



UNIVERSIDAD DE CHILE
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas
Departamento de Química Farmacológica y Toxicológica

CALIFICACIÓN DE EQUIPOS ANALÍTICOS Y
DESARROLLO DE UNA METODOLOGÍA ANALÍTICA PARA CONTROL DE
SOLVENTES RESIDUALES EN MATERIAS PRIMAS

Unidad de Práctica Prolongada para optar al Título de Químico Farmacéutico

AUTOR:

EDUARDO ALBERTO PARDO GARRETÓN

MONITORES:

Andrés Navarrete Aguilera
Químico Farmacéutico – Jefe De Aseguramiento de la Calidad
Cristóbal Vallejos Ramos
Químico Farmacéutico – Jefe de Control de Calidad

ACADÉMICO SUPERVISOR:

Ronny Bocic Vildósola
Químico Farmacéutico

LABORATORIOS LAFI LTDA.

Santiago, Chile
junio 2006

TABLA DE CONTENIDO

	Página
Índice de tablas.....	IV
Índice de figuras.....	V
Índice de gráficos.....	VI
Resumen.....	VII
I. Introducción	
1.1 Descripción del Laboratorio de Control de Calidad.....	1
1.2 Justificación de la calificación de equipos analíticos en el laboratorio.....	2
1.3 Etapas de la calificación.....	3
1.3.1 Calificación de instalación.....	4
1.3.2 Calificación operacional.....	4
1.3.3 Calificación de desempeño.....	5
1.4 Control de solventes residuales en materias primas.....	7
1.5 Definición y clasificación de solventes residuales.....	7
II. Objetivos	
2.1 Objetivos generales.....	9
2.2 Objetivos específicos.....	9
III. Materiales	
3.1 Materias primas y reactivos utilizados en la calificación.....	10
3.2 Materias primas y reactivos utilizados en el desarrollo de la metodología analítica.....	10
3.3 Equipos y materiales utilizados en la calificación.....	11
3.4 Equipos y materiales utilizados en el desarrollo de la metodología analítica.....	12
IV. Metodología	
4.1 Calificación del espectrofotómetro infrarrojo Bruker IFS 28.....	13
4.2 Calificación del medidor de humedad Metrohm 633.....	18
4.3 Calificación del viscosímetro rotacional digital Brookfield LV DV-I+.....	24
4.4 Calificación del pHmetro digital Orion 370.....	29
4.5 Desarrollo de la metodología analítica de control de solventes residuales.....	31

4.5.1	Verificación de respuestas en condiciones USP.....	31
4.5.2	Columna cromatográfica.....	31
4.5.3	Programación de temperatura de la columna.....	32
4.5.4	Determinación de presión de gas carrier y flujo split.....	32
4.5.5	Condiciones de toma de muestra por sistema headspace.....	32
4.5.6	Precisión y resolución.....	33
V. Resultados y Discusiones		
5.1	Resultados y discusiones de calificación del espectrofotómetro infrarrojo.....	34
5.2	Resultados y discusiones de calificación del medidor de humedad.....	36
5.3	Resultados y discusiones de calificación del viscosímetro rotacional digital....	39
5.4	Resultados y discusiones de calificación del pHmetro digital.....	41
5.5	Resultados y discusiones del desarrollo de la metodología analítica.....	42
VI. Conclusiones.....		48
VII. Referencias.....		49
VIII. Anexos.....		

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
TABLA N° 1 Determinación de la exactitud de lectura de las bandas.....	34
TABLA N° 2 Evaluación de la repetibilidad en la lectura de las bandas.....	35
TABLA N° 3 Evaluación del ruido en el espectrofotómetro infrarrojo.....	35
TABLA N° 4 Evaluación de la resolución del espectro infrarrojo.....	35
TABLA N° 5 Control de las funciones de encendido y apagado del medidor de humedad.....	36
TABLA N° 6 Verificación del tiempo de detención de la titulación.....	37
TABLA N° 7 Evaluación de la precisión de la velocidad de entrega de titulante.....	37
TABLA N° 8 Resultados de la precisión de la velocidad de entrega de titulante.....	37
TABLA N° 9 Datos de la relación peso de muestra v.s. volumen gastado de titulante.....	38
TABLA N° 10 Datos de la relación factor de equivalencia v.s. volumen gastado de titulante.....	38
TABLA N° 11 Evaluación de la estabilidad del torque.....	39
TABLA N° 12 Verificación del eje de rotación.....	40
TABLA N° 13 Verificación de la velocidad de rotación.....	40
TABLA N 14 Evaluación de la exactitud de las lecturas del viscosímetro.....	41
TABLA N° 15 Evaluación de la precisión de las lecturas del viscosímetro.....	41
TABLA N° 16 Evaluación de la exactitud de las determinaciones del pHmetro.....	42
TABLA N° 17 Evaluación de la precisión de las determinaciones del pHmetro.....	42
TABLA N° 18 Clasificación de solventes residuales según ICH, adaptado por USP..Anexo N° 6	
TABLA N° 19 Resolución de los picos de la mezcla de solventes.....	46
TABLA N° 20 Precisión de inyección.....	46

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
FIGURA N° 1 Fotografía del espectrofotómetro infrarrojo Bruker IFS 28.....	Anexo N° 1
FIGURA N° 2 Espectro electromagnético mostrando el rango infrarrojo medio.....	13
FIGURA N° 3 Esquema de funcionamiento del interferómetro de Michelson.....	14
FIGURA N° 4 Ilustración de la transformación de Fourier, a partir de la intensidad del rayo, para obtener un espectro de respuesta en el infrarrojo.....	15
FIGURA N° 5 Fotografía del medidor de humedad Metrohm 633.....	Anexo N° 2
FIGURA N° 6 Fotografía del viscosímetro digital Brookfield LV DV-I+.....	Anexo N° 3
FIGURA N° 7 Fotografía del pHmetro digital Orion 370.....	Anexo N° 4
FIGURA N° 8 Fotografía del comatógrafo de gases Shimadzu GC-14B.....	Anexo N° 5
FIGURA N° 9 Cromatograma isotérmico a 35° C.....	43
FIGURA N° 10 Cromatograma isotérmico a 40° C.....	44
FIGURA N° 11 Cromatograma a 100 kPa de presión de gas carrier.....	44
FIGURA N° 12 Cromatograma con flujo de gas carrier a 25 mL/min.....	45

ÍNDICE DE GRÁFICOS

		Página
GRÁFICO N° 1	Gráfico de la relación peso de muestra v.s. volumen de titulante gastado.....	38
GRÁFICO N° 2	Gráfico de la relación factor de equivalencia del titulante v.s. volumen gastado de titulante.....	39
GRÁFICO N° 3	Gráfico del tiempo de equilibrio en el vial a 80° C.....	45

RESUMEN

Se realizó una recopilación de la información disponible de instrumental y equipamiento analítico del Laboratorio de Control de Calidad de una planta farmacéutica a partir de sus manuales, especificaciones y técnicas, información obtenida de proveedores, y requerimientos de organismos internacionales, de farmacopeas y literatura vigentes, con el fin de aplicar el proceso de calificación de equipos analíticos en el espectrofotómetro infrarrojo, el medidor de humedad, el viscosímetro digital y el pHmetro con el que cuenta el laboratorio.

Luego, se diseñaron y aplicaron las pruebas necesarias a cada uno de los equipos y se establecieron los límites para su aprobación.

Se diseñaron y aplicaron protocolos de calificación para los cuatro equipos mencionados, generándose un informe de calificación con los resultados de cada una de las pruebas. Todos los equipos aprobaron el procedimiento de calificación para su uso propuesto en el laboratorio.

Para el desarrollo de la metodología de control de solventes residuales se recopiló información acerca de los métodos analíticos por cromatografía gaseosa, evaluación y optimización de las condiciones cromatográficas y del sistema de muestreo headspace.

Se verificó la respuesta de cada uno de los solventes propuestos por la USP 28 (1). Finalmente, se trabajó con seis de ellos. Para encontrar las mejores condiciones cromatográficas se probaron diferentes gradientes de temperatura de columna, flujos de gas carrier y volúmenes de inyección.

La metodología de control de impurezas orgánicas volátiles fue desarrollada para 6 solventes del total propuesto por las clases de la USP 28. Estos fueron: benceno y 1,1-dicloroetileno, pertenecientes a la lista 1, y clorobenceno, ciclohexano, 1,2-dicloroetileno y metilbutilcetona, pertenecientes a la clase 2 (1). Se establecieron las condiciones de preparación e inyección de muestras, gradiente de temperatura del horno, presión de gas carrier, flujo split, resolución y precisión de inyección de la mezcla estándar de solventes.

I. INTRODUCCIÓN

1.1 Descripción del Laboratorio de Control de Calidad de Laboratorios Lafi Ltda.

En el Laboratorio de Control de Calidad de Laboratorios Lafi Ltda., se utilizan como guías de calidad las normas internacionales como la Farmacopea de los Estados Unidos (USP), la Farmacopea Europea, la Farmacopea Británica, normas como las Buenas Prácticas de Laboratorio y los manuales internos de calidad.

El trabajo en el laboratorio se ordena dividiéndose en distintas áreas. El área de Inspección de Material de Envase y Empaque utiliza la Norma Chilena N° 44 de Inspección por Atributo, que se basa en el concepto de Nivel de Calidad Aceptable (NCA o AQL, por sus siglas en inglés). Utiliza criterios como porcentaje defectivo, tamaño de lote, tipo de envase, de empaque y otros para considerar estos materiales como satisfactorios.

El área de Materias Primas analiza los principios activos y excipientes usados en la producción de los medicamentos, comparando los resultados obtenidos con las especificaciones establecidas en las farmacopeas. Esta información es entregada por el proveedor y por las metodologías propias. Finalmente se emite un Certificado de Análisis, emitiendo Etiquetas de Aprobados, si así corresponde, para rotular dichos productos.

El área de Control de Proceso muestrea el producto durante la etapa de fabricación tomando cantidades de muestras a partir de métodos estadísticos.

El área de Microbiología realiza recuentos microbiológicos en materias primas, control en envases, en productos semielaborados y terminados como cremas y ungüentos, control de áreas estériles y no estériles y también monitoreo de aguas, entre otras.

El área de Producto Terminado evalúa todas las características de los medicamentos terminados según su monografía, a través de estudios analíticos de valoración, disolución, entre

otras. De los resultados obtenidos en esta área depende la liberación de los productos para su comercialización.

1.2 Justificación de la calificación de equipos analíticos en el laboratorio.

El trabajo en el laboratorio de Control de Calidad requiere que su instrumental analítico cumpla con la exactitud y precisión necesarias para obtener datos válidos para realizar los análisis de control de calidad, y para el desarrollo y validación de metodologías analíticas que en él se utilizan. La calificación de equipos analíticos es un proceso que ayuda a respaldar el buen uso continuo del equipamiento, aunque no asegura la calidad de los datos (2). Esto se debe a que la calificación instrumental analítica es parte de procedimientos tendientes a obtener datos de calidad, junto con la validación de métodos analíticos, las pruebas de ajuste del sistema y chequeos de control de calidad que se les deben realizar a los equipos. La calificación instrumental analítica es una evidencia documentada de que un instrumento o equipo se desempeña de acuerdo a su uso propuesto, y que está siendo mantenido y calibrado apropiadamente (2, 3). El uso de un instrumento calificado en los análisis de rutina, contribuye a la confianza en la veracidad de los datos entregados. El proceso de calificación de instrumentos está compuesto de diversas actividades, agrupadas en las fases de calificación de diseño, de instalación, operacional y de desempeño. La calificación de diseño es realizada por el mismo fabricante, por lo que el usuario no necesita repetir esta etapa. Esto se produce debido a que es el mismo comprador el que antes de adquirir un equipo nuevo, determina cuáles serán las características que requiere para su uso en particular de acuerdo a la naturaleza del equipo o instrumento y la complejidad de las aplicaciones propuestas (2). Sin embargo, el usuario debe asegurarse de que los equipos a adquirir se ajusten a sus necesidades y aplicaciones, y que el fabricante posea un sistema de calidad para desarrollarlos, fabricarlos y probarlos, además de asegurar su apoyo para la instalación, servicio técnico y entrega de información para el manejo correcto del equipo.

La calificación de equipos analíticos es un proceso que está destinado a asegurar la validez de los resultados que un equipo entrega al realizar un análisis. Este proceso consiste en realizar una verificación detallada, que tiene como objetivo determinar si el equipo está funcionando de acuerdo a las especificaciones brindadas por el fabricante, pero, además, si lo está haciendo de acuerdo al uso que se le da en el lugar de trabajo. Este proceso podría ser realizado por personal

ajeno al laboratorio, pero, al ser de interés del propio laboratorio, éste debe dedicar esfuerzos y recursos para realizarla por sí solo, independientemente de los resultados que hayan sido obtenidos en un proceso similar efectuado en el mismo equipo por personal ajeno al laboratorio (2).

El fin principal de un proceso de calificación de equipos analíticos es asegurar la confiabilidad de los resultados entregados. Ayuda también a justificar el uso continuado de cada equipo o instrumento que existe en el laboratorio. Durante el desarrollo de la calificación, a partir de los resultados que se obtienen, se debe decidir qué parámetros o límites se utilizarán para considerar como aprobada la calificación de cada equipo. Finalmente, el proceso permite documentar un protocolo escrito de pruebas que deben realizarse a cada equipo que queda dentro del laboratorio, para su posterior uso, en el caso que se requiera un recalificación o sea necesario calificar equipos nuevos, incorporando pequeñas modificaciones. Quedan registrados, también, los resultados obtenidos en cada prueba.

1.3 Etapas de la calificación.

Para iniciar el proceso de calificación, primero es necesario diseñar un Protocolo de Calificación que contenga el detalle de todas las pruebas necesarias que se le deben realizar al equipo. Los protocolos incluyen antecedentes importantes, explican el fundamento lógico y el objetivo del estudio, ofrecen una descripción completa de los procedimientos que deben seguirse, fijan los parámetros que hay que seguir, describe cómo se analizan los resultados y facilitan los criterios de aceptación determinados con anterioridad para extraer las conclusiones (2, 3). Son importantes para asegurar que se recaben pruebas documentadas a fin de demostrar que un equipo, un sistema o un proceso, se desempeña uniformemente en conformidad con el nivel especificado (3). Incluyen, además, una lista de los materiales y reactivos necesarios para realizar la calificación.

Sin considerar la etapa previa de calificación de diseño, en la que principalmente intervienen el proveedor o fabricante y las necesidades del usuario, y considerando el caso de equipos ya

existentes, las partes de las que se compone un protocolo de calificación son las que se describen a continuación.

1.3.1 Calificación de instalación.

Es el registro escrito de la apropiada instalación del equipo, de acuerdo a las especificaciones entregadas por el fabricante. Se trata de un chequeo, principalmente de carácter visual, en el que se verifica el cumplimiento de ciertas condiciones de instalación, las que han sido previamente identificadas y ordenadas en un listado de chequeo. El equipo no puede pasar a la siguiente fase de calificación si no ha cumplido con todos los puntos que se exigen en este listado. Se documentan el ajuste de las condiciones (espacio, condiciones ambientales, conexiones eléctricas, etc.) según los requerimientos de cada equipo. Este protocolo se prepara para cada equipo y en él se detallan el nombre, descripción, modelo y número de serie, identificación, requisitos de servicios básicos y las medidas de seguridad que sean necesarias documentar. Se debe verificar que el equipo cumpla con las especificaciones del fabricante y que exista un fácil acceso a todos los manuales, listas de repuestos, proveedor y la información pertinente (2, 3).

Este procedimiento se aplica a equipos e instrumentos nuevos, usados o ya existentes en el laboratorio, que no hayan sido previamente calificados. Este procedimiento involucra las fases de descripción del sistema, que describe el equipo, incluyendo su fabricante, modelo, número de serie, versión de software. También se realiza el chequeo del equipo, para asegurar que el mismo equipo, con su software, manuales, accesorios esté presente sin fallas ni faltas. Si esta información no estuviera disponible, debe obtenerse. También se verifica que el lugar de instalación concuerde con los requerimientos ambientales que exige el fabricante. Es suficiente una revisión aplicando el sentido común en aspectos como voltajes de conexión, humedad

ambiental y otras condiciones del ambiente. También se verifican las conexiones y capacidad de almacenaje de datos. Por último, se realiza una verificación para asegurar que la instalación es exitosa (2, 4).

Una vez aprobada la calificación de instalación, el equipo está en condiciones de someterse a las pruebas de la siguiente etapa.

