



USO DEL LC AGILENT 1260 INFINITY II

Código: ITR-LRPM-128
Emisor: DGT-DL-DLQ-LRPM
Versión: 01
Vigente: 17/08/2023
Página: 1 de 11

USO DEL LC AGILENT 1260 INFINITY II

ELABORADO POR	VERIFICADO POR	APROBADO POR
Nombre y Apellido: Lic. Carmen Rodas Lic. Alba Domínguez	Nombre y Apellido: Dra. Ing. Agr. Jadiyi Torales	Nombre y Apellido: Ing. Agr. Cesar Rivas
Cargo: Técnica Responsable del área de Micotoxinas Jefa Interina del DLQ	Cargo: Directora de Laboratorios	Cargo: Director General Técnico
Firma:	Firma:	Firma:
Fecha: 24/07/2023	Fecha:	Fecha: 17/08/2023



USO DEL LC AGILENT 1260 INFINITY II

Código: ITR-LRPM-128
Emisor: DGT-DL-DLQ-LRPM
Versión: 01
Vigente: 17/08/2023
Página: 2 de 11

1. OBJETIVO

Describir el modo de operación y verificación del Cromatógrafo Líquido de Alta Eficacia (HPLC) con detector de Fluorescencia (FLD)

2. ALCANCE

Se aplica a los equipos marca Agilent, modelo 1260 Infinity II

El sistema LC en línea Agilent 1260 Infinity II Prime consta de los siguientes

componentes:

- Bomba flexible 1260 Infinity II
- Juego de gestor de muestras en línea 1260 Infinity II
- Gestor de muestras en línea 1260 Infinity II
- Válvula de muestreo externa: Accionamiento de válvula universal, equipado con una válvula FI de 3 posiciones y 6 puertos
- Termostato multicolumna
- Detector de fluorescencia
- Gabinete de disolventes

3. SIGLAS Y DEFINICIONES

3.1. Siglas

- a) **ITR** : Instructivo de trabajo
- b) **DLQ** : Dirección de Laboratorios Químicos
- c) **LRPM** : Laboratorio de Residuos de Plaguicidas y Micotoxinas
- d) **UMEL** : Unidad de Mantenimiento de Equipos de Laboratorio.

3.2. Definiciones

- a) **Instructivo (ITR):** son los documentos que describen las actividades paso a paso que se realizan en una etapa de un proceso y son complementarias a los procedimientos.
- b) **Formularios (FOR):** son documentos con formato (físico o digital) preestablecido
- c) **Calibración:** es el conjunto de operaciones que establecen, en condiciones especificadas, la relación entre los valores de una magnitud indicados por un instrumento de medida o un sistema de medida, o los valores representados por una medida materializada o por un material de



USO DEL LC AGILENT 1260 INFINITY II

Código: ITR-LRPM-128
Emisor: DGT-DL-DLQ-LRPM
Versión: 01
Vigente: 17/08/2023
Página: 3 de 11

referencia, y los valores correspondientes de esa magnitud realizados por patrones.

4. RESPONSABILIDAD

Es responsabilidad del Responsable de la Unidad de Mantenimiento de Equipos de Laboratorio y de los técnicos que operan el equipo, verificar el adecuado cumplimiento de este instructivo.

5. ACTIVIDADES

5.1 Buenas Prácticas

5.1.1 Tareas diarias / semanales

5.1.1.1 Tareas diarias

5.1.1.1.1 Sustituir de disolventes y botellas de disolvente para fases móviles en función de agua/tampón.

5.1.1.1.2 Sustituir los disolventes y las botellas de disolvente para la fase móvil orgánica a más tardar cada dos días.

5.1.1.1.3 Comprobar la presencia de disolvente de lavado de sellado.

5.1.1.1.4 Purgar cada canal con disolvente fresco a 2,5 - 3 mL/min durante 5 min antes de operación.

5.1.1.1.5 Equilibrar el sistema con la composición y el caudal del método subsiguiente.

5.1.1.2 Tareas semanales

5.1.1.2.1 Cambiar el disolvente de lavado de las juntas (isopropanol al 10 % en agua) y la botella.

5.1.1.2.2 Si se utilizaron aplicaciones con sales, lavar todos los canales con agua y eliminar manualmente los posibles depósitos de sal.

