analizar los estándares y muestra antes de 24 horas.

4.2.5 Condiciones cromatográficas

Modo: GC/MS/MS

Columna: SH-Rxi-5ms 30m x 0,25mmID, 0,25 µm

T° inyector: 260°C

Modo inyección: Splitless

Sampling time: 1 minuto

Split: 20

Volumen de inyección: 2 µL

Control: Column Flow

Flujo columna: 1,2 mL/min

Flujo de purga: 3 mL/min

Rampa:

Velocidad (°C/min)	Temperatura (°C)	Hold (min)
-	80	2
40	315	8

Tabla 3 Programación de las rampas de temperatura del cromatógrafo

Detector:

Ion source temp: 300°C


Interface temp: 290°C

Solvent cut time: 4 min

Modo de adquisición MRM:

Analito	Tipo	Transición	CE
Vitamina D3	Ion Cuantificador	351,30 > 143,10	20
	Ion Cualificador 1	325,25 > 119,20	20
	Ion Cualificador 2	325,25 > 171,20	16
Vitamina D2	Ion Cuantificador	363,25 > 143,20	17
	Ion Cualificador 1	337,25 > 69,10	27
	Ion Cualificador 2	363,25 > 69,10	21

Tabla 4 Condiciones para el detector MS/MS

	Procedimiento de ensayo Determinación de Vitamina D3 (Colecalciferol) en alimentos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-162
		Revisión: 4
		Inicio de vigencia: 2025-11-28

4.2.6 Calibración

Generar el modelo de regresión lineal relacionando la concentración ($\mu\text{g}/\text{mL}$) y el cociente de las áreas (área vitamina D3/área vitamina D2) directamente desde el software Labsolutions.

4.3 INFORME

Los datos serán registrados en el formato FOR-TC- 144 "Formato para el registro de datos primarios para el ensayo de vitamina D3"

Los resultados cromatográficos son registrados en el cuadro de mando de Excel del laboratorio para análisis de vitamina D3, SOFT-TC-044 "Cuadro de mando para el ensayo de Vitamina D", en la ruta de acceso \laboratorio\REGISTROS\REGISTROS RT.

Los resultados se analizan de la siguiente manera:

El área del pico cromatográfico correspondiente al analito en los extractos de las muestras es interpolada en la función de calibración en el software Labsolutions, obteniéndose así la concentración del compuesto de interés presente en dicho extracto.

Calcular la fracción en masa de vitamina D3 en $\mu\text{g}/100\text{g}$ o ml de la muestra:

$$\text{Resultado} \left(\frac{\mu\text{g}}{100\text{g} \text{ ó } \text{mL}} \right) = C \times \frac{20 \text{ mL}}{W} \times \frac{1\text{mL}}{20\text{mL}} \times 100$$

Donde:


C = Concentración de analito en la solución muestra estimada a partir del modelo de regresión del software Labsolutions ($\mu\text{g}/\text{mL}$)

W = Peso de la muestra (g o mL)

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

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

4.4 CONTROL DE LA CALIDAD


	Procedimiento de ensayo Determinación de Vitamina D3 (Colecalciferol) en alimentos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-162
		Revisión: 4
		Inicio de vigencia: 2025-11-28

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

CONTROL	PERIODICIDAD	CRITERIO
Verificación de la contaminación de los reactivos (Blanco de reactivos)	En cada lote de ensayo	No deben presentarse picos cuantificables en los tiempos de retención de los analitos
Duplicado por matriz	Cada que se realiza el ensayo	El coeficiente de variación obtenido debe ser menor o igual al 10%
Estándar 0,230 µg/mL 4.2.2.6.3	Cada que se realiza el ensayo pasando por el proceso de extracción	% de recuperación entre el 85 y el 115% del valor teórico.
Muestra de retención (Leche NAN)	Cada que se realiza el ensayo pasando por el proceso de extracción	% de recuperación entre el 85 y el 115% del valor teórico.
Participación en Interlaboratorio (Rotación de matriz)	Anual	Debe obtenerse una calificación satisfactoria en la participación

Tabla 5 Control de calidad analítico

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

	Procedimiento de ensayo Determinación de Vitamina D3 (Colecalciferol) en alimentos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-162
		Revisión: 4
		Inicio de vigencia: 2025-11-28

5 RESPONSABILIDADES.

5.1 Director técnico.

- Asegurar la aplicación del presente documento y tomar decisiones en casos especiales no contemplados.
- Revisar y aprobar los informes técnicos una vez han sido revisados por el Líder de Laboratorio.
- Asesorar y orientar los analistas en la resolución de dudas e inconvenientes surgidos durante el desarrollo de los ensayos.
- Realizar o revisar las investigaciones pertinentes a los trabajos no conformes derivados de la ejecución del método y autorizar las indicaciones a seguir.
- Establecer los casos en los cuales se realiza la retención de muestras.


5.2 Director de Calidad.

- Asegurar la aplicación del presente documento y tomar decisiones en casos especiales no contemplados.
- Realizar y registrar las investigaciones pertinentes a los trabajos no conformes derivados de la ejecución del método.
- Revisar los resultados obtenidos del aseguramiento de calidad del método.
- Archivar los registros técnicos relacionados con los ensayos.

5.3 Coordinador técnico.

- Asegurar la aplicación del presente documento por el personal subordinado o supervisado.
- Revisar los resultados ingresados por el analista, haciendo seguimiento de la trazabilidad del análisis (Cuadros de mando, formato de solicitud de servicio y salvaguardia de muestras, formatos de datos primarios) antes de enviar el informe final al director técnico.
- Realizar la revisión de resultados teniendo en cuenta la normativa vigente si esta aplica.
- Informar al director técnico las desviaciones que se den durante el desarrollo del método.
- Reportar y registrar los trabajos no conformes derivados del análisis al líder de calidad y al director técnico.
- Informar los casos en los que se deben de retener las muestras.
- Supervisar el cumplimiento de las actividades de aseguramiento de calidad.

5.4 Analista.

	Procedimiento de ensayo Determinación de Vitamina D3 (Colecalciferol) en alimentos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-162
		Revisión: 4
		Inicio de vigencia: 2025-11-28

- Seguir todas las instrucciones establecidas en este procedimiento y en el reglamento del laboratorio.
- Ingresar y entregar todos los resultados en los tiempos pactados.
- Entregar formatos de datos primarios completamente diligenciados al líder del laboratorio.
- Realizar revisión de datos primarios y cálculos realizados en los cuadros de mandos, informar al líder del laboratorio en caso de observar alguna desviación en los resultados obtenidos teniendo en cuenta las cartas control.
- Registrar los resultados de los ensayos de control de calidad y hacer el análisis de tendencias de estos.
- Realizar el análisis de los resultados de control de calidad de acuerdo con el procedimiento PROC-TC-077.
- Realizar la revisión de resultados teniendo en cuenta la normativa vigente si esta aplica.
- Informar al líder de laboratorio las desviaciones que se den durante el desarrollo del método.
- Reportar y registrar los trabajos no conformes derivados del análisis al líder del laboratorio.
- Informar cualquier incidente que suceda durante la realización del método.
- Revisar que los equipos usados en el desarrollo del método tengan mantenimiento, calibración y/o verificación vigente, de acuerdo con el programa de mantenimiento y calibración.

6 FORMATOS RELACIONADOS.

SOFT-TC-044 "Cuadro de mando para el ensayo de Vitamina D"

FOR-TC- 144 "Formato para el registro de datos primarios para el ensayo de vitamina D3"

7 ANEXOS

No Aplica