1.3.2 Calificación operacional.

Consiste en realizar todas las pruebas de funcionamiento que son útiles para la calificación del equipo y factibles de realizar dentro del laboratorio. Para diseñarla, en primer lugar se debe conocer el funcionamiento completo del equipo, desde su fundamento básico hasta las especificaciones técnicas, incluyendo las partes del equipo, el protocolo de uso dentro del laboratorio y la visualización práctica del uso por parte de los analistas. Esto tiene como finalidad encontrar los puntos críticos del funcionamiento para diseñar pruebas que permitan evaluarlos. Se deben definir las especificaciones y los criterios de aceptación para todas las pruebas (2). Dependiendo del uso específico de cada tipo de instrumento, las pruebas apropiadas y la frecuencia de esas pruebas debieran ser incorporadas en el programa de calificación. En este punto se realizan las pruebas a las funciones del instrumento; éstos son importantes para verificar que el instrumento opera tal como es requerido por el usuario y tal como lo estableció el fabricante. El usuario debe seleccionar los parámetros importantes del equipo para realizar las pruebas, de acuerdo al uso que se le da en el lugar de trabajo. La información suministrada por el proveedor es muy útil para identificar las especificaciones de los parámetros que se evaluarán. Los usuarios debieran realizar estas pruebas para verificar que el equipo cumple los requerimientos del proveedor y sus especificaciones. Es importante afirmar que las pruebas analíticas de rutina no constituyen pruebas de calificación operacional. Las pruebas específicamente diseñadas para determinar la calificación operacional deben verificar la operación del instrumento de acuerdo a la especificación en el lugar de trabajo del usuario. Las pruebas de calificación de operación no deben requerir de repetición a intervalos regulares.

Incluso, cuando el equipo sufre reparaciones mayores o modificaciones, sólo se debieran repetir las pruebas relevantes para verificar que continúa operando satisfactoriamente (2, 4).

Estas pruebas debieran ser repetidas a intervalos regulares, en forma anual, o cada vez que un componente del equipo sea reparado o cambiado, lo que podría afectar la última calibración realizada.

La calificación operacional se puede realizar de manera modular u holística. En las pruebas modulares se evalúan los componentes individuales de un sistema lo que puede facilitar el intercambio de tales componentes sin la necesidad de recalificación y debiera ser hecha cuando sea posible. Las pruebas holísticas, que involucran la evaluación al sistema completo, son aceptables en lugar de pruebas modulares (2, 3, 4).

1.3.3 Calificación de desempeño.

Esta etapa se realiza después de haber finalizado, examinado y aprobado las calificaciones de instalación y operacional. Aquí se evalúa el funcionamiento del equipo desde un punto de vista más general. Se evalúan parámetros como precisión, exactitud, y variación de los resultados directos que entrega cada equipo. Al evaluar estos resultados, se evalúa al equipo en su conjunto. Las especificaciones con las cuales se comparan los resultados, para aprobar o rechazar una calificación de desempeño, son aquellas entregadas por el fabricante del equipo, o propuestas por el mismo laboratorio, de acuerdo a los márgenes que se necesita estén los resultados, tomando en cuenta el tiempo que tiene el equipo en funcionamiento en el laboratorio, o el uso que se le da en el laboratorio. Los resultados se deben documentar.

Aunque no existan requerimientos para separar las partes del proceso de calificación, esta separación facilita las actividades de calificación cuando se trabaja con los equipos (2).

El proceso de calificación no exime de responsabilidad a los usuarios, últimos responsables de la operación correcta de los equipos y de la calidad de los datos.

Para el laboratorio de Control de Calidad, el uso del instrumental analítico adecuado es fundamental para su funcionamiento. Se requieren equipos que sean confiables y cuyos resultados también lo sean, pues de esto depende la liberación de materias primas para la producción, y de los productos terminados para la comercialización. En el caso de este laboratorio, dentro de los equipos que se utilizan existen equipos adquiridos desde hace varios años, los que siguen siendo utilizados en forma rutinaria dentro de los análisis que se realizan. El laboratorio comenzó un plan de calificación del equipamiento analítico, dentro del cual ya se habían calificado los equipos de disolución, el cromatógrafo de gases y los cromatógrafos HPLC. Dentro de los equipos que permanecían sin calificar estaba el espectrofotómetro infrarrojo Bruker IFS 28, el medidor de humedad Metrohm 633, el viscosímetro rotacional Brookfield LV DV-I+ y el pHmetro Orion 370.

Con el fin de continuar este plan para asegurar la confiabilidad de los resultados, se procedió a diseñar la calificación de los equipos anteriormente mencionados.

En este contexto, los objetivos del trabajo en el laboratorio serán: diseñar y establecer adecuados protocolos de calificación de instalación, de operación y de desempeño para cada equipo evaluado, los que deben contener la descripción de todas las pruebas que se realizan a los equipos, con el fin de que puedan aplicarse a futuro cuando sea necesario recalificarlos.

Para la calificación de los equipos, en primer lugar se hizo una búsqueda bibliográfica que incluyó la revisión en textos acerca del fundamento y funcionamiento de cada equipo incluido. Se revisaron, además, las farmacopeas disponibles en el laboratorio para buscar información acerca del método y puntos críticos de funcionamiento de cada equipo y además se revisaron los manuales de funcionamiento entregados por el fabricante. Luego, se diseñaron las pruebas necesarias para verificar el funcionamiento y la calibración de cada equipo.

1.4 Control de solventes residuales en materias primas.

Por otro lado, se pretende desarrollar una metodología analítica para identificar y cuantificar impurezas orgánicas volátiles en materias primas, con el objeto de asegurar su calidad, a partir de las guías entregadas por la USP 28. Esta metodología consiste en el análisis de muestras a través de cromatografía gaseosa, utilizando el sistema headspace para la obtención de las muestras volátiles. Los solventes que se pretenden controlar son los listados por la USP, que consisten en dos listas de solventes que deben controlarse en materias primas y productos farmacéuticos. Estas listas fueron elaboradas a partir de información toxicológica y establece concentraciones límite para cada uno de estos solventes.

1.5 Definición y clasificación de solventes residuales.

La Conferencia Internacional para la Armonización de Requerimientos Técnicos para el Registro de Productos Farmacéuticos de Uso Humano (ICH), que reúne a las autoridades regulatorias europeas, japonesa y estadounidense, publicó el documento Q3C denominado “Impurezas: Guía para Solventes Residuales”, en el cual se recomiendan cantidades consideradas toxicológicamente aceptables de solventes residuales en productos de uso farmacéutico y recomienda el uso de solventes menos tóxicos en ellos. Define a los solventes residuales como compuestos químicos volátiles que son usados o producidos en la fabricación u obtención de principios activos o excipientes, los que deberían poder ser eliminados en la medida de lo posible para no perjudicar la salud de los pacientes por sus efectos adversos potenciales. Este documento agrupa a los solventes en diferentes clases, de acuerdo a su perfil toxicológico. Es necesario indicar que en estas clases sólo están incluidos aquellos solventes que normalmente se utilizan en la obtención y fabricación de productos utilizados en la industria farmacéutica y también aquellos cuyo uso debieran ser evaluados y justificados (1, 5).

La clasificación y recomendación de los solventes (anexos, tabla N° 18) se establece de la siguiente forma (1):

- 2 Solventes de Clase 1: Incluye a los solventes que tienen capacidad carcinogénica conocida en humanos, o se sospecha fuertemente de ello, de acuerdo a la evidencia existente. Su uso debe ser evitado.
- 3 Solventes de Clase 2: Incluye a los solventes que son carcinógenos no genotóxicos en animales o que son posibles agentes causantes de otra toxicidad irreversible como neurotoxicidad o teratogenicidad. También incluye a solventes sospechosos de otras toxicidades significativas, pero reversibles. Se recomienda el uso limitado de este grupo de solventes.
- 4 Solventes de Clase 3: Incluye a los solventes con bajo potencial tóxico en humanos, en los que no se requiere establecer límites de exposición.

La guía Q3C define para cada solvente sus límites de exposición, basándose en dos métodos. Para la Clase 1 se basó en el nivel sin efecto observado (NOEL, por sus siglas en inglés), multiplicándolo por distintos factores de seguridad (que varían de 10.000 a 100.000), o por extrapolación con modelos matemáticos cuando existía información suficiente. Para la Clase 2 se basó en el cálculo de la exposición diaria permitida (PDE, por sus siglas en inglés) a partir del NOEL correspondiente y de diversos factores. Es necesario que si se realiza el control de estos solventes, su identificación y cuantificación sea posible con un método analítico en esas concentraciones.

Muchos excipientes son extraídos o purificados con el uso de solventes orgánicos. Estos solventes son removidos normalmente por procesos de secado (5). En vista de la variable y a veces desconocida toxicidad de los solventes, es importante que las especificaciones de los excipientes incluyan pruebas y límites para residuos de estos solventes (5, 6).

Para esta metodología, se buscó información bibliográfica a partir de la USP 28, información de sistemas cromatográficos, desarrollo de metodologías y textos de cromatografía y se procedió a verificar las respuestas de cada solvente en los cromatogramas y se ensayaron distintas condiciones cromatográficas como temperatura, presión, flujo, entre otras, para establecer las condiciones de análisis.

II. OBJETIVOS

2.1 Objetivos Generales.

- 5 Calificar equipos analíticos que se utilizan en el laboratorio de Control de Calidad de Laboratorios Lafi Ltda.
- 6 Desarrollar una metodología analítica que permita controlar impurezas orgánicas volátiles en materias primas, según la USP 28.

2.2 Objetivos específicos.

- 7 Conocer el funcionamiento y manejo de los equipos e instrumentos involucrados en cada calificación.
- 8 Diseñar los protocolos de calificación del espectrofotómetro infrarrojo, medidor de humedad, viscosímetro rotacional y pHmetro que se utilizan en el laboratorio.
- 9 Aplicar los protocolos de calificación diseñados para cada equipo.
- 10 Calificar los equipos analíticos para los que se diseñaron los protocolos.
- 11 Desarrollar una metodología analítica para controlar impurezas orgánicas volátiles en materias primas por cromatografía de gases.

III. MATERIALES

3.1 Materias primas y reactivos utilizados en la calificación.

Materias primas y reactivos utilizados en la calificación del espectrofotómetro IR.

- 12 Film de poliestireno 0009-7393-00042, de 38 μm de ancho, en soporte de 2"x4", de bandas certificadas y trazables a NIST, International Cristal Laboratories.

Materias primas y reactivos utilizados en la calificación del medidor de humedad.

- 13 Estándar de tartrato de sodio dihidrato, con certificado de análisis, Merck.
- 14 Solvente de dos componentes para valoración por método Karl Fischer, Merck.
- 15 Reactivo titulante de un componente, con certificado de análisis, HYDRANAL-Composite 5, Riedel-de-Haën.

Materias primas y reactivos utilizados en la calificación del viscosímetro.

- **Agua desmineralizada.**
- **Estándar de viscosidad Fluido 60000 cPs, lote 022701, Brookfield Engineering Laboratories, Inc.**

Materias primas y reactivos utilizados en la calificación del pHmetro.

- 16 Agua grado MilliQ.
- 17 Solución buffer pH 10,00 (ácido bórico, KCl, NaOH) Certipur, trazable a NIST, lote 00472123, Merck.
- 18 Solución buffer pH 7,00 (fosfato dihidrógeno de potasio, fosfato hidrógeno disódico) Certipur, trazable a NIST. Lote 00404103, Merck.
- 19 Solución buffer pH 4,01 (ftalato hidrógeno de potasio) Certipur, trazable a NIST, lote 00334252, Merck.

3.2 Materias primas y reactivos utilizados en el desarrollo de la metodología analítica.

- **Aire instrumental**
- **Nitrógeno extra puro 99,995%.**
- **Agua purificada MilliQ.**
- **1,1-dicloroetileno grado p.a., con certificado de análisis.**

- **1,2-dicloroetileno grado p.a., con certificado de análisis.**
- **benceno grado p.a., con certificado de análisis.**
- **metilbutilcetona grado p.a., con certificado de análisis.**
- **ciclohexano grado p.a., con certificado de análisis.**
- **clorobenceno grado p.a., con certificado de análisis.**

3.3 Equipos y materiales utilizados en la calificación.

Equipos y materiales utilizados en la calificación del espectrofotómetro infrarrojo.

- 20 Espectrofotómetro Infrarrojo marca Bruker modelo IFS 28 serie 424.
- 21 Procesador Dell Optiplex G1.
- 22 Programa Opus v5.0.
- 23 Impresora Deskjet 560 C, Hewlett Packard.

Equipos y materiales utilizados en la calificación del medidor de humedad.

- 24 Medidor de humedad marca Metrohm modelo Karl-Fischer Automat 633 serie 16330010.
- 25 Espátulas especiales para la introducción de muestras.
- 26 Agitador magnético.
- 27 Balanza analítica calibrada Mettler Toledo AB204.
- 28 Cronómetro calibrado.

Equipos y materiales utilizados en la calificación del pHmetro.

- 29 pHmetro marca Orion modelo 370.
- 30 Electrodo rellenable de vidrio HI 1131, Hanna Instruments.
- 31 Vaso de precipitado clase A.
- 32 Piseta.

Equipos y materiales utilizados en la calificación del viscosímetro.

- 33 Viscosímetro digital marca Brookfield modelo LV DVI+ serie AE52278.
- 34 Agujas LV, Brookfield.
- 35 Baño térmico MGW Lauda, Thermo Themp.
- 36 Termómetro digital calibrado.

37 Tacómetro digital calibrado.

3.4 Equipos y materiales utilizados en el desarrollo de la metodología analítica.

38 Cromatógrafo de gases marca Shimadzu modelo GC-14B.

39 Generador de hidrógeno OPGU-1500S marca Shimadzu.

40 Software Chromatography Data Station, Hitachi Model D-7000, v4.1. Merck.

41 Impresora hp Deskjet 3420, Hewlett Packard.

42 Baño termorregulado modelo 1208-2, VWR.

43 Medidor de flujo de burbujas calibrado.

44 Termómetro de mercurio Enviro-Safe calibrado.

45 Matraces volumétricos de 100 mL clase A.

46 Mascarilla semifacial para solventes orgánicos Half Facepiece, Silicone, 7502, 3M.

47 Micropipeta capacidad 100-1000 μ L Socorex ISBA S.A.

48 Viales de 10 mL de capacidad.

49 Jeringa de gases calibrada capacidad 1,0 mL Pressure-Lock, Precision Sampling Corp.

50 Tapones de goma de 20mm, Supelco.

51 Casquetes de aluminio.

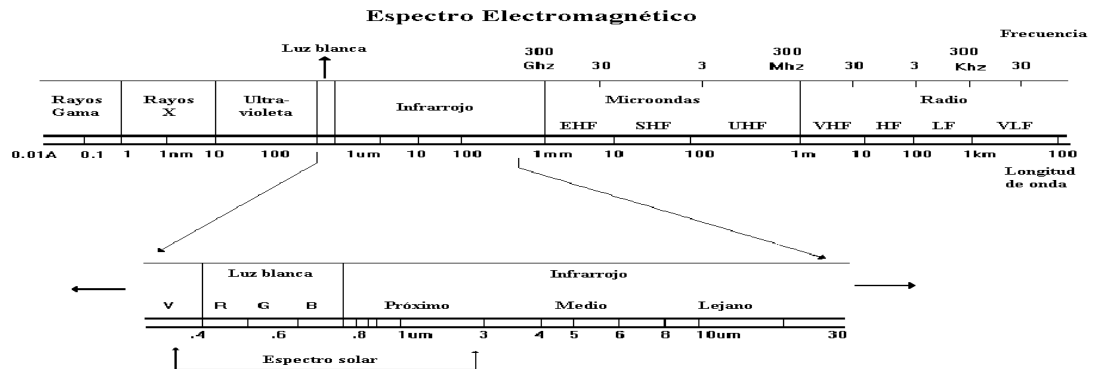
52 Guantes de cuero y goma.

IV. METODOLOGÍA

4.1 Calificación del espectrofotómetro infrarrojo Bruker IFS 28.

En el laboratorio existe un espectrofotómetro infrarrojo (anexos, figura N° 1) marca Bruker modelo IFS 28, utilizado principalmente para las pruebas de identificación de materias primas, ya sean sólidas o líquidas. Se utiliza además para la valoración de simeticona en uno de los productos terminados. El equipo cuenta con conexión a un computador que contiene un software (OPUS v5.1) que permite manejar y chequear las funciones del equipo, además de permitir el almacenamiento de los espectros de todas las muestras leídas en su base de datos. Cuenta también con impresora para obtener los espectros leídos. Su manejo y limpieza es realizado íntegramente por los analistas del laboratorio.