5.1.1.2.3 Inspeccionar los filtros de disolvente en busca de suciedad u obstrucciones. Cambiar si no sale caudal de la línea de disolvente cuando se retira de la entrada del desgasificador.

5.1.2 Encendido / Apagado de la bomba

5.1.2.1 Preparar la bomba

5.1.2.1.1 Utilizar una fase móvil nueva o diferente (según sea necesario).

5.1.2.1.2 Purgar cada canal con 2,5 - 3 mL/min durante 5 min. Abra la válvula de purga manual



USO DEL LC AGILENT 1260 INFINITY II

Código: ITR-LRPM-128
Emisor: DGT-DL-DLQ-LRPM
Versión: 01
Vigente: 17/08/2023
Página: 4 de 11

manual o utilizar el comando de purga, dependiendo del tipo de bomba.

5.1.3 Parada prolongada del sistema

- 5.1.3.1 Lavar el sistema con agua para eliminar el tampón.
- 5.1.3.2 Retirar todas las muestras del muestreador y almacenélas de acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio.
- 5.1.3.3 Utilizar los disolventes recomendados para almacenar el sistema.
- 5.1.3.4 Apagar el sistema.

5.1.4 Preparar la bomba

5.1.4.1 Purgar

Utilizar la función Purga para:

- llenar la bomba
- cambiar un disolvente,
- eliminar burbujas de aire en tubos y cabezales de bomba.

5.1.4.2 Acondicionar

Utilizar la función Acondicionar

- diariamente al arrancar la bomba
- para minimizar la ondulación de la presión disolviendo las burbujas de aire en los cabezales de la bomba.

5.1.4.3 Lavado de juntas-SEAL WASH

Seal Wash garantiza la máxima vida útil de la junta. Utilizar Seal Wash:

- Cuando se utilicen tampones con elevadas concentraciones de sal
- Cuando utilicen disolventes volátiles con aditivos no volátiles

5.1.5 Cómo tratar los disolventes

- 5.1.5.1 Utilizar sólo botellas limpias.
- 5.1.5.2 Cambiar diariamente los disolventes de base acuosa.
- 5.1.5.3 Seleccionar el volumen de disolvente que se utilizará en 1 o 2 días.

- 5.1.5.4 Utilizar únicamente disolventes de grado HPLC y agua filtrada a través de filtros de 0,2 μm .
- 5.1.5.5 Etiquetar correctamente las botellas con el contenido de la botella y la fecha de llenado/fecha de caducidad.
- 5.1.5.6 Utilizar filtros de entrada de disolvente.
- 5.1.5.7 Reducir el riesgo de crecimiento de algas: utilizar botellas marrones para disolventes acuosos, evitar la luz solar directa.

5.1.6 Seleccionar los canales para la válvula de gradiente

- 5.1.6.1 Utilizar los canales inferiores (A y/o D) para las soluciones tampón.
- 5.1.6.2 Enjuagar regularmente todos los canales de gradiente con agua para eliminar posibles depósitos de sal. salinos.
- 5.1.6.3 Comprobar la compatibilidad de los tampones y los disolventes orgánicos para evitar precipitaciones.

5.2 Puesta a punto

5.3 Encendido del equipo

Encender todos los módulos mediante los botones de encendido frontales.