Figura N° 2: Espectro electromagnético mostrando el rango infrarrojo medio.



El espectrofotómetro funciona realizando un barrido en la región media del espectro infrarrojo (4000 a 400 cm^{-1}) (figura N° 2). Para lograrlo, cuenta con una fuente de gas de Helio-Neón que genera un rayo láser. Este rayo atraviesa un interferómetro, artefacto movable que genera distintas longitudes de onda. Luego, el rayo es sometido a reflexiones múltiples antes de llegar al compartimiento de muestras (figura N° 3). El propósito del interferómetro es tomar el haz de luz y dividirlo en dos haces distintos, uno viaja una distancia diferente al otro. La diferencia en la distancia recorrida por estos dos haces se denomina retardación óptica (δ). El interferómetro de Michelson, que posee el equipo, consiste en cuatro componentes. El primero consiste en la

fuente de luz infrarroja, el segundo consiste en un espejo fijo, el tercero consiste en un espejo móvil, y el cuarto en una abertura. En la intersección de los cuatro componentes se encuentra el divisor de luz, que está diseñado para transmitir la mitad de la radiación, y para reflejar la otra mitad (7). Como resultado, la luz transmitida por el divisor llega al espejo fijo y la luz reflejada llega al espejo móvil. Después de haberse reflejado en los respectivos espejos, los dos haces de luz se recombinan en el divisor de luz, y luego dejan el interferómetro para interactuar con la muestra y llegar al detector. La variación de la intensidad de la luz con retardación óptica es medida por el detector como una onda sinusoidal. Atravesando una ventana de bromuro de potasio (KBr), el rayo atraviesa directamente la muestra, y la luz no absorbida entra en el detector del equipo (de tipo sulfato de triglicina deuterado o DTGS, por sus siglas en inglés), registrando así las diferencias en intensidades de absorbancia que genera la muestra. El equipo obtiene el espectro realizando la llamada transformación de Fourier (FTIR) (figura N° 4), que consiste en obtener el registro de las diferencias de intensidades del rayo reflejado y transformarlas en un espectro claramente identificable. Si se grafica la intensidad de la luz versus el retardamiento óptico, se obtiene el interferograma. Esta es la medición fundamental obtenida por el equipo con FTIR, en el que se aplica la transformación de Fourier para generar el espectro. Para generar un interferograma completo, el espejo móvil se mueve retrocediendo y avanzando una vez, acción denominada escaneo (scan, en singular). El número de scan se puede programar de acuerdo a cada muestra, considerando que al aumentar el número de scan, aumenta la razón señal-ruido, mejorando así la claridad y definición del espectro (7).

Figura N° 3: Esquema de funcionamiento del interferómetro de Michelson.

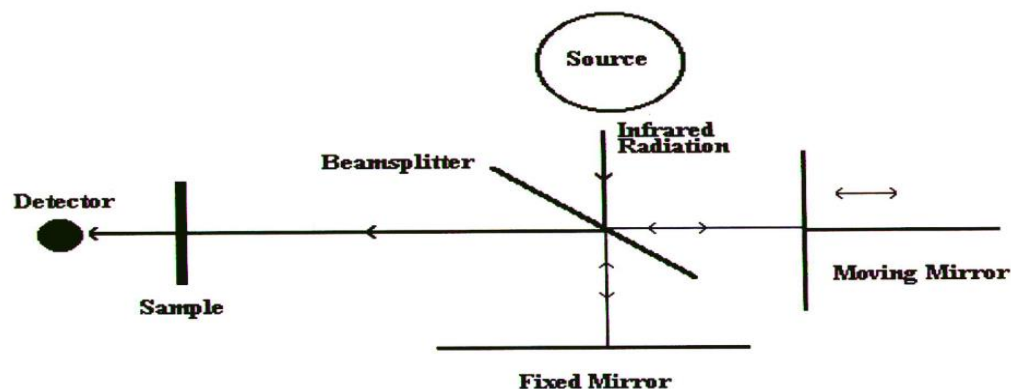
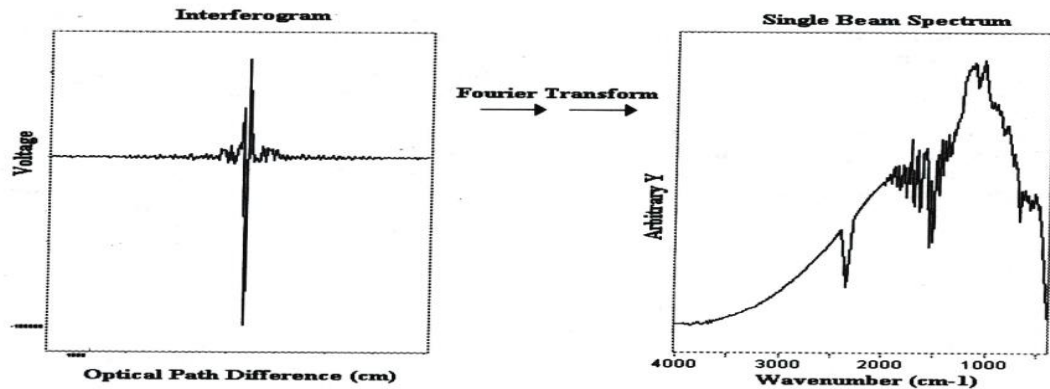


Figura N° 4: Ilustración de la transformación de Fourier, a partir de la intensidad del rayo, para obtener un espectro de respuesta en el infrarrojo.



Las muestras pueden introducirse de distintas maneras, entre las cuales están la formación de un disco con la muestra dispersa en KBr, el esparcimiento de muestras líquidas en discos de KBr, una cubeta cerrada con discos de KBr para muestras líquidas volátiles, y un accesorio para muestreo de sólidos y líquidos por la técnica de reflectancia total atenuada (ATR, por sus siglas en inglés).

La mantención y calibración del equipo es realizada por un servicio externo en plazos anuales definidos. Este servicio incluye la verificación de voltajes de operación del láser, el realineamiento óptico, la calibración de la frecuencia, la verificación de las señales láser y el ruido a 100% de transmitancia.

A pesar de contar con una excelente evaluación por parte del servicio externo después de realizar las pruebas mencionadas, el equipo se incluyó dentro del programa de calificación analítica del laboratorio, debido a que era un equipo antiguo que no estaba calificado y con el fin de verificar la calibración realizada y contar con un documento que respalde su funcionamiento de acuerdo a las especificaciones del equipo y además de acuerdo al uso que se le da en el laboratorio. El protocolo incluyó las pruebas que se describen a continuación.

Calificación de instalación

En este punto se incluyó la verificación detallada del cumplimiento de la mantención en buen estado del equipo. Además, se verifica la existencia de certificados y detalles de calibración externa del equipo, así como que los intervalos de calibración estén establecidos. Se verifica, además, la existencia de los recursos necesarios para el funcionamiento como: computador, impresora y software para el control del equipo. Se verifica que exista acceso a todos los manuales de uso del equipo y de sus accesorios. Se verificó también la existencia de accesorios de preparación y soporte de muestra, mantenidos en buenas condiciones y en cantidades suficientes. También, la existencia de protocolos para el uso y limpieza del equipo, además de verificar que las condiciones ambientales de funcionamiento sean las adecuadas.

Calificación de desempeño

La exactitud del número de onda fue la primera prueba para evaluar el funcionamiento del espectrofotómetro (8, 9). El equipo se utiliza principalmente para identificar muestras a través de la posición de las bandas de su espectro infrarrojo, las que son comparadas con el espectro de un estándar. Se busca verificar que las bandas que entrega el equipo aparezcan en el número de onda real considerando un determinado criterio de exactitud. Para ello se requiere de un estándar certificado del cual se conozca con exactitud la posición de las bandas que posee, y para ello las distintas farmacopeas proponen trabajar con un film de poliestireno, con las bandas del vapor de agua o con dióxido de carbono. Dada la dificultad de obtener espectros de muestras gaseosas en el equipo del laboratorio, se decidió el uso de poliestireno de bandas certificadas. Fue necesario buscar proveedores de este film y adquirirlo para su uso en el laboratorio. Este consistía en un film de poliestireno de 0,38 micrones de espesor que, en este caso, poseía cinco bandas en el rango 400-4000 cm^{-1} certificadas de acuerdo a un patrón NIST. Estas se utilizaron para evaluar al equipo. La prueba consistió en disponer el film en el soporte de muestreo y hacer una lectura del espectro infrarrojo en las mismas condiciones en las que sus bandas fueron certificadas, es decir, adquiriendo el espectro con 1 scan, y con una resolución programada de 4 cm^{-1} , y considerando como límite para la aprobación de la prueba un $\pm 1\text{cm}^{-1}$ de exactitud para cada banda evaluada, según la especificación del fabricante.

La siguiente prueba fue una evaluación de la precisión de la lectura de los números de onda en el equipo (9). Para ello, se diseñó una prueba de repetibilidad de los resultados, utilizando las mismas cinco bandas certificadas del film de poliestireno, en las mismas condiciones de determinación del espectro que se realizaron en la prueba anterior. Esta vez, se realizaron 10 mediciones sucesivas del mismo film, y se registraron los resultados de número de onda a la que se presenta cada banda. Con estos datos, se calculó el promedio, desviación estándar y coeficiente de variación para cada una de las señales certificadas (tabla N° 2). En este caso, el equipo no presentaba ninguna especificación de su precisión en la lectura del número de onda, pero sí se exige esta evaluación por parte de la farmacopea, sin entregar tampoco valores límites. Se definió para el laboratorio un valor límite 5% en el coeficiente de variación antes de realizar la prueba por ser un valor por ser analíticamente aceptable y por ser un valor límite frecuentemente utilizado en los análisis del laboratorio.

Se evaluó también el ruido fotométrico (9,10). Para ello, se definió el rango 2200 a 2000 cm^{-1} (7). En este rango, lo que se hizo fue hacer una lectura del espectro infrarrojo sin muestra (background). Se utilizó la herramienta zoom del programa de manejo de equipo y se situó el cursor en ese rango. Se consideró el %T de la señal máxima en ese rango y la señal mínima. Al no estar disponibles los valores de referencia del equipo, se utilizó como límite el valor de la calificación externa, por lo tanto, la diferencia de los valores de porcentaje de transmitancia de ambas señales no debe superar el 1,0% T.

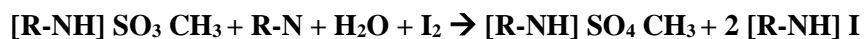
La siguiente prueba fue la determinación de la resolución del espectro (10). Para esto se introdujo el film de poliestireno utilizado anteriormente, y se obtuvo el espectro infrarrojo en los rangos 2870 a 2851 y 1589 a 1583 cm^{-1} (10). En cada rango, se registra el valor de porcentaje de transmitancia máximo y mínimo. El equipo cumple la prueba de resolución si la diferencia de %T en el rango 2890 a 2840 cm^{-1} es mayor a 18 %T y en el rango 1600 a 1570 cm^{-1} es mayor a 12 %T (10).

Con todas estas pruebas se diseñó un protocolo de calificación. Los resultados se registraron en el informe de calificación correspondiente.

4.2 Calificación del medidor de humedad Metrohm 633.

Este equipo (anexos, figura N° 5) se utiliza en el laboratorio para determinar el porcentaje de humedad de las materias primas, ya sean de muestras sólidas o líquidas. El funcionamiento del equipo se basa en la determinación volumétrica de agua debida a la reacción cuantitativa de agua con una solución anhidra de dióxido de azufre y yodo, en presencia de un buffer que reacciona con protones, según la siguiente ecuación:

Ecuación N° 1: Reacción de valoración de agua, con solución titulante de Karl Fischer.



En la solución titulante original, conocida como titulante Karl Fischer, el dióxido de azufre y el yodo se disuelven en piridina y en metanol anhidro, pudiendo la muestra ser valorada directamente con ella (11, 12). La estequiometría de la reacción no es exacta, y la reproducibilidad de una determinación depende de factores como la concentración relativa de los componentes del titulante, la naturaleza del solvente usado para disolver la muestra y la técnica usada para titular. La exactitud se logra utilizando una técnica empíricamente estandarizada. La precisión está regida principalmente por la humedad atmosférica del sistema (13).

La titulación de agua es usualmente llevada a cabo usando metanol anhidro, u otro solvente de acuerdo a cada muestra (14). Cuando toda el agua se ha consumido por la reacción, el yodo libre permanece en la solución, y el sistema redox I_2/I^- actúa como depolarizador. La depolarización resultante causa un cambio rápido de voltaje entre dos electrodos de platino inmersos en la solución, los cuales tienen un flujo de corriente constante de 50 microAmpère (μA). Este cambio de voltaje es usado para el control automático de la titulación y la determinación automática del punto final en el equipo (11, 14). El punto final produce un leve exceso de titulante que aumenta la corriente entre 50 y 150 μA durante 30 segundos a 30 minutos, lo que depende de la solución que se titula. El tiempo es menor para las sustancias que son fácilmente solubles en el titulante (11). El equipo cuenta con espacio para mantener el solvente y el titulante cerrados al ambiente, con sílica gel para atrapar la humedad y conectados al resto del sistema mediante mangueras que

transportan estos reactivos a las denominadas buretas. Desde las buretas, se puede mantener un control del volumen que llega al vaso mediante un ajuste manual, en el caso del solvente, y un ajuste automático dependiente del punto final de titulación, para el reactivo titulante. Las buretas están conectadas a través de mangueras hasta el vaso de reacción, el que cuenta con un agitador magnético, sílica gel, un electrodo doble de platino, y un único punto de apertura a través del cual se ingresan las muestras para ser disueltas en el vaso. El electrodo doble de platino detecta cambios de voltaje y lo transmite a un indicador de punto final que consiste en una aguja que se mueve en una escala.

El uso del equipo está estandarizado de acuerdo al protocolo interno del laboratorio, y su mantención y verificación son externas.

El uso del equipo requiere el cálculo del factor de equivalencia entre el volumen de reactivo gastado y la cantidad de agua en la muestra (mg agua/mL titulante), para poder realizar los cálculos de acuerdo a la fórmula de USP (11):

$$\% \text{ agua en la muestra} = \frac{\text{factor de equivalencia} \times \text{volumen de titulante gastado}}{\text{peso de la muestra}} \times 100$$

El factor de equivalencia entre el reactivo titulante y el contenido de agua es determinado periódicamente a través de la estandarización del reactivo titulante. Esto se lleva a cabo utilizando una sustancia de contenido de agua conocido, en este caso tartrato de sodio dihidrato, cuya masa de agua corresponde al 15,66% (11, 14). Se realizan titulaciones sucesivas de una cantidad determinada del reactivo y se calcula el factor utilizando la siguiente fórmula que considera peso de reactivo, volumen gastado, peso molecular del reactivo y del agua (11):

$$\text{Factor de equivalencia} = 2 (18,02 / 230,08) (\text{peso de muestra/volumen gastado de titulante})$$

El resultado se expresa en miligramos (mg) de agua por mililitro (mL) de reactivo titulante. El rango de medición del equipo va desde 100 µg hasta 100 mg de agua (14).

Las pruebas del protocolo diseñado se detallan a continuación.

Calificación de instalación

Para realizar la calificación de instalación se realizó un chequeo para comprobar que el equipo estuviera en buenas condiciones, considerando limpieza general, conexiones e integridad de cada una de sus partes y de sus accesorios. Luego, se verificó la existencia y acceso a los certificados y detalles de calibración y mantención del aparato, así como acceso al manual del aparato y de sus accesorios. También se revisó que existieran los solventes, titulantes y reactivos para estandarización necesarios para mantener el funcionamiento del aparato. Se revisó también la existencia de las conexiones eléctricas necesarias y adecuadas. Se comprobó el cumplimiento de las condiciones ambientales que exige el fabricante, ambientes limpios y no corrosivos. Por último se verificó la existencia de procedimientos operativos estandarizados para el uso del equipo y para la estandarización del reactivo titulante.

Calificación operacional

En el caso de este equipo, para verificar su buen funcionamiento sólo sería necesario realizar las pruebas descritas en la calificación de desempeño, pues lo más apropiado es evaluar el sistema completo, chequeando las respuestas del equipo (11, 15). Sin embargo, se procedió a verificar el funcionamiento de sus controles para una evaluación más completa. La primera prueba que se hizo en el equipo fue la más simple, recomendada por el fabricante, que consistió en verificar las buenas condiciones del equipo realizando una prueba de encendido y apagado. En ella se verifica el encendido de las luces de cada parte del equipo y del agitador magnético, verificando también el apagado automático de todas las funciones al apagar el interruptor principal, función que se cumplía en el equipo (tabla N° 5). Luego, se verificó el tiempo de detención de la titulación. Esta función consiste en ajustar, según se estime conveniente, el

tiempo que demorará el equipo en encender la luz roja que indica el fin de la titulación, a partir del instante en que el electrodo detecta el punto final. En esta opción se ajusta el tiempo en segundos, dando la opción de ajustarlo desde 2 a 900 segundos de retraso. Esta función también es efectuada en la última mantención externa de equipo, en la que el equipo no presentaba problemas. La prueba consistió en evaluar si el tiempo que demoraba experimentalmente el equipo en dar por terminada la titulación era consistente con el tiempo previamente fijado, y para ello se realizaron cuatro titulaciones fijando los tiempos 2, 20, 90 y 900 segundos. Para ello, se tituló tartrato de sodio dihidrato en cantidades similares a las utilizadas en el cálculo del factor de equivalencia, controlando el tiempo con un cronómetro.

Posteriormente, se hizo un chequeo para evaluar la velocidad de entrega del reactivo titulante. Para realizar las titulaciones, este equipo entrega la posibilidad de ajustar manualmente la velocidad a la que se entrega el reactivo titulante al vaso de reacción, a través de opciones con números arbitrarios desde 1 hasta 10. Este ajuste permite ahorrar tiempo cuando ya se conoce el volumen aproximado que se gasta en una titulación sin arriesgarse a detectar el punto final en forma errónea. El objetivo de la prueba fue evaluar la precisión de la velocidad que es fijada manualmente. Para ello, se escogieron dos velocidades (indicadas en el equipo con la simbología dV/dt), para ser evaluadas. La primera corresponde a $dV/dt = 1$, con el objetivo de evaluar la velocidad de entrega del titulante en la velocidad que el fabricante afirma se producen resultados más exactos (14). La segunda corresponde a $dV/dt = 3$, que corresponde a la velocidad que normalmente se utiliza en los análisis de rutina en el laboratorio, según los procedimientos vigentes. La prueba consistió en realizar 10 titulaciones, determinando, con cronómetro, un tiempo cualquiera antes de llegar al punto final de titulación, en el cual se registraba el volumen gastado de titulante. Con estos datos, para cada repetición se realizó el cálculo de velocidad de titulación (mL/seg), y con estos datos se calculó el promedio, desviación estándar y coeficiente de variación (tabla N° 7). Este procedimiento se realizó para ambas velocidades fijadas. Una vez obtenidos los resultados de coeficiente de variación, fue necesario fijar un valor límite para considerar la prueba aprobada. Ninguna de las pruebas realizadas superó el 5,0% de variación de velocidad, por lo que, considerándose éste un límite aceptable para el equipo debido a que es frecuentemente utilizado en análisis de rutina, el valor límite se fijó en ese valor.

La siguiente prueba fue la verificación de funcionamiento del electrodo y del instrumento indicador. Ambos se evalúan en conjunto, verificando su respuesta a través de pasos indicados por el fabricante para comprobar el buen estado y la conexión de ambos. La prueba consiste en desconectar el instrumento del equipo y verificar el movimiento de la aguja indicadora al cambiar los selectores de modo de valoración en los controles del equipo. Luego se conecta el electrodo y se verifica nuevamente el movimiento de la aguja. La respuesta del equipo a estas condiciones concuerda con lo esperado, aprobándose el test.

La siguiente prueba consiste en el chequeo de la función de autocero del módulo que contiene al titulante. El equipo cuenta con controles para que, al accionar una tecla, el volumen gastado en una titulación registrado en el visor de volumen vuelva automáticamente a cero. Esta prueba tiene como función solamente chequear el estado de estos controles, y consistió en realizar una vez el procedimiento para el autocero.

Una vez aprobados todos los puntos anteriores, se consideró aprobada la etapa de calificación operacional del equipo.

Calificación de desempeño

La primera prueba en esta etapa corresponde a la evaluación de la precisión del sistema completo, a través de la evaluación de la repetibilidad los resultados que entrega. Para ello, los resultados se compararon con la especificación del fabricante que entrega un valor de precisión menor o igual a 5,0% (15). Para esto, se realizaron 10 repeticiones de titulaciones de tartrato de sodio dihidrato, siguiendo las recomendaciones de farmacopea para la estandarización del reactivo titulante (3). Se registró el gasto de titulante. Con los datos, se calculó el factor del titulante siguiendo la fórmula de USP (11). Con estos datos de factor de titulante, se calculó su promedio, desviación estándar y coeficiente de variación (tabla N° 9).

Por último, se realizaron dos evaluaciones más al equipo. La primera, consiste en evaluar la relación peso de muestra con gasto de volumen de titulante, a través de la relación lineal que entre ellos debiera darse (15). Con esto, se busca descubrir errores sistemáticos, por ejemplo, influencias debidas al método o a valores del blanco en el solvente. Se grafica el peso de muestra

en el eje x , y el volumen gastado en el eje y (tabla N° 9). Se realiza una regresión lineal con los puntos experimentales, obteniendo un valor de intercepto y de pendiente de la recta (gráfico N° 1). Aquí, los errores sistemáticos del método de titulación se manifiestan en una desviación significativa del origen de las coordenadas del eje y , produciendo que la recta no intercepte al eje y exactamente en el valor cero. Para evaluar los resultados, se considera el intercepto. Si este valor está fuera del rango de $0 \pm 0,02$ mL (15), se debe asumir que existen errores sistemáticos.

La segunda evaluación consistió en verificar la relación factor de titulante – volumen de gasto. Esta evaluación también se utiliza para descubrir errores sistemáticos. La relación entre ambas debiera ser de carácter lineal, y no variar, es decir, el factor titulante debiera ser el mismo independientemente del volumen gastado para su determinación (15). Esto se representa como una recta con pendiente cero en un gráfico, en el que el volumen se grafica en el eje x y el factor titulante en el eje y (tabla N° 10). Una pendiente significativa, positiva o negativa, en la regresión lineal indica una dependencia ficticia del factor del titulante de la magnitud de volumen gastado o el peso de la muestra. Esto también puede ser un indicador de influencias sistemáticas debidas al método. Si la pendiente está fuera de los límites de $0 \pm 0,0500$ (15), se debe asumir un error sistemático debido al método. Este resultado puede corregirse restando el volumen del intercepto de la prueba anterior al volumen graficado en esta prueba.

Todos los resultados obtenidos en esta etapa se registraron en el informe de calificación.

4.3 Calificación del viscosímetro rotacional Brookfield LV DV-I+.

El viscosímetro marca Brookfield LV-DVI+ (anexos, figura N° 6) con el que cuenta el laboratorio es de tipo rotacional y se utiliza para las determinaciones de viscosidad de productos terminados, como cremas y geles, y de materias primas que lo requieran, como son los derivados de celulosa. Cuenta para su uso con agujas de medición de dos tipos: las agujas en barra T y las agujas verticales. Además, cuenta con recipientes para realizar la medición de viscosidad en las muestras, y existe disponible un baño termostático para su uso. Cuenta también con un soporte móvil y nivelable en su base. Las lecturas de viscosidad se entregan en forma digital.

El viscosímetro emplea el principio de viscosimetría rotacional, determinando la viscosidad midiendo el torque requerido por una aguja para rotar concéntricamente a velocidad constante mientras está inmersa en el fluido de muestra (16). El torque, que es sentido por conducción de la aguja a través de un resorte de berilio-cobre midiendo la deflexión producida en él, es proporcional a la fricción que se produce en la aguja sumergida, y por lo tanto a la viscosidad del fluido (16, 17). La deflexión es detectada por un transductor rotacional. Para una combinación dada de aguja y velocidad rotacional seleccionada, los valores de torque deben variar entre 10 y 100 % de la escala total medible para obtener datos de precisión adecuada. Esto es así debido a que el fabricante entrega un valor de 1% de la escala total medible como el error en la lectura del viscosímetro, siendo este valor muy alto si se consideran torques muy bajos y casi despreciable si se trabaja con torques entre 50 y 80% (16).

Para realizar la calificación del viscosímetro, se procedió a realizar una búsqueda de información que contempló la revisión de las farmacopeas USP 28, Farmacopea Europea 5.0 (año 2005) y Farmacopea Británica 2000 con el fin de encontrar apartados que trataran acerca de mediciones de viscosidad y métodos de funcionamiento de viscosímetros. Esto, para encontrar puntos críticos que debieran ser evaluados en la forma de determinación de viscosidad. Además se realizó una revisión completa del manual del viscosímetro y sus anexos. A contar de esta información se procedió a realizar las determinaciones de viscosidad de algunas muestras con el fin de dominar el uso del aparato. Se revisaron también el protocolo de uso y limpieza del

viscosímetro. Además se obtuvo información entregada por el fabricante, en la que se detallan pruebas que deben ser evaluadas en el equipo con el fin de asegurar su funcionamiento correcto en el lugar de trabajo y comprobar la calibración del viscosímetro. Se hizo también una revisión bibliográfica acerca de los métodos de determinación de viscosidad. La calibración y mantención del viscosímetro la realiza un servicio externo.

Finalmente, el protocolo incluyó las pruebas que se describen a continuación.

Calificación de instalación

En este punto se evaluó visualmente que el viscosímetro se encontrara mantenido en buenas condiciones, lo que considera la limpieza e integridad del aparato. Se evaluó también la existencia en el laboratorio de los certificados de la última calibración y mantención del aparato. En ellos también deben quedar claramente establecidos los detalles de las pruebas realizadas y sus resultados. Además, se evaluó la existencia de los manuales de uso del aparato y de cada uno de sus accesorios. Para esto fue necesario obtener del fabricante la información necesaria para completarla, porque faltaban los manuales del soporte del viscosímetro y el apéndice de especificaciones, rangos y parámetros de operación del viscosímetro. Se pide evaluar también que se contara con todos los accesorios de trabajo necesarios que trae el equipo y que son de utilidad para el trabajo en el laboratorio: los recipientes de determinación de muestras, un baño termorregulado, las agujas LV, todos mantenidos en buen estado. También un chequeo visual de la existencia de las conexiones eléctricas necesarias. Además se deben evaluar las condiciones ambientales de funcionamiento e instalación del viscosímetro. En este punto, el fabricante no exige mayores condiciones especiales, a excepción de contar con una superficie plana que permita la nivelación de equipo a través del posicionamiento centrado de la burbuja de nivelación antes de su funcionamiento.

Calificación operacional

La primera evaluación operacional del viscosímetro fue el chequeo de la oscilación (16, 18). Esta prueba es propuesta por el fabricante con el fin de chequear la condición mecánica del mecanismo de detección del viscosímetro. Consiste en un chequeo rápido en el punto pivote del viscosímetro, el componente que más adversamente afecta la calibración si se encuentra dañado (17, 18, 19). La prueba consiste en verificar la estabilidad del torque que ejerce el viscosímetro cuando gira a dos velocidades especificadas y cuando se encuentra detenido. La tolerancia que describe para esta prueba es de $0 \pm 0,1\%$ (16, 18) de torque en esas condiciones.

La otra prueba fue la verificación del eje de rotación (18), en la que se evalúa la especificación del fabricante en cuanto a la rotación de la agujas en forma excéntrica. Para ello se tomó como especificación el dato entregado en el manual del viscosímetro que no permite una distancia mayor a 1,6 mm en el eje de rotación de la aguja inserta que se encuentra girando (16). Para diseñar esta prueba fueron necesarios varios intentos, realizando las determinaciones utilizando un pie de metro digital calibrado disponible en el laboratorio, tomando las distancias entre el extremo de la aguja detenida y el extremo de la misma aguja rotando a distintas velocidades. En caso contrario, se considera que no se cumple con la especificación del fabricante.

La siguiente prueba fue la verificación de la velocidad de rotación. En ella se busca determinar si la velocidad rotacional del viscosímetro que se arroja en la lectura final cumple con los criterios de precisión que permitan posteriormente evaluar la precisión en las mediciones de viscosidad. Se necesitaba para ello un instrumento que permitiera medir las revoluciones por minuto. Para ello, se utilizó un tacómetro digital calibrado y certificado existente en el laboratorio. Para adaptarlo al viscosímetro, se utilizó un adaptador cónico de goma accesorio del tacómetro. Este se ajusta al extremo del viscosímetro sin agujas insertadas. Para registrar los resultados, es necesario acomodar la punta del tacómetro al viscosímetro, por un mínimo de 2 segundos, según instrucciones de uso del tacómetro digital. Se evalúa el coeficiente de variación a cada velocidad, cuyo límite se fija en 5,0% luego de observar los resultados de las pruebas de ensayos. Esto es debido a que ninguno de los resultados de los ensayos superó este valor y era necesario fijar un valor límite no establecido previamente. Se realizan siete repeticiones de este ensayo.

Se consideraron estas pruebas para definir la calificación operacional como aprobada, registrando todos los resultados en el informe de calificación.

Calificación de desempeño

En esta etapa, se diseñó una prueba de verificación de calibración del viscosímetro (18), determinando la exactitud y precisión de las mediciones. Para evaluar estos parámetros, fue necesario contar con un estándar de viscosidad contra el cual comparar los resultados. Se utilizó el Estándar de viscosidad Fluido 60000, lote 022701, Brookfield Engineering Laboratories, Inc., ya disponible en el laboratorio y vigente en cuanto al vencimiento, producido por el fabricante del aparato. Para realizar las determinaciones se debieron seguir y escribir en el protocolo las condiciones exigidas por el fabricante del estándar, las que son realizar las determinaciones a la misma temperatura en que la viscosidad nominal del estándar fue obtenida. Para esto, se utilizó un baño termostático en el cual se sumergió el fluido estándar en el mismo contenedor entregado por el fabricante. La temperatura de las determinaciones fue de $25,0 \pm 0,5^\circ \text{C}$ (16, 18), determinados con un termómetro digital calibrado.

Una vez seleccionada la aguja, se deben establecer qué valores de viscosidad se utilizarán como límites de aceptación. Para determinarlo, se siguieron las recomendaciones del fabricante, en cuanto a considerar en el resultado final los errores del valor nominal del estándar de viscosidad implícito o inherente a su propia determinación y el error de las mediciones en el viscosímetro. En el caso del error en la viscosidad nominal del estándar, corresponde a 1% (18). En el caso del viscosímetro, corresponde al 1% de la escala que el aparato puede determinar (16,

18). Esta escala es el rango de viscosidad que el aparato puede determinar con una aguja y velocidad determinadas, y puede variar desde 15 hasta 2.000.000 de centiPoises (cP). Estos valores deben sumarse para encontrar el límite de aceptación de las determinaciones de viscosidad para el estándar (16, 18). El resultado se utilizará para evaluar la exactitud de las determinaciones. Para evaluar la precisión de la lectura, se utilizó el valor límite, 0,2% (16) de la lectura máxima del rango, a partir de la especificación entregada por el fabricante. Para la determinación de la exactitud del viscosímetro se siguió el siguiente procedimiento. Se sumergió el recipiente del estándar de viscosidad en el baño termorregulado a $25 \pm 0,5^\circ \text{C}$, controlando la temperatura con un termómetro digital calibrado. Una vez escogida la aguja LV#4, se insertó y se sumergió en el fluido estándar. Se seleccionó la velocidad 50 rpm y se dejó como mínimo 1 hora (16). Antes de registrar algún valor de viscosidad, se debe alcanzar la estabilidad de lectura, esperando que la aguja gire por lo menos cinco veces dentro del fluido. Se realizaron siete repeticiones, registrando la aguja utilizada, el porcentaje de torque alcanzado, que debe estar entre 50 y 80% para que la lectura sea válida y la lectura de viscosidad. Se compararon estos resultados con los límites de aceptación, previamente calculados, y se determinó si cumplía o no con el criterio de exactitud (tabla N° 14). Para la determinación de la precisión de las lecturas del viscosímetro, se trabajó con el resultado obtenido en la prueba anterior, determinando con ellos el promedio de las lecturas, la desviación estándar y el porcentaje de coeficiente de variación. Para evaluar si cumple o no con el criterio de precisión se comparó la especificación con el valor de desviación estándar de los resultados, encontrándose que los resultados permitieron aprobar este punto (tabla N° 15).

Todos los resultados de la calificación de desempeño se registraron en el informe de calificación.