Código de color:

Verde: Ok

Naranja: Standby

Rojo: Error

Posterior a esto ingresar al icono



5.4 Creación de método

Ingresar a la opción **Method** cada uno de los módulos del Software, Dando clic secundario sobre cada pestaña:

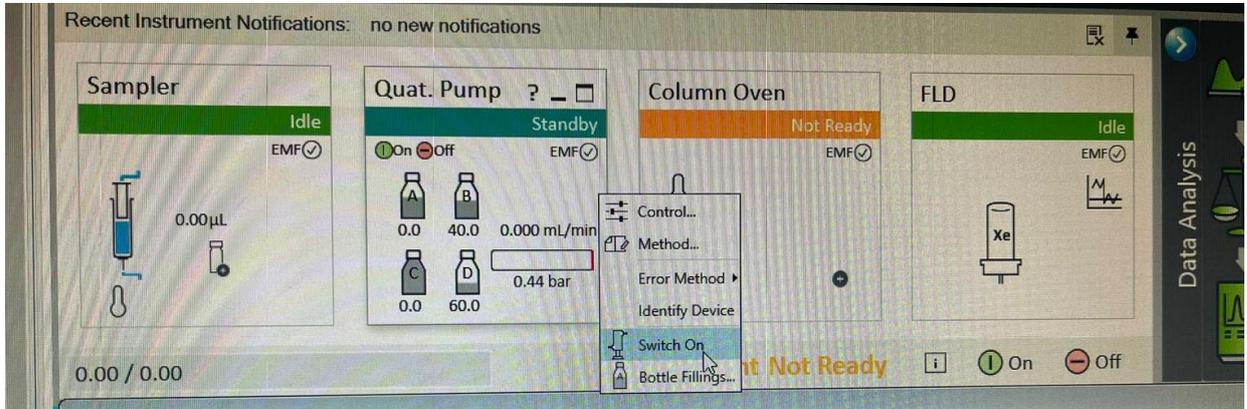
Sampler

Quat Pump

Column

FLD

Ingresando a la opción method , especificar las condiciones de cada uno para la metodología a utilizar



5.5 Pasos Pre-Secuencia

Realizar lavados(purga) a los canales que se van a utilizar y estabilizar posteriormente el equipo por 15 min con el método seleccionado

5.6 Creación de secuencia

Para crear secuencia ir a la pestaña Sequence → Sequence Table and cargar los datos solicitados

Line	Sample	Sample Name	Method Name	Inj/Loc	Sample Type	Cal Level	Sample Informati...	Data File
1	P1-A1	StAF 0.0005 ng/ul	AFT_G1B1G...	1	Sample			
2	P1-A2	StAF 0.001 ng/ul	AFT_G1B1G...	1	Sample			
3	P1-A3	StAF 0.002 ng/ul	AFT_G1B1G...	1	Sample			
4	P1-A4	StAF 0.005 ng/ul	AFT_G1B1G...	1	Sample			
5	P1-A5	NC MAIZ_1	AFT_G1B1G...	1	Sample			
6	P1-A6	PC MAIZ_1	AFT_G1B1G...	1	Sample			
7	P1-A7	NC MAIZ_2	AFT_G1B1G...	1	Sample			
8	P1-A8	PC MAIZ_2	AFT_G1B1G...	1	Sample			
9	P1-A9	DL-04-00016/2023	AFT_G1B1G...	1	Sample			
10		LAVADO	LAVADO	1	Sample			
11								

Si ya se ha purgado y estabilizado el equipo previamente, proceder a presionar el botón RUN