4.4 Calificación del pHmetro Orion 370.

El pHmetro digital que se ocupa en el laboratorio (anexos, figura N° 7) se utiliza para la determinación del pH del agua que se utiliza en producción, de materias primas líquidas y de productos terminados como líquidos o emulsiones. Cuenta con una conexión a un electrodo de vidrio de KCl, con sus respectivas soluciones de electrolito y permite también determinar el voltaje relativo de una muestra y su temperatura a través de uno de sus accesorios. El pHmetro se calibra en el laboratorio antes de su uso, de acuerdo al rango de pH que posee cada tipo de muestra que se analiza, y su mantención y calibración la realiza un servicio externo.

Dentro de las especificaciones entregadas por el fabricante y que pueden verificarse, están el rango de medición de pH de 0,000 a 14,000, y la exactitud de la medición que es de $\pm 0,005$ unidades de pH a temperatura ambiente (20). En el protocolo de calificación se describen las siguientes pruebas:

Calificación de instalación

La calificación de instalación incluyó la verificación del estado general del pHmetro, y el de todos sus accesorios. Entre estos se encuentran el soporte del electrodo y el controlador de la temperatura, los que se encontraban en perfecto estado. Además, se verificó que existieran las conexiones eléctricas adecuadas, y que las condiciones de instalación fueran adecuadas. Se verificó también la existencia de certificados y detalles de la última calibración externa, en la que el aparato tenía buena evaluación. Se verificó el acceso al manual del equipo, que no se encontraba en el laboratorio, pero que fue posible obtenerlo desde el fabricante. Se verificó la existencia de protocolos operativos estandarizados vigentes de uso y calibración del pHmetro. Se aseguraron las condiciones mínimas de mantenimiento del electrodo con la solución respectiva y las condiciones ambientales de instalación, respectivas a la humedad y temperatura, que en todo caso se cumplían. Los resultados se registran en el informe de calificación.

Calificación operacional

La primera prueba que se realizó al pHmetro fue verificar el correcto funcionamiento del teclado, y el acceso a todas las funciones que éste entrega. En primer lugar se debe desconectar el pHmetro y volver a conectarlo a la fuente de poder. Se verifican todas las leyendas en pantalla y el acceso automático al modo de medición de pH, que describe el fabricante (20, 21). El pHmetro cuenta también con funciones de medición de voltaje y concentración de iones. Se verifica también el acceso a estas funciones. Luego se verifica la resolución en la lectura que entrega el equipo. Esta entrega cifras de hasta tres decimales. Luego se verificó al acceso a todas las opciones de calibración, en las cuales se da la opción de calibrar el equipo con un solo punto (pH 7), dos puntos (pH 4 y 7 ó 7 y 10), o con tres puntos (pH 4,7 y 10). Por último se realizó un chequeo del pH, pendiente y del voltaje. Esto tiene como finalidad verificar la respuesta actual del pHmetro.

Calificación de desempeño

Se evaluó la exactitud del pHmetro y la repetibilidad de las mediciones utilizando para ello soluciones buffer certificadas de pH 4,01, 7,00 y 10,00. Para ello, fue necesario lavar el electrodo con agua destilada, secarlo e introducirlo en la solución buffer de pH 4,01. Se agitó suavemente dentro de la solución y se obtuvo la lectura de pH. Se realizaron 7 determinaciones, por ser un número de muestras estadísticamente aceptable y con un intervalo de 1 minuto entre cada una de ellas, a una temperatura de 25° C, y se realizó el mismo procedimiento descrito para las soluciones buffer de pH 7,00 y 10,00. Se registraron los resultados. Como criterio de aprobación, se fijó que todas las mediciones que arrojava el pHmetro se mantuvieran dentro del rango permitido, que es de $\pm 0,005$ unidades de pH respecto al valor del pH del buffer (20).

Todos los resultados quedaron registrados en el respectivo informe de calificación.

4.5 Desarrollo de la metodología analítica de control de solventes residuales

Para el desarrollo de la metodología analítica, en primer lugar se revisó la existencia en el laboratorio de los solventes a los que la USP 28 limita su concentración. Estos debían ser, a lo menos, de calidad pro análisis (p.a.). Una vez adquiridos los reactivos necesarios, se procedió a verificar su respuesta en el cromatograma, utilizando para ello las condiciones propuestas por la USP en relación a la columna y al programa de temperatura. El equipo usado fue el cromatógrafo de gases disponible en el laboratorio (figura N° 8), utilizando nitrógeno de alta pureza como gas carrier. Para montar el sistema headspace, se utilizó un baño termostático cubierto en el cual disponer los viales durante el calentamiento, provisto de un termómetro calibrado, y una jeringa de gases para tomar e inyectar las muestras. Para ello, se preparó, para cada solvente por separado, una solución de 1,0 mL de solvente, disolviendo en agua hasta 100 mL, agitando vigorosamente. Se tomó 1,0 mL de esta solución y se agregó a un vial con 5 mL de agua. Se tapó, selló, y se introdujo cada vial a un baño termostático a 80° C. Se mantuvo cada vial en esas condiciones por 1 hora.

4.5.1 Verificación de respuestas en condiciones USP.

Una vez completado el tiempo, se procedió a tomar 1,0 mL de la fase vapor del vial y se inyectó al cromatógrafo de gases para verificar la respuesta de cada uno de los solventes. Se seleccionaron los solventes cuyas señales aparecieran sin problemas en el cromatograma y se consideraron éstos para la continuación del desarrollo de la metodología analítica.

Una vez establecidos los solventes que se utilizarán para el desarrollo del método, se establecieron las condiciones a utilizar.

4.5.2 Columna cromatográfica.

La columna cromatográfica utilizada fue la columna OVI-G43, denominada así por la USP debido a que fue fabricada especialmente para la determinación de impurezas orgánicas

volátiles, que consiste en una columna capilar de sílice fundida, con $3\mu\text{m}$ de fase aglomerada de 6% de policianopropilfenilsiloxano y 94% de polidimetilsiloxano, de 30 metros de longitud y 0,53 mm de diámetro interno (1).

4.5.3 Programación de temperatura de la columna.

Luego se estableció un programa de temperatura que permitiera realizar la separación en tiempo corto y de manera eficiente. Se procedió a realizar la obtención de cromatogramas en las condiciones de temperatura que propone USP 28, es decir, a 40°C por 20 minutos, luego aumentar a una gradiente de 10°C por minuto hasta 240°C . Luego se realizaron cromatogramas isotérmicos a 35°C y 40°C . Luego se probaron distintas gradientes de aumento de temperatura: $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$, $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ y $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$.

4.5.4 Determinación de presión de gas carrier y flujo split.

Para determinar la presión de nitrógeno, se realizaron tres inyecciones a presiones distintas, comparando el tiempo que demora el análisis y la resolución obtenida entre los picos de ciclohexano y benceno. Se realizaron cromatogramas a 100, 150 y 200 kiloPascal (kPa) de nitrógeno.

Una vez fijada la presión, se fijó el flujo split del cromatógrafo. Se probaron tres flujos distintos, evaluando la forma de cada pico, el tiempo de análisis y la resolución. Se probaron los flujos 5, 15 y 25 mL/min.

4.5.5 Condiciones de toma de muestra por el sistema headspace.

Para determinar la temperatura a la que los viales deben estar antes de tomar las muestras, se consideraron las propuestas por la USP 28, que son 80°C y 105°C. Para disminuir el tiempo de análisis y facilitar el manejo de los viales durante las inyecciones, se decidió mantenerlos a 80°C. A esta temperatura, la USP propone un tiempo de equilibrio en los viales de 45 ó 60 minutos. Con el fin de visualizar si es posible utilizar un menor tiempo, se procedió a hacer una prueba de tiempo de equilibrio a distintos tiempos (22). En las condiciones ya fijadas, se realizó una inyección del mismo vial a partir de los 10 minutos y cada 15 minutos, realizando en total seis inyecciones. Luego, se registraron y tabularon los datos de las áreas de cada solvente en cada una de las inyecciones. Se realizó un gráfico (gráfico N° 3) de los datos que permitió visualizar mejor el comportamiento de los solventes en el tiempo.

4.5.6 Precisión y resolución.

Una vez establecidas las condiciones del cromatograma, para realizar el cálculo de la resolución (R) de cada par de señales que aparecen en el cromatograma del estándar, se siguió la fórmula descrita por la USP 28, que considera la relación existente entre los tiempos de retención de cada pico (t_1 y t_2), y el ancho de cada uno de ellos (w_1 y w_2) (23, 24):

$$R = \frac{2(t_2 - t_1)}{w_1 + w_2}$$

Luego se calculó la precisión de las áreas de los picos, realizando las inyecciones por septuplicado.

De esta forma, los resultados obtenidos quedaron registrados.

A partir de estos resultados, se elaboró un protocolo de análisis de estos solventes residuales para su posterior validación e implementación en el laboratorio.

V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.1 Resultados y discusiones de calificación del espectrofotómetro infrarrojo.

Durante la calificación de instalación se verificó la presencia en el laboratorio de los manuales de uso del equipo y del accesorio de muestreo ATR. Sin embargo, para aprobar este punto, fue necesario obtenerlos con el fabricante a través del proveedor, ya que no estaban disponibles en el laboratorio.

El equipo cumplió todos los puntos del chequeo, considerándose la calificación de instalación aprobada, registrando los resultados en el informe de calificación.

En la prueba de evaluación de la exactitud, todas las señales del film se encontraban dentro del rango señalado a cada número de onda (tabla N° 1). Esto seguramente se debe a que no existe desalineamiento interno del láser (7). Por lo tanto, se consideró aprobada la evaluación de exactitud del número de onda entregada por el equipo.

Tabla N° 1: Determinación de la exactitud de la lectura de las bandas en el IR.

RANGO DE ACEPTACIÓN (cm⁻¹)	SEÑAL LEÍDA (cm⁻¹)
3081,7 - 3082,7	3082,06
3059,6 - 3060,6	3059,83
1601,1 - 1602,1	1601,13
1582,9 - 1583,9	1583,40
1028,0 - 1029,0	1028,10

En la evaluación de la precisión de lectura, el resultado obtenido fue menor al esperado (tabla N° 2), obteniendo valores incluso debajo de 0,05% de coeficiente de variación, por lo que se redefinió el valor límite y se dejó como un valor de 1%, con el fin de dar como aprobada esta evaluación y establecer una referencia para un próximo proceso de calificación.

En el equipo, la evaluación de ruido entregó un resultado de 0,09 %T (tabla N° 3), por lo que se considera aprobado. Este valor se obtuvo después de realizadas varias repeticiones, con el fin de asegurar que el resultado se encontrara siempre dentro del límite establecido, y no fuera producto de una coincidencia. La razón de realizar esta evaluación en este rango del espectro (2000 a 2200 cm^{-1}) fue que en esta región no se observan las líneas de las bandas del vapor de agua, y corresponde a la región de mayor respuesta en todo el espectro (7).

Tabla N° 2: Evaluación de la repetibilidad de la lectura de las bandas.

NÚMERO DE ONDA (cm^{-1})					
N°	3082,2	3060,1	1601,6	1583,4	1028,5
1	3081,951965	3060,539244	1600,817043	1583,400436	1028,015057
2	3082,021654	3059,502250	1600,859881	1583,289016	1028,071911
3	3082,004711	3059,889858	1600,815962	1583,364839	1028,032748
4	3081,974699	3059,587809	1600,823204	1583,365425	1028,125684
5	3081,906028	3059,736177	1600,808004	1583,289449	1027,986279
6	3082,059187	3059,562139	1600,721710	1583,276172	1028,019471
7	3081,911036	3059,288895	1600,754902	1583,375747	1028,006194
8	3081,906334	3059,415663	1600,854477	1583,289449	1028,026109
9	3081,926745	3059,771755	1600,834319	1583,419099	1028,006194
10	3081,786844	3059,694473	1600,793615	1583,397148	1027,966364
promedio	3081,94	3059,69	1600,81	1583,37	1028,025
D.S.	0,076	0,344	0,042	0,107	0,045
C.V. (%)	0,0025	0,0113	0,0026	0,0067	0,004

Tabla N° 3: Evaluación del ruido en el espectrofotómetro infrarrojo.

SEÑAL	(cm^{-1})	TRANSMITANCIA (%T)	%T_{MAX} - %T_{MIN}	DIFERENCIA LÍMITE (%T)
Máxima	2187	100,1876	0,09 %T	1,0
Mínima	2054	100,0976		

En la evaluación de la resolución se obtuvieron valores de diferencia de 25,54 y 15,78% T, respectivamente (tabla N° 4). Según este criterio, la prueba de resolución se cumple en el equipo. Se debe destacar que al realizar esta evaluación, no se deben aplicar sobre el espectro las funciones de aumento (o *zoom*) y suavización (*smoothing*) del espectro utilizando el software de control, ya que podría inducir a obtener incluso falsos resultados positivos.

Tabla N° 4: Evaluación de la resolución del espectro infrarrojo.

SEÑAL (cm^{-1})	TRANSMITANCIA (%T)	DIFERENCIA DE %T	DIFERENCIA LÍMITE (%T)
2870,0	49,04	25,54	> 18 %T
2851,0	23,50		
1589,0	62,92	15,78	> 12 %T
1583,0	47,14		

Una vez aprobadas todas las pruebas que se realizaron al equipo en esta etapa, se confeccionó un informe de calificación, que contiene las tablas registrando ordenadamente todos los resultados obtenidos. Según éstos, el espectrofotómetro infrarrojo aprueba el procedimiento de calificación.

5.2 Resultados y discusiones de calificación del medidor de humedad.

Al realizar la calificación del medidor de humedad, se debe considerar que el equipo está expuesto a errores de medición cada vez que se utiliza. El error no puede ser determinado exactamente debido a que representa una combinación de errores que se producen de fuentes muy diversas. Errores propios del aparato, como los debidos a la determinación electroquímica del punto final, tiempo de retardo del punto final, y errores de lectura en la bureta se pueden eliminar adaptando las condiciones de la titulación, y son muy pequeños comparados con los que se producen por las siguientes causas: peso inexacto de las muestras, inexactitudes o errores en la adición de la muestra al vaso de reacción, dificultad para que el contenido total de agua de la muestra reaccione totalmente con el titulante, errores producidos por tratamientos previos de las muestras, entre otros. Los errores instrumentales son menores al 1% (14, 15). El solvente de

disolución que utiliza el equipo es metanol anhidro, pero se podría utilizar también isopropanol, 2-metoxietanol, piridina, entre otros, pero siempre de carácter anhidro (14, 15).

Cuando se comprobó que el equipo cumplía todos los puntos del chequeo, se consideró aprobada la calificación de instalación, registrándose los resultados en el informe de calificación.

Las pruebas de funciones de encendido y apagado tienen como finalidad chequear que los tres módulos principales del equipo, es decir, el control de titulación, las buretas, y el agitador magnético, se controlen desde el módulo principal. El equipo no presentó problemas (tabla N° 5). Los resultados de la verificación del tiempo de titulación (tabla N° 6) indicaron que el tiempo de retraso correspondía al que fue fijado. Los tiempos no son exactamente los que indica la especificación, pero lo que se evalúa en esta prueba es que los rangos que pueden ser establecidos por el usuario concuerden con los que dan experimentalmente, por lo que el equipo aprobó esta prueba

Tabla N° 5: Control de las funciones de encendido y apagado del medidor de humedad.

	Modulo principal	control de buretas	Agitador magnético
Encendido	Cumple	Cumple	---
Apagado	Apagado simultáneo		

Tabla N° 6: Verificación del tiempo de detención de la titulación.

t_D fijado	Factor de t (seg)	t fijado (seg)	t detención experimental (seg)	t detención según especificación (seg)
2	X 1	2	2,12	2 a 90
90	X1	90	87,02	
2	X10	20	19,88	20 a 900
90	X10	900	901,0	

En la tabla N° 7 se muestran los resultados de la evaluación de la velocidad de entrega de titulante. La finalidad de esta prueba consiste en evaluar si la velocidad que fija el usuario necesariamente será la misma cuando repita una titulación a la misma velocidad seleccionada. Este aspecto tiene importancia en aquellas titulaciones en que se conoce con anterioridad el gasto de titulante y se

fija la velocidad para llegar en menor tiempo al punto final. Si la velocidad fijada no fuera constante, se corre el riesgo de pasarse del punto final, obteniendo lecturas de gasto erróneas. Los resultados muestran coeficientes de variación bajos, aceptables a nivel del trabajo en el laboratorio, por lo que se da por aprobada esta evaluación.

Tabla N° 7: Evaluación de la precisión de la velocidad de entrega de titulante.

dv/dt = 1			dv/dt = 3		
Tiempo (seg)	Volumen (mL)	Velocidad (mL/seg)	Tiempo (seg)	Volumen (mL)	Velocidad (mL/seg)
30,06	0,72	0,024	10,28	1,19	0,116
30,25	0,72	0,024	11,56	1,43	0,123
30,25	0,72	0,024	13,59	1,71	0,126
30,07	0,70	0,023	14,25	1,77	0,124
30,75	0,73	0,024	17,16	1,95	0,114
36,53	0,83	0,023	14,69	1,78	0,121
39,03	0,96	0,025	14,85	1,79	0,121
27,03	0,64	0,023	12,44	1,46	0,117
35,31	0,84	0,024	15,53	1,85	0,119
37,50	0,89	0,024	18,68	2,23	0,120

Tabla N° 8: Resultados de la evaluación de la precisión de la velocidad de entrega del titulante.

Promedio	0,0237	0,1201
D.S.	0,000475	0,0037
C.V. (%)	2,00	3,10

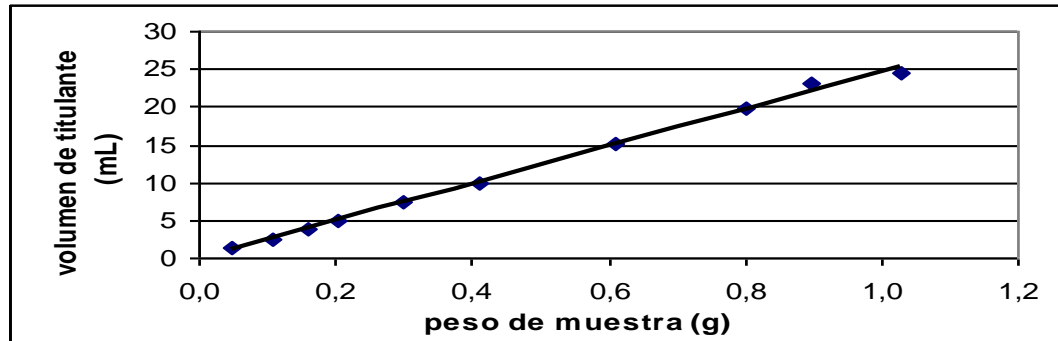
En la evaluación de la precisión (tabla N° 9) el equipo entregó un coeficiente de variación de 3,8%, por debajo del límite de la especificación, considerándose haber cumplido el criterio de precisión. Es importante señalar que estos resultados se obtienen sólo bajo condiciones controladas de la titulación, esto es, utilizando siempre la misma velocidad de titulación, en este caso $dv/dt = 1$, considerando que el fabricante señala que a esta velocidad se darán los resultados de mayor exactitud. La velocidad de rotación del agitador magnético también debe ser la misma.

Tabla N° 9 y 10: Datos de la relación peso de muestra, volumen gastado de titulante y factor de equivalencia.

	Peso de muestra (g)	Gasto de titulante (mL)	Factor de equivalencia (mg agua/mL titulante)
1	0,0461	1,24	5,8235
2	0,1070	2,53	6,6247
3	0,1593	3,81	6,5493
4	0,2014	4,97	6,3476
5	0,2974	7,44	6,2614
6	0,4102	9,94	6,4642
7	0,6108	15,02	6,3699
8	0,7994	19,92	6,2861
9	0,8981	23,00	6,1165
10	1,0271	24,45	6,5802
		Promedio	6,3423
		Desviación estándar	0,2415
		% coeficiente de variación.	3,8

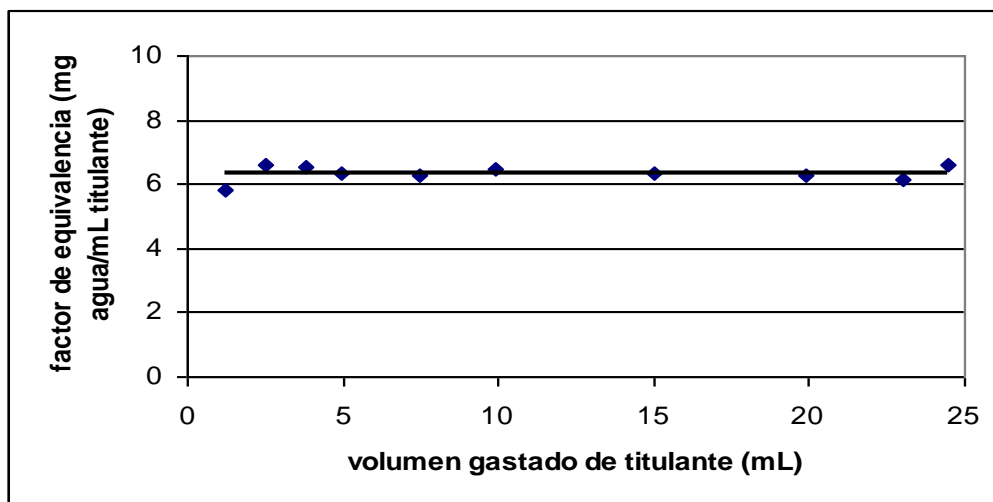
Las evaluaciones de las relaciones lineales del peso de muestra y volumen de titulante gastado y las de factor de equivalencia con el volumen de titulante gastado se realizaron con los datos de la tabla N° 9. En el gráfico N° 1 se observa la relación de peso v.s. gasto de titulante en la que al calcular la regresión lineal respectiva, resulta un valor de intercepto de 0,0106 mL, que está bajo el límite, aprobando este punto. Si el valor se encontrara sobre el límite (15) se debe realizar un chequeo del método de titulación y otras posibles influencias debidas al sistema. Si no se puede optimizar más el método, los valores individuales del consumo en mL deben ser corregidos, considerando el intercepto existente (volumen gastado – intercepto en mL), para asegurar que los errores sistemáticos debidos al método no están incorporados en la medición que realiza el equipo (15).

Gráfico N° 1: Relación peso de muestra v.s. volumen de titulante gastado.



La segunda evaluación, de factor de equivalencia v.s. volumen de titulante, se debiera observar como una relación lineal constante en el tiempo, debido a que el factor de equivalencia de una misma solución titulante no debiera variar si el volumen de titulante gastado para calcularlo varía (15). Al realizar regresión lineal con los datos, el resultado experimental de 0,002 de valor de pendiente, permitió aprobar la prueba (gráfico N° 2). Lo óptimo en este caso sería obtener un valor de pendiente cero, lo que experimentalmente es muy difícil.

Gráfico N° 2: Relación factor de equivalencia v.s. volumen de titulante gastado.



5.3 Resultados y discusiones de calificación del viscosímetro rotacional digital.

Durante el chequeo de la calificación de instalación, al revisar los accesorios del viscosímetro, la aguja LV#4, la más gruesa de las disponibles, había sido rechazada por estar en malas condiciones, según el certificado de la última calibración. Es por esto que la calificación se completó sólo cuando llegó una nueva aguja LV#4 sin uso.

La evaluación de torque se efectuó sin mayores inconvenientes y su resultado (tabla N° 11) indica que su estado mecánico se encuentra sin problemas, aprobando esta evaluación.

Tabla N° 11: Evaluación de la estabilidad del torque.

Velocidad del motor (rpm)	Lectura (%) Motor encendido	Lectura(%) Motor apagado	Lectura tolerada (%)
10	- 0,1	- 0,1	0,0 ± 0,1
20	- 0,1	- 0,1	0,0 ± 0,1

En la verificación del eje de rotación, en primer lugar la prueba se realizó de acuerdo a las instrucciones del manual de usuario del viscosímetro. Los resultados no eran correctos, y la forma de medición tampoco era la adecuada, debido a que se instalaba el pie de metro calibrado junto a la aguja que giraba, pero no existía un soporte o instrumento que permitiera mantener fijo al pie de metro para tomar mediciones precisas. Al encontrar que los resultados tenían muy poca reproducibilidad, se contactó al distribuidor nacional del viscosímetro, quien entregó las pautas para evaluar este punto. Fue necesario insertar y hacer rotar la aguja LV#2 y colocarla al mismo nivel que la aguja LV#1, estando ésta apoyada en el mesón. La distancia entre ambas agujas es de 2 mm, distancia que no puede ser sobrepasada. El hecho de tomar como referencia otra aguja, situada en el mesón de trabajo, facilitó la observación del cumplimiento de la condición para aprobar esta evaluación. Sin embargo, el viscosímetro sí aprobó este control (tabla N° 12).

Tabla N° 12: Verificación del eje de rotación.

AGUJA	DISTANCIA (mm)	SOBREPASA DISTANCIA	CONDICIÓN
LV#1	2,0	NO	CUMPLE
LV#2			

Para seleccionar a qué velocidades se debe evaluar la velocidad de rotación, primero se realizó un ensayo de determinaciones. En este ensayo se determinó que a las velocidades 0,6,

1,0, 1,5, 2,0 y 2,5 revoluciones por minuto (rpm) no es posible determinar las velocidades con el tacómetro digital. Esto es debido a que el extremo del viscosímetro ejerce un roce menor al necesario para generar el movimiento en el tacómetro. Sólo fue posible obtener resultados con velocidades de rotación de 3,0 rpm o superior. Sin embargo, para ajustar la prueba a un tiempo conveniente, se diseñó la prueba para las velocidades más frecuentemente utilizadas en los análisis, que son 6,0, 12,0, 30,0, 50,0, 60,0 y 100,0 rpm. Son estas las velocidades que son integradas en el protocolo final. Los resultados (tabla N° 13) permitieron aprobar esta prueba.

Tabla N° 13: Verificación de la velocidad de rotación.

	VELOCIDAD DE ROTACIÓN (rpm)					
	6,0	12,0	30,0	50,0	60,0	100,0
1	6,2	11,7	30,1	49,1	57,6	97,8
2	6,0	11,8	29,8	48,0	58,5	97,5
3	6,2	12,1	30,0	50,1	60,2	100,6
4	6,0	11,9	29,7	49,4	60,1	100,8
5	6,0	11,7	29,3	51,0	59,8	99,0
6	6,2	12,1	29,2	49,7	59,9	100,4
7	6,0	11,9	30,2	50,0	59,4	99,9
promedio	6,09	11,89	29,76	49,61	59,36	99,43
D.S.	0,17	0,17	0,39	0,93	0,96	1,35
C.V (%)	1,76	1,41	1,30	1,88	1,62	1,36

Para la evaluación de la exactitud fue necesario determinar qué aguja se utilizaría en las mediciones; para ello se realizaron determinaciones rápidas con los cuatro tipos de agujas disponibles, y probando a todas las velocidades disponibles, determinándose que la aguja más adecuada para las determinaciones era la LV#4. El criterio que se utilizó para la selección fue primero obtener valores leíbles en el viscosímetro, y además que el porcentaje de torque se encontrara en el rango aceptable de entre 50 y 80%, debido a que las mediciones realizadas en ese rango son más confiables.

Tabla N° 14: Evaluación de la exactitud de las lecturas del viscosímetro.

N°	Velocidad (rpm)	Torque (%)	Lectura (cP)	Límites de aceptación (cP)
1	6,0	58,0	58.000	56.341 – 59.499
2	6,0	58,0	58.000	56.341 – 59.499
3	6,0	58,0	58.000	56.341 – 59.499
4	6,0	57,9	57.900	56.341 – 59.499
5	6,0	57,9	57.900	56.341 – 59.499
6	6,0	57,8	57.800	56.341 – 59.499
7	6,0	57,9	57.900	56.341 – 59.499

El resultado entregado al evaluar la precisión del viscosímetro, a través de la determinación del coeficiente de variación, indica que el viscosímetro de encuentra dentro del límite de 200 cP (16) que es parte de las especificaciones del equipo.

Tabla N° 15: Evaluación de la precisión de las lecturas del viscosímetro.

Promedio de lecturas (cP)	Desviación estándar (cP)	% Coeficiente de variación	Resultado
57.928,57	75,59	0,13	CUMPLE

5.4 Resultados y discusiones de calificación del pHmetro digital.

El pHmetro aprobó todos los puntos del protocolo de calificación de instalación.

Al realizar la prueba de exactitud de las mediciones, todos los valores se encontraron dentro del rango permitido (tabla N° 16). Todos los resultados se obtuvieron controlando la temperatura de la solución buffer a 25° C. Con los resultados además, se calcularon los respectivos coeficientes de variación (tabla N° 17), todos los valores fueron menores a 0,1% (18). Considerado esto estadísticamente aceptable, se considera la evaluación aprobada y los resultados se registran en el informe de calificación correspondiente.

Tabla N° 16: Evaluación de la exactitud de las mediciones del pHmetro.

	pH buffer	Lectura pH	Rango tolerado
1	4,01	4,008	4,005 – 4,015
2	4,01	4,006	4,005 – 4,015
3	4,01	4,012	4,005 – 4,015
4	4,01	4,002	4,005 – 4,015
5	4,01	4,002	4,005 – 4,015
6	4,01	4,002	4,005 – 4,015
7	4,01	4,006	4,005 – 4,015
1	7,00	7,005	6,995 – 7,005
2	7,00	6,998	6,995 – 7,005
3	7,00	7,005	6,995 – 7,005
4	7,00	6,996	6,995 – 7,005
5	7,00	7,002	6,995 – 7,005
6	7,00	7,003	6,995 – 7,005
7	7,00	6,998	6,995 – 7,005
1	10,01	10,008	10,005 – 10,015
2	10,01	10,008	10,005 – 10,015
3	10,01	10,010	10,005 – 10,015
4	10,01	10,000	10,005 – 10,015
5	10,01	9,996	10,005 – 10,015
6	10,01	10,001	10,005 – 10,015
7	10,01	10,001	10,005 – 10,015

Tabla N° 17: Evaluación de la repetibilidad de las determinaciones del pHmetro.

	pH 4,01	pH 7,00	pH 10,01
Promedio	4,0054	7,001	10,004
Desviación estándar	0,00378	0,0037	0,0056
Coefficiente de variación	0,094	0,052	0,056

5.5 Resultados y discusiones del desarrollo de la metodología analítica.

En la verificación inicial de las respuestas de cada solvente fue imposible observar alguna señal cuando se analizaron los solventes N,N-dimetilacetamida, N,N-dimetilformamida, 2-etoxietanol, etilenglicol y formamida. No se consideró seguir con el desarrollo para aquellos solventes que presentaron picos muy asimétricos en las condiciones iniciales, y tampoco con aquellos que presentaban más de un pico debido a la presencia de estabilizantes y que pudieran interferir al realizar la detección simultánea de solventes. No se consideraron tampoco los cuatro solventes que ya están siendo controlados en el laboratorio a través de cromatografía gaseosa (6). Los solventes así seleccionados fueron: 1,1-dicloroetileno, ciclohexano, metilbutilcetona, 1,2-dicloroetileno, benceno y clorobenceno.

Los criterios utilizados para escogerla fueron en primer lugar, la proposición de ésta por la USP 28 para llevar a cabo el análisis. Se consideró también la forma y resolución con la que aparecen los solventes en los cromatogramas, los tiempos de retención adecuados que permiten realizar un análisis en corto tiempo y que dan cuenta de las interacciones entre los solventes y la columna. Además, se consideró su existencia en el laboratorio, las buenas condiciones en la que se encontraba.

A partir de los cromatogramas obtenidos al inyectar los solventes seleccionados en las condiciones de temperatura propuesta por la USP 28, fue posible determinar que los seis solventes aparecían antes de los 20 minutos, es decir, aún en la fase isotérmica a 40° C de la gradiente de temperatura utilizada.

Por esto, en primer lugar se consideró realizar un cromatograma isotérmico a 35° C y otro a 40° C. En el programa isotérmico a 35° C (figura N° 9) fue posible observar las seis señales con picos bien definidos y una separación adecuada. A 40° C (figura N° 10) los picos aparecieron bien definidos, pero los cuatro primeros picos aparecieron en forma abrupta, con una separación visualmente deficiente, especialmente entre el ciclohexano y el benceno. Además, en este caso, el pico correspondiente a clorobenceno apareció muy ancho y pequeño. A pesar de ello, fue el cromatograma más corto con 20 minutos de duración, contra los 23 minutos que duró el programa a 35° C.

Figura N° 9: Cromatograma del programa isotérmico a 35° C.