5.6.1 Shutdown

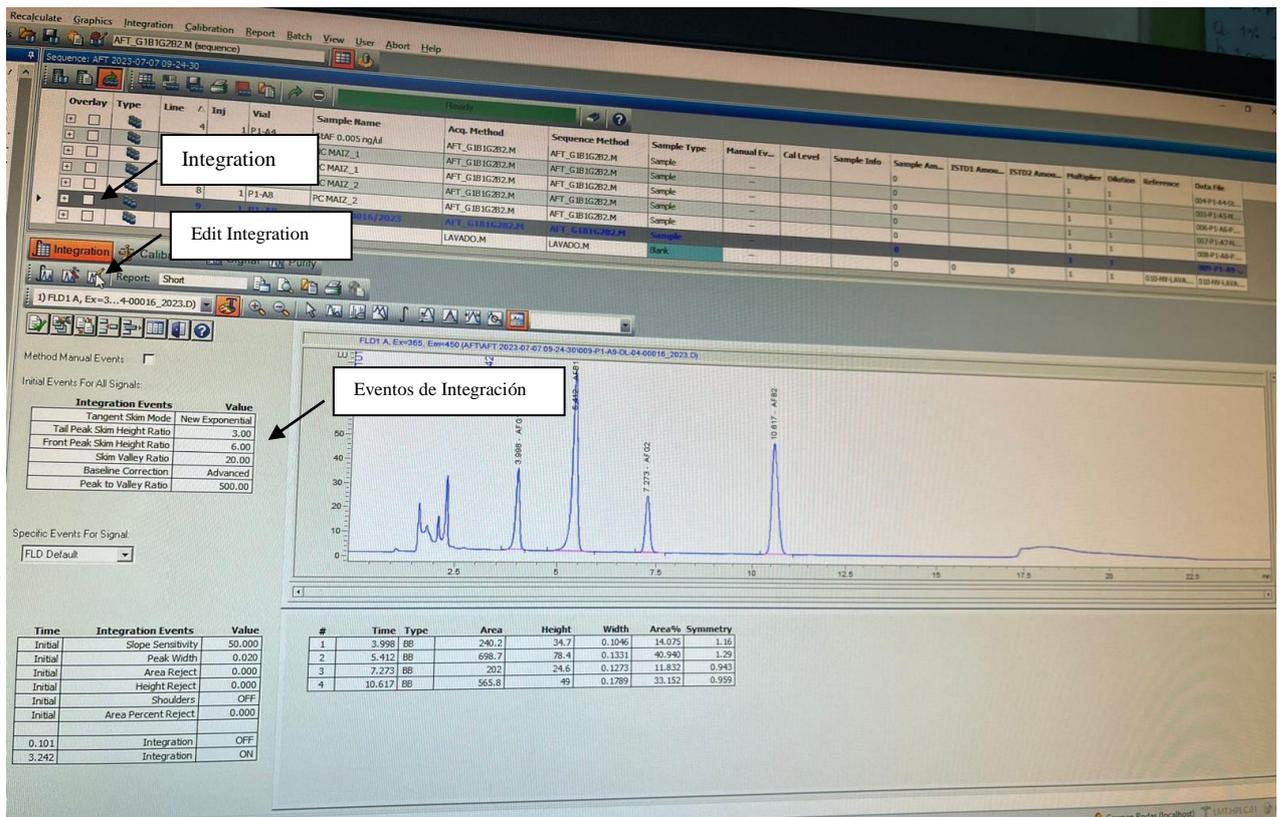
Cuando el proceso de lectura durase más tiempo o no se pueda revisar constantemente el equipo, programar el Shutdown ingresando a la opción Sequence Parameters, en su apartado Shutdown → tildar la casilla Post-Sequence comand/macro and elegir la opción Shut Instrument Down and presionar el botón OK

5.7 Análisis de Datos

5.7.1 Integración



Para integrar lo obtenido ir al icono  posicionarse sobre la carpeta que contiene a la corrida realizada y una vez que se observen los cromatogramas presionar el icono de Integration → Edit Integration y realizar los ajustes necesarios, posicionándose sobre cualquiera de las lecturas desplegadas, preferentemente uno de los puntos de la curva:



5.7.1.1 La recomendación del fabricante sobre los eventos de integración de integración son los siguientes:

5.7.1.1.1 Slope sensitivity to 50.

5.7.1.1.2 Peak width de la integración inicial. Usando el menor peak width de un pico cromatografico real, no ruido. Fijar initial height y area reject to a cero.