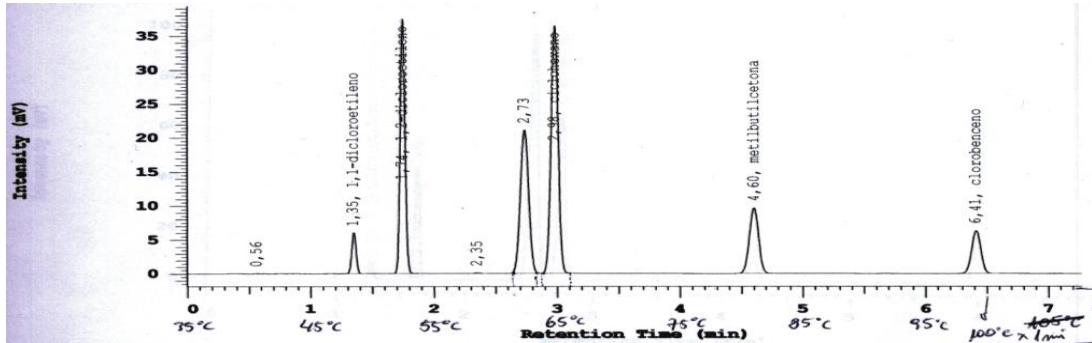
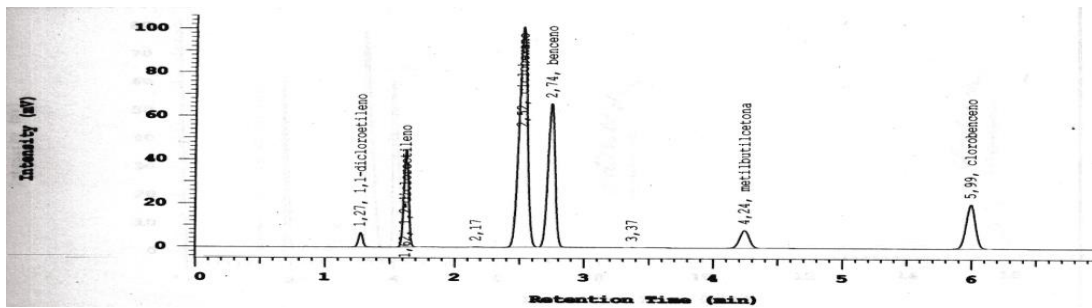


Figura N° 10: Cromatograma del programa isotérmico a 40° C.

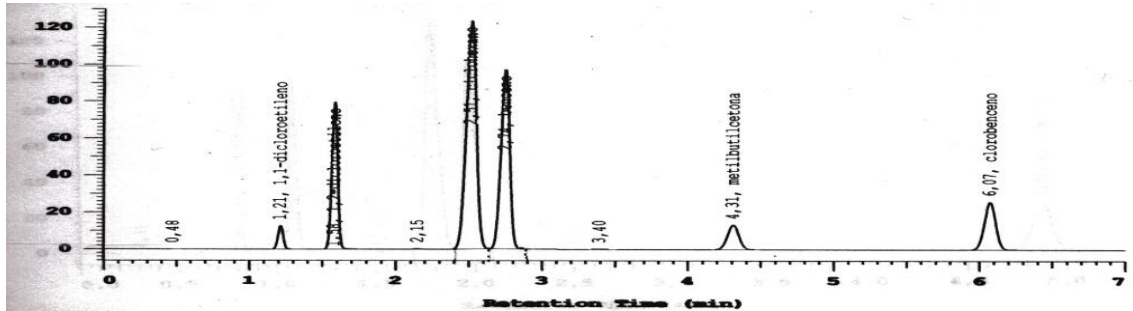


La gradiente de aumento de temperatura fue escogida realizando, en estas condiciones, un aumento de 1° C/min, 5° C/min y 10° C/min, escogiéndose finalmente el aumento a 10°C/min, pues en estas condiciones la resolución de los picos más cercanos, ciclohexano y benceno, es la mayor con un valor de 3,76, en comparación a 1,04 que se da a 5° C/min. Por lo tanto, las condiciones de temperatura quedaron establecidas en 35° C por 0 minutos, luego un aumento a 10°C/min hasta 100° C, manteniéndola así por 1 minuto.

Se realizaron cromatogramas a 100, 150 y 200 kiloPascal (kPa) de nitrógeno, encontrando que a mayor presión, la resolución entre estos picos y el tiempo total de análisis disminuían. Sólo a 100 kPa (figura N° 11) fue posible obtener una resolución superior a 1, y aunque el tiempo de

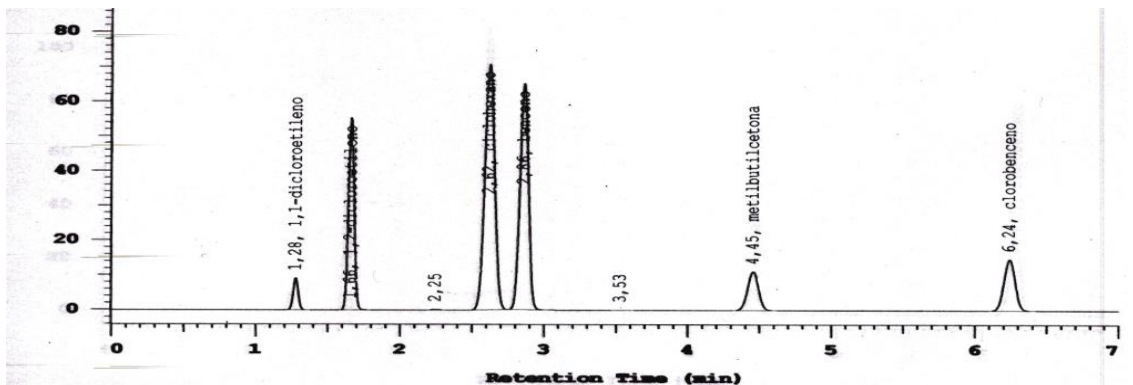
análisis fue el más largo con 7 minutos, se escogió esta presión para favorecer la separación de los picos.

Figura N° 11: Cromatograma a 100 kPa de presión de gas carrier.



Para escoger el flujo split del cromatógrafo se probaron los flujos 5, 15 y 25 mL/min, encontrándose que los picos eran simétricos en los tres casos, y que la mejor resolución se da a los 25 mL/min (figura N° 12), con un valor de 2,0.

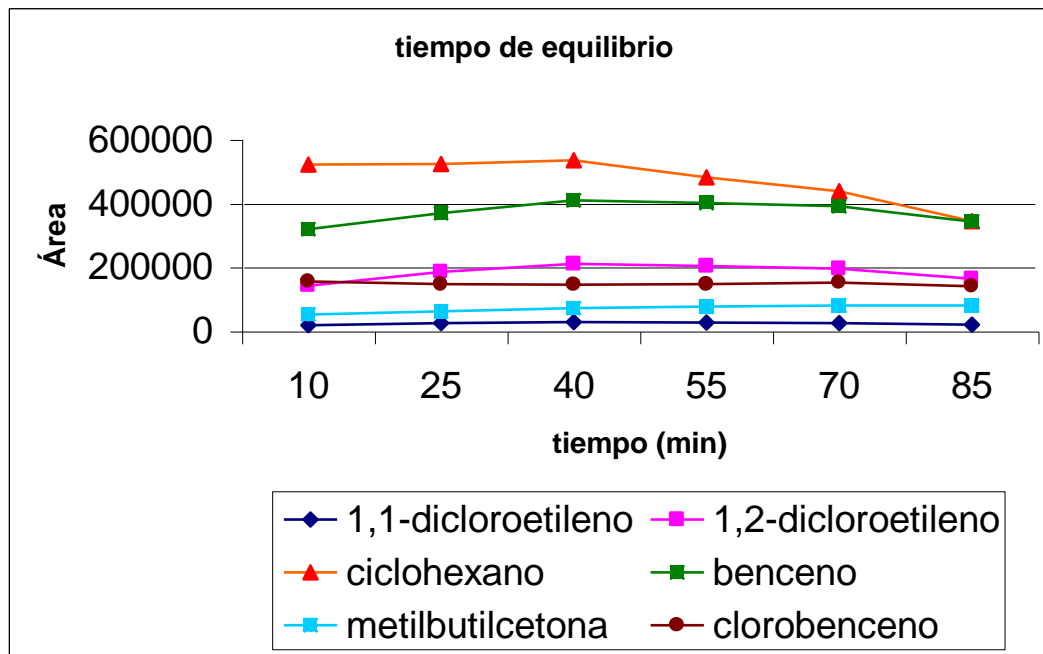
Figura N° 12: Cromatograma con flujo gas carrier de 25 mL/min.



Se visualizó para cada solvente la menor variación de área que se produce a través del tiempo y también el menor tiempo al que esta situación se lleva a cabo, con el fin de reducir el tiempo de análisis. A partir de los resultados, se observó que el tiempo en el cual existe la menor variación de áreas para el conjunto de solventes se encuentra en el intervalo de 30 a 40 minutos

de calentamiento del vial, estableciéndose este tiempo como el tiempo necesario para tomar muestras.

Gráfico N° 3: Determinación del tiempo de equilibrio del vial a 80° C.



TIEMPO DE EQUILIBRIO (min)						
solvente	10	25	40	55	70	85
1,1-dicloroetileno	17846	24253	27953	26553	24864	19888
1,2-dicloroetileno	141551	185062	211020	203825	194991	163067
ciclohexano	521367	522928	534048	481317	438445	344802
benceno	319706	370140	408646	400394	391738	341851
metilbutilcetona	51511	62297	72278	76916	80548	81002
clorobenceno	155731	147777	145972	146822	151409	140789

E
n la
tabla
N°

19 se muestran las resoluciones de los picos de ciclohexano y benceno, el par más cercano. La resolución obtenida cumplió con los requerimientos para este análisis.

Tabla N° 19: Resolución de los picos de ciclohexano y benceno en las condiciones establecidas.

	ciclohexano ancho (mm)	benceno ancho (mm)	ciclohexano tiempos de retención (min)	benceno tiempos de retención (min)	resolución
1	0,09	0,12	2,52	2,75	2,71
2	0,08	0,12	2,52	2,76	2,40
3	0,06	0,11	2,53	2,76	2,71
4	0,09	0,12	2,52	2,76	2,29
5	0,11	0,11	2,53	2,76	2,09
6	0,07	0,10	2,52	2,76	2,82
7	0,09	0,11	2,52	2,76	2,40

Al evaluar los resultados de la precisión de inyección, se encontró que las mayores variaciones se dan para los picos de clorobenceno y 1,1-dicloroetileno, y que el par de señales que menos varían son las de ciclohexano y benceno.

Tabla N° 20: Precisión de inyección.

INYECCIÓN	1		2		3		4	
Solventes	tr	A	tr	A	tr	A	tr	A
1,1- dicloroetileno	1,22	11429	1,23	11308	1,23	12065	1,23	11032
1,2- dicloroetileno	1,59	15469	1,60	15057	1,60	15371	1,60	14110
ciclohexano	2,52	11737	2,52	11387	2,53	12282	2,52	10861
benceno	2,75	23795	2,76	22366	2,76	23807	2,76	22587
metilbutilcetona	4,32	4883	4,32	4676	4,32	5141	4,32	5213
clorobenceno	6,08	7019	6,08	6687	6,08	6991	6,08	6507

5		6		7	
tr	A	tr	A	tr	A
1,23	10679	1,22	9165	1,22	15375
1,60	12969	1,59	11375	1,60	17865
2,53	11079	2,52	9279	2,52	11039
2,76	20959	2,76	18604	2,76	20448
4,33	4996	4,32	4878	4,32	4940
6,09	5219	6,08	4612	6,08	4830

SOLVEN TE	1,1- dicloroetileno	1,2- dicloroetileno	ciclohexa no	bencen o	metilbutilceto na	clorobence no
promedio	11579	14602,3	11094,9	21795, 1	4961	5980,7
D.S.	1900,8	2062,3	936,5	1901,6	178,8	1053
C.V. (%)	16,4	14,1	8,4	8,7	3,6	17,6

Los resultados obtenidos permiten definir un protocolo de análisis para detectar los seis solventes seleccionados: 1,1-dicloroetileno, ciclohexano, metilbutilcetona, 1,2-dicloroetileno, benceno y clorobenceno. Sin embargo, no se evaluó otra exigencia de farmacopea para métodos cromatográficos como es el factor de cola, con el fin de determinar la simetría de cada pico en forma cuantitativa.

La metodología analítica quedó definida para, a partir de ella, realizar los ensayos con excipientes, implementarla y posteriormente validarla para su uso en el laboratorio.

VI. CONCLUSIONES

A pesar de que existe poca información publicada específicamente para el tema de desarrollo de calificación de equipamiento analítico, y en especial para instrumental de menor complejidad, es posible encontrar guías de evaluación de diferentes aspectos de cada equipo e integrarlos en un protocolo de evaluación.

Además, a partir de información proporcionada principalmente por farmacopeas, información entregada por el fabricante, y búsqueda bibliográfica acerca de cada equipo, fue posible diseñar los protocolos de calificación con pruebas claras y fácilmente realizables en el laboratorio por personal técnico, realizándose las pruebas diseñadas, y a partir de los resultados se fijaron valores o condiciones de aprobación en aquellos casos en que no existían límites establecidos para su aprobación.

Se realizó la calificación de los cuatro equipos originalmente propuestos: el espectrofotómetro infrarrojo, el medidor de humedad, el viscosímetro digital y el pHmetro digital, continuando así el plan de calificación de equipos del Departamento de Aseguramiento y Control de la Calidad en Laboratorios Lafi Ltda.

Junto con esto se escribió un protocolo de análisis para control de seis de solventes residuales en materias primas en el Laboratorio. Para esto se establecieron las condiciones de análisis entre las cuales están la temperatura del horno, columna, método de inyección, volumen de inyección y caracterización de cromatogramas.

El desarrollo de la metodología analítica es un paso para un mayor control de estos solventes en materias primas, sin embargo, para su implementación el método debe ser previamente validado.

Durante el período de práctica profesional fue posible abordar y comprender todas las áreas que existen dentro del laboratorio de Control de Calidad en la industria farmacéutica.

Este trabajo permite describir la capacidad de la formación del Químico Farmacéutico al enfrentarse a equipos no utilizados en forma práctica con anterioridad, manejarlos, y realizar en ellos trabajos tendientes al aseguramiento de la calidad.

VII. REFERENCIAS

1. THE UNITED STATES PHARMACOPEIA, The National Formulary. USP 28. General Methods, Chemical Tests, <467> Organic Volatile Impurities, pp 2322-2332. Twenty nine Revision, U.S.P.C. Inc, 2005.
2. QUALIFICATION of Analytical Instruments for Use in the Pharmaceutical Industry: A Scientific Approach por Surendra K. Bansal, Thomas Layloff, Ernest D. Bush, Marta Hamilton, Edward A. Hankinson, John S. Landy, Stephen Lowes, Moheb Nasr, Paul St. Jean y Vinod Shah. AAPS PharmSciTech 5 (1) Article 22, 20 ene, 2004.
3. PHARMACEUTICAL Inspection Convention. Recommendations on Validation Master Plan, Installation and Operational Qualification, Non-sterile Process Validation, Cleaning Validation. Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme. July, 2004. 26p.
4. LABCOMPLIANCE, Equipment Validation and Qualification in Analytical Labs: Overview. [en línea] www.labcompliance.com. [consulta: agosto 2005].
5. WHO, Quality Assurance of Pharmaceuticals. Part 2: WHO Good Manufacturing Practices: Starting Materials. World Health Organization. pp76.
6. GUERRERO Castillo, Pablo. Implementación de ensayos directos y por headspace para la determinación de impurezas orgánicas volátiles en materias primas. Unidad de práctica prolongada para optar al título de Químico Farmacéutico. Santiago, Chile. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, 2004. 74h.
7. SMITH, C. Brian, Fundamentals of Fourier Transform Infrared Spectroscopy. USA, CRC Press LLC, 1996. 202p.
8. BERTIE, John E. Specification of components, methods and parameters in Fourier transform spectroscopy by Michelson and related interferometers. Pure & Appl. Chem., Vol. 70 (10): 2039-45, 1998.
9. EMEA, Committe for Proprietary Medicinal Products. Note for guidance on the use of near infrared spectroscopy by the pharmaceutical industry and the data requirements for new submissions and variations. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. London, February 2003. 14p.
10. British Pharmacopeia 2000.
11. USP 26, The Official Compendia of Standards, General Methodology <921> Water Determination, p 2230-2231.
12. WHO Methods. [en línea] Karl Fischer Electrometic Titration Method for Determination of Water Content. Method WHO/M/7.R1 december 1999. www.who.com [consulta: agosto 2005].