5.7.1.1.3 Fijar Tail Peak Skim Height Ratio en 3, el Front Peak Skim Height Ratio en 6, y el the Skim Valley Ratio to 20.

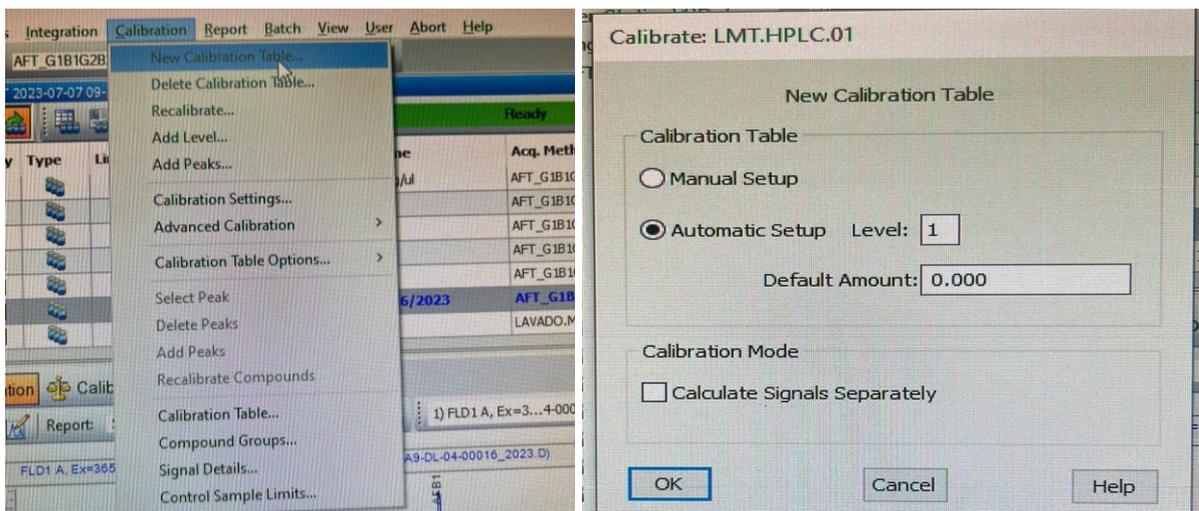
5.7.1.1.4 La Baseline correction en Advanced con Tangent Skim en modo New Exponential.

5.7.1.1.5 Integrar y ver resultados.

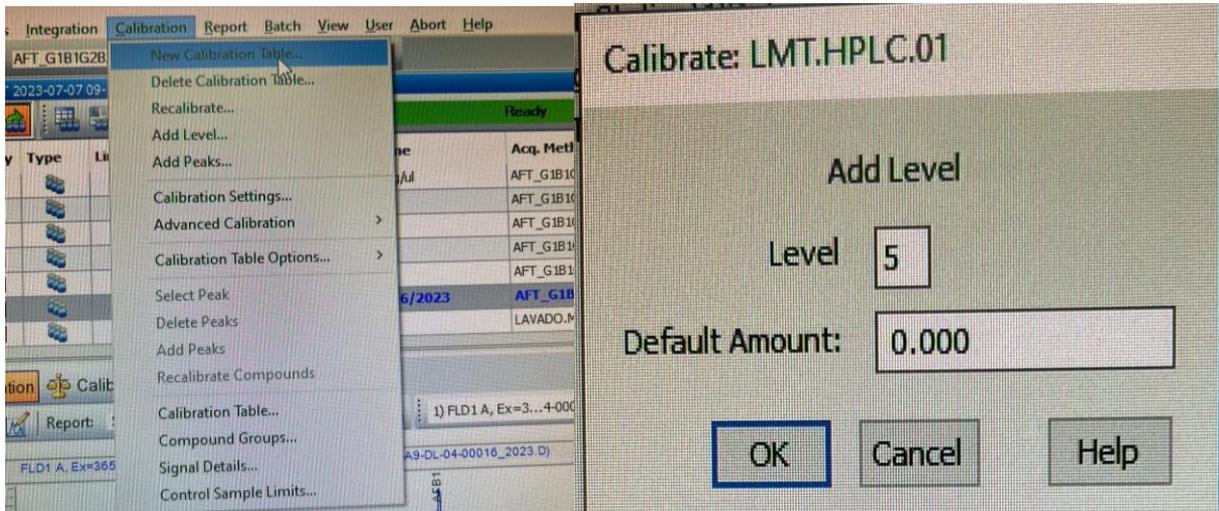
- 5.7.1.1.6 Si todos los picos de interes no fueron integrados, bajar la slope sensitivity hasta que picos reales sean integrados.
- 5.7.1.1.7 Si sigue habiendo picos, bajar los ajustes de peak width.
- 5.7.1.1.8 Utilizar eventos cronometrados de ser necesario.
- 5.7.1.1.9 Remueva picos innecesarios con height or area reject.

5.7.2 Calibración

- 5.7.2.1 Posterior a la integración, presionar los iconos  y  e ir a la pestaña de calibración
- 5.7.2.2 Una vez situado en esta pestaña, proceder a agregar los puntos de la siguiente manera:
- 5.7.2.3 Colocar el cursor en la lectura del punto más bajo, dando un doble clic sobre la misma
- 5.7.2.4 Ir a la pestaña Calibration → New Calibration table y cargar la concentración del punto de la curva (es conveniente que la expresión sea en ng/ul) y presionar ok



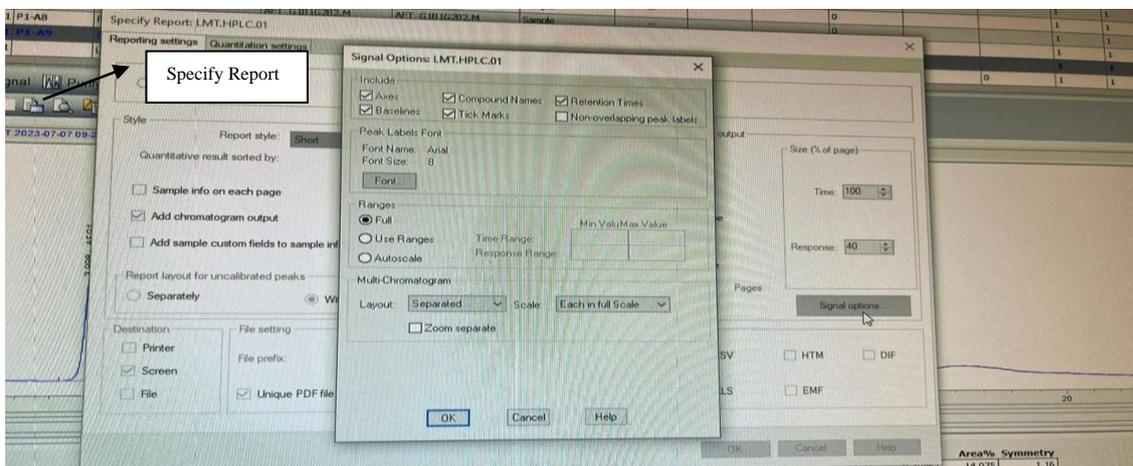
- 5.7.2.5 Para los siguientes puntos de la curva proceder de la misma manera, con excepción de presionar primeramente la subpestaña add level



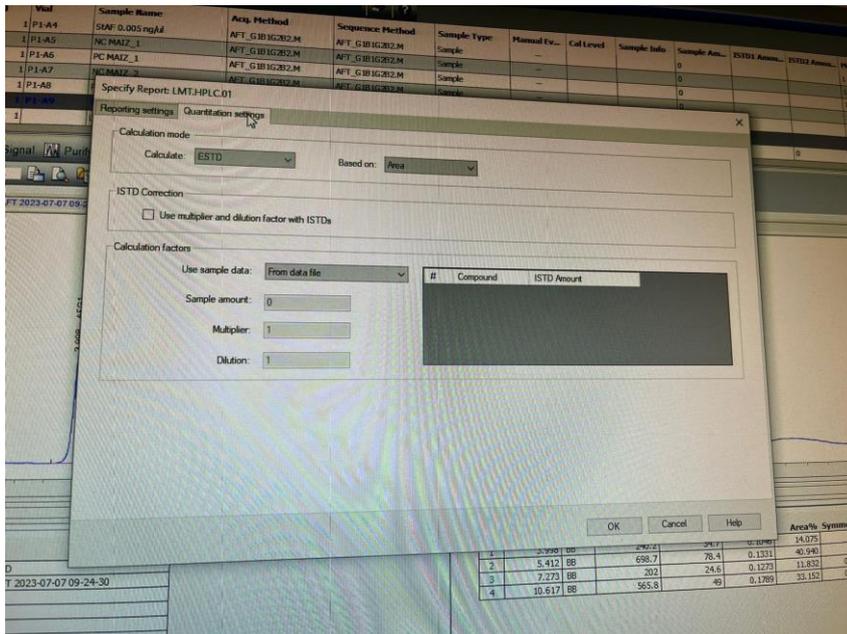
5.7.2.6 Cuando se hayan cargado todos los puntos de la curva, volver a la opción integration y observar los cromatogramas.

5.7.3 Tips

5.7.3.1 Si se quieren observar los nombres de los picos utilizar la opción Specify Report → Signal Options y marcar el casillero Compound Name, presionando finalmente OK



5.7.3.2 Para colocar los resultados en modo Estandar Externos, utilizar nuevamente Specify Report, e ir a la pestaña Quantitation Settings Calculation Mode → y seleccionar ESTD



4.6 Verificación del Sistema UPLC

Las operaciones de verificación del estado del equipo se realizan mediante la inyección de un material de referencia certificado con columna específica e identificada para tal efecto. Con lo cual se verifica la eficacia, la precisión (repetibilidad y reproducibilidad de las áreas) y exactitud del equipo.

4.7 Calibración

4.7.1 Este equipo se verifica anualmente si requiere calibración, no está incluido dentro del Plan de Calibración.

4.7.2. Las comprobaciones para asegurar que responde a las especificaciones exigidas se realizan a través de las verificaciones, que se detallan en el punto anterior.

4.7.3 se realiza una calificación del equipo cada 5 años

4.8 Mantenimiento

La empresa representante de la marca es responsable del mantenimiento de los equipos, con el acompañamiento del UMEL de realizar el mantenimiento. La frecuencia de mantenimiento se establece en preventivo y correctivo de acuerdo a la necesidad, los registros se encuentran adjuntos a la ficha de equipos.

6. CONTROL DE CAMBIOS

N/A



USO DEL LC AGILENT 1260 INFINITY II

Código: ITR-LRPM-128
Emisor: DGT-DL-DLQ-LRPM
Versión: 01
Vigente: 17/08/2023
Página: 11 de 11

7. DOCUEMNTOS

Nombre del Documento	Código	Área de archivo	Responsable	Tiempo de retención por dependencia	Disposición Final
Plan de Mantenimiento	FOR-DL-050	LRPM	Responsable del área de micotoxinas	5 años	Eliminación
Protocolo de Trabajo	FOR-DLQ-048	LRPM	Responsable del área de micotoxinas	5 años	Eliminación
Ficha de equipos	FOR-DL-028	LRPM	Responsable del área de micotoxinas	5 años	Eliminación

8. ANEXOS

NA