13. RADIOMETER Analytical. Karl Fischer Volumetric Titration, Theory and Practice. Radiometer Analytical SAS. France, 2004. 14p.
14. METROHM Ag CH-9100 Herisau, Automatic Karl Fischer Titrator 633 Instructions for Use Serie 01, Metrohm, Switzerland.
15. MÖCKLI, D./ Metrohm Application Bulletin. [en línea] Validation of Metrohm KF Titrators and KF Oven according to GLP/ISO9001. No. 255/1e, 1996. www.metrohm.com [consulta: agosto 2005].
16. BROOKFIELD DIGITAL VISCOMETER, Model DV-I+ Operating Instructions, Manual No. M/92-021-J1297, Brookfield Engineering Laboratories, Inc., MA, USA.
17. USP 26, The Official Compendia of Standards, General Methodology <911> Physical Tests, Viscosity.
18. BROOKFIELD Digital Viscometer: Installation Qualification, Operation Qualification and Performance Qualification Procedure, 3Qs008, Brookfield Engineering Laboratories, Inc., MA, USA, 22 nov, 2002.
19. BROOKFIELD, Viscosity – General Methodology New Brunswick Method, Method 010F Version 001, marzo 15, 1992.
20. ORION Perfect Meters, Orion 370 Instruction Manual. Thermo Electron Corporation, 2003.
21. ORTEGA Campos, Carmen. Empleo de un protocolo de calificación de equipos para el funcionamiento de la unidad de control de calidad. Unidad de práctica prolongada para optar al título de químico farmacéutico. Santiago, Chile. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, 1997.
22. GONZÁLEZ Valenzuela, Pablo. Estudios preliminares para la identificación y evaluación de solventes residuales en comprimidos recubiertos: bases para la proposición de una normativa de control para productos farmacéuticos. Memoria para optar al título de Químico Farmacéutico. Santiago, Chile. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, 2001.
23. FOWLIS, A. Ian, Gas Chromatography, Analytical Chemistry by Open Learning. John Wiley & sons, 2nd ed. UK, University of Greenwich, 1999. 258p.
24. THE UNITED STATES PHARMACOPEIA, The National Formulary. USP 28. General Methods, Physical Tests, <621> Chromatography, pp 23 –2386. Twenty nine Revision, U.S.P.C. Inc, 2005.

ANEXOS

ANEXO N° 1:

Figura N° 1, Fotografía del equipo espectrofotómetro infrarrojo Bruker IFS 28.



ANEXO N° 2:

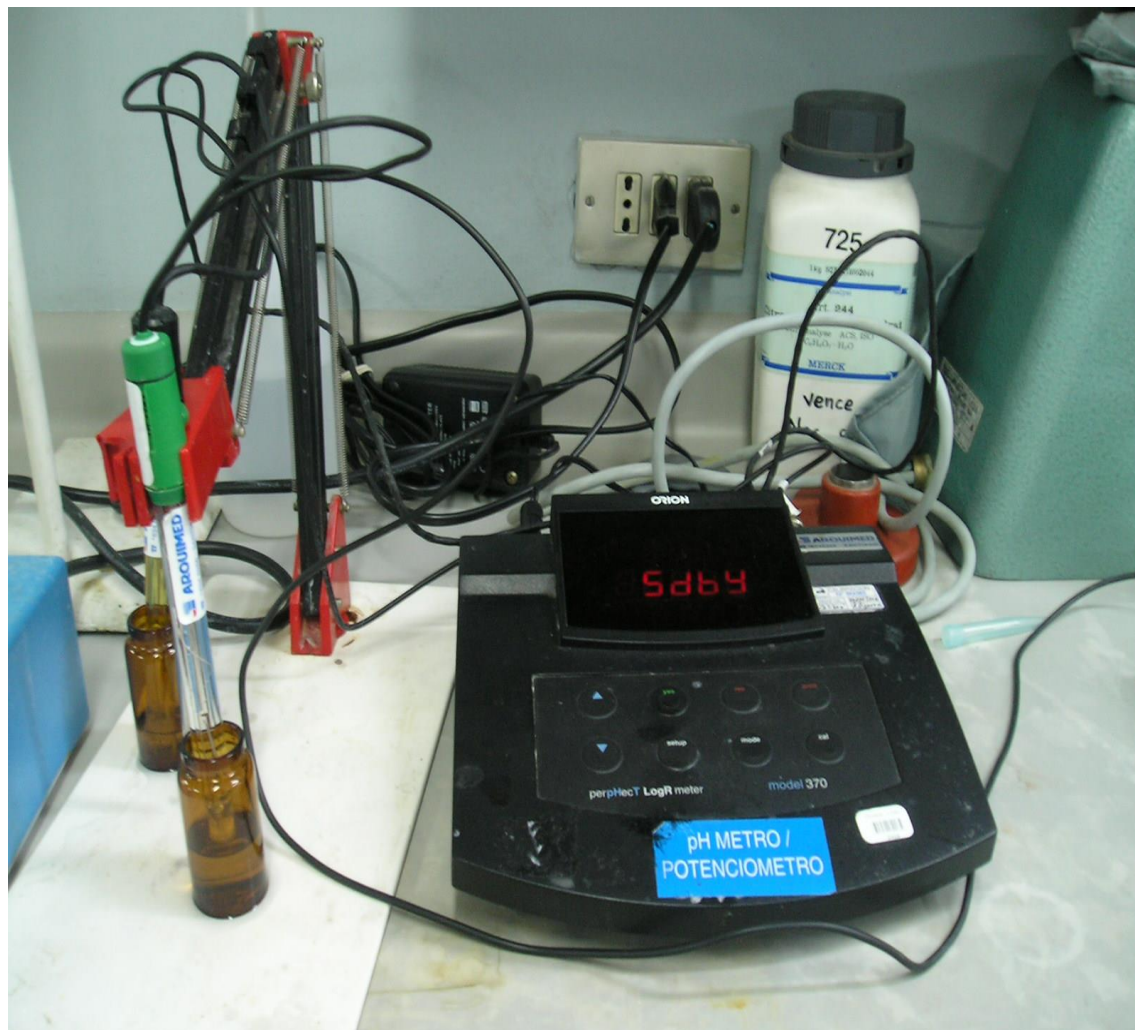
Figura N° 5, Fotografía del equipo medidor de humedad Metrohm 633.



ANEXO N° 3:
Figura N° 6, Fotografía del viscosímetro digital Brookfield LV DVI+.



ANEXO N° 4:
Figura N° 7, Fotografía del pHmetro digital Orion 370.



ANEXO N° 5:

Figura N° 8, Fotografía del cromatógrafo de gases Shimadzu GC-14B.



ANEXO N° 6:

Tabla N° 18: Clasificación de solventes residuales según ICH, adaptados por USP 28.

SOLVENTES RESIDUALES			
Clase 1			
solvente	Concentración límite (ppm)	solvente	Concentración límite (ppm)
Benceno	2	1,1-dicloroetileno	8
Tetracloruro de carbono	4	1,1,1-tricloroetano	1500
1,2-dicloroetano	5		
Clase 2			
solvente	Concentración límite (ppm)	solvente	Concentración límite (ppm)
Acetonitrilo	410	Metanol	3000
Clorobenceno	360	2-metoxietanol	50
Cloroformo	60	Metilbutilcetona	50
Ciclohexano	3880	Metilciclohexano	1180
1,2-dicloroetileno	1870	N-metilpirrolidona	4840
Diclorometano	600	Nitrometano	50
1,2-dimetoxietano	100	Piridina	200
N,N-dimetilacetamida	1090	Sulfolano	160
N,N-dimetilformamida	880	Tetralina	100
1,4-dioxano	380	Tolueno	890
2-etoxietanol	160	1,1,2-tricloroetileno	80
Etilenglicol	620	xileno	2170
Formamida	220		
hexano	290		

ANEXO N° 7

Protocolo de calificación del espectrofotómetro infrarrojo.

1. ALCANCE

Este protocolo es aplicable al personal del laboratorio que deba realizar la operación de calificación del espectrofotómetro infrarrojo Bruker IFS 28.

2. CONSIDERACIONES PREVIAS A LA CALIFICACIÓN

Antes de proceder calificar al equipo, chequear las siguientes condiciones:

2.1 La sílica del compartimiento de muestras no debe encontrarse saturada. Si es así, reemplazarla.

2.2 Verificar, según P.O.E. de funcionamiento, que la intensidad y posición del láser sean adecuadas.

3. CALIFICACIÓN DE INSTALACIÓN

3.1 Verificar detalladamente si el equipo cumple o no con los siguientes puntos:

	CUMPLE	NO CUMPLE
El equipo se encuentra mantenido en buen estado.		
Se cuenta con los certificados y detalles de calibración y mantención del equipo y sus intervalos de calibración claramente establecidos.		
Existen instalados los recursos requeridos para el funcionamiento (computador, impresora), debidamente conectados.		
Se cuenta con software para manejo y control del equipo correctamente configurado, y con un sistema de almacenamiento de los datos establecido.		
Las condiciones ambientales son adecuadas para el funcionamiento normal del equipo.		
Se cuenta con los accesorios de preparación y soporte de muestras, mantenidos en buen estado.		
Existencia de instalaciones eléctricas suficientes y apropiadas para su funcionamiento.		

Se cuenta con los materiales que se utilizan para la operación normal del equipo.		
Se cuenta con acceso a los manuales de uso del equipo y de sus accesorios.		
Se cuenta con procedimientos estándares para el uso y limpieza del equipo.		

El equipo aprueba la calificación de instalación si cumple con todos los puntos indicados.

4. CALIFICACIÓN DE DESEMPEÑO

4.1 Exactitud del número de onda.

Verificar la exactitud en la aparición de las señales en el equipo. La especificación del equipo es $\pm 0,5 \text{ cm}^{-1}$.

Materiales:

- Film de poliestireno de $38 \mu\text{m}$ de ancho, de bandas certificadas y trazables a NIST.

Procedimiento:

4.1.1 Encender el equipo según P.O.E. de funcionamiento, y entrar en el programa OPUS. Ingresar los datos de la muestra y grabar.

4.1.2 Seleccionar las siguientes condiciones de lectura:

Resolución: 4 cm^{-1}
 Sample scan time: 1
 Background scan time: 1
 Rango de lectura: 4000 a 400 cm^{-1}

4.1.3 Realizar la lectura del blanco y del film de poliestireno y obtener el espectro de transmitancia. Convertir al espectro de absorbancia. Encontrar las señales especificadas en el film de poliestireno, hacer zoom en ellas y registrarlas sobre el espectro.

Número de onda especificado (cm^{-1})	Lectura (cm^{-1})	Límites de aceptación (cm^{-1})	Resultado
3082,2		3081,7 – 3082,7	
3060,1		3059,6 – 3060,6	
1601,6		1601,1 – 1602,1	
1583,4		1582,9 – 1583,9	
1028,5		1028,0 – 1029,0	

El equipo cumple el requisito de exactitud si todas las señales especificadas se encuentran dentro de los límites de aceptación.

4.2 Precisión del número de onda.

Materiales:

- Film de poliestireno de 38 μm de ancho, de bandas certificadas y trazables a NIST.

Procedimiento:

4.2.1 Ingresar los datos de la muestra y grabar.

4.2.2 Seleccionar las siguientes condiciones de lectura:

Resolución: 4 cm^{-1}
 Sample scan time: 1
 Background scan time: 1
 Rango de lectura: 4000 a 400 cm^{-1} .

4.2.3 Realizar la lectura del blanco y del film de poliestireno y obtener el espectro de transmitancia. Convertir al espectro de absorbancia. Encontrar las señales especificadas en el film de poliestireno, hacer zoom en ellas y registrarlas sobre el espectro.

4.2.4 Realizar 10 determinaciones y calcular el valor de lectura promedio y coeficiente de variación para cada señal especificada.

Señal especificada (cm^{-1})					
Nº	3082,2	3060,1	1601,6	1583,4	1028,5
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
Promedio					
D.S.					
% C.V.					

El equipo cumple con el criterio de precisión del número de onda, si todos los coeficientes de variación son menores a 1%.

4.5 Ruido fotométrico

Procedimiento:

4.5.1 Ingresar los datos de la muestra y grabar.

4.5.2 Seleccionar las siguientes condiciones de lectura:

Resolución: 4 cm⁻¹
Sample scan time: 16
Background scan time: 16
Rango de lectura: 4000 a 400 cm⁻¹.

4.5.3 Obtener el espectro de transmitancia del blanco (background).

4.5.4 Hacer zoom entre 2200 y 2000 cm⁻¹.

4.5.5 Registrar el porcentaje de transmitancia de la señal de mayor y menor transmitancia dentro del rango.

El equipo cumple con los niveles de ruido si la diferencia entre la mayor y menor transmitancia es igual o menor a 0,1% T.

4.6 Resolución

Materiales: - Film de poliestireno de 38 µm de ancho, de bandas certificadas y trazables a NIST.

Procedimiento:

4.6.1 Ingresar los datos de la muestra y grabar.

4.6.2 Seleccionar las siguientes condiciones de lectura:

Resolución: 4 cm⁻¹
Sample scan time: 16
Background scan time: 16
Rango de lectura: 2890 a 2840 cm⁻¹.

4.6.3 Obtener el espectro de transmitancia del film de poliestireno.

4.6.4 Registrar el valor de transmitancia de la señal mínima y máxima en el rango de lectura, y calcular la diferencia.

4.6.5 Repetir el procedimiento realizando la lectura entre 1600 y 1570 cm⁻¹.

El equipo cumple la prueba de resolución si la diferencia de %T en el rango 2890 a 2840 cm⁻¹ es mayor a 18 %T y en el rango 1600 a 1570 cm⁻¹ es mayor a 12 %T.

%T	%T _{MAX} - %T _{MIN}	Diferencias toleradas
----	---------------------------------------	-----------------------

2870 cm-1			> 18 %T
2851 cm-1			
1589 cm-1			> 12 %T
1583 cm-1			

ANEXO N° 8:

Protocolo de calificación del medidor de humedad.

1. ALCANCE

Este protocolo es aplicable al personal del laboratorio de control de calidad que deba realizar la calificación del medidor de humedad Metrohm E-633.

2. CONSIDERACIONES PREVIAS A LA CALIFICACIÓN

Antes de proceder a calificar el medidor de humedad, es necesario verificar los siguientes aspectos:

2.1 El sistema interior del medidor de humedad debe estar exento de humedad a lo largo de todo el tiempo de análisis. Revisar el ajuste del contenedor de la sílica al recipiente del solvente, del titulante y al vaso de titulación. Chequear que la sílica tenga color azul. Si su color ha cambiado a rosado, reemplazarla.

2.1 Revisar el estado del reactivo titulante, considerando su fecha de vencimiento y fecha de normalización, las que deben encontrarse dentro de períodos aceptables.

3. CALIFICACIÓN DE INSTALACIÓN

Chequear si el quipo cumple o no con los siguientes puntos:

	CUMPLE	NO CUMPLE
El aparato se encuentra mantenido en buenas condiciones.		
Se cuenta con los certificados y detalles de calibración y mantención del aparato y sus intervalos de calibración están claramente establecidos.		
Se cuenta con los materiales consumibles (solvente, titulante) requeridos para el funcionamiento normal del aparato.		
Se cuenta con todos los accesorios de trabajo necesarios (espátulas, agitador magnético), mantenidos en buen estado.		
Se cuenta con las instalaciones y conexiones eléctricas apropiadas para su funcionamiento.		
Se cuenta con las utilidades requeridas para el funcionamiento normal del equipo (electrodo, pulso de volumen) correctamente conectados.		
Se cuenta con acceso al manual del uso del aparato y de sus accesorios.		

Se cuenta con procedimientos estándares para su uso y estandarización del titulante. Agregar condiciones ambientales		
--	--	--

El equipo aprueba la calificación de instalación si cumple con todos los puntos indicados.

4. CALIFICACIÓN OPERACIONAL

4.1 Control de encendido y apagado

Procedimiento:

- 4.1.1 Encender el aparato con el switch principal en la posición ON. Se debe encender la luz del piloto y la luz STOP en el módulo principal.
- 4.1.2 Accionar la tecla ON/OFF del módulo 645-MultiDosimat. Al encender el switch del agitador magnético (posición I) se debe encender la luz del módulo agitador.
- 4.1.3 Apagar con la tecla ON/OFF; se deben apagar las luces del módulo 645-MultiDosimat y del agitador magnético. Apagar el equipo.

El aparato cumple la prueba si cumple con los puntos descritos.

4.2 Tiempo de detención de titulación

- Materiales:
- Estándar tartrato de sodio dihidrato
 - Cronómetro
 - Reactivo titulante
 - Solvente de disolución

Procedimiento:

- 4.2.1 Encender el equipo según P.O.E. V.B. 3.20.
- 4.2.2 Fijar el tiempo de detención de detención de la titulación t_D mínimo ($t_D = 2$) con el factor de tiempo x 1s para detener la valoración.
- 4.2.3 Iniciar la titulación en START, comenzando a controlar el tiempo.
- 4.2.4 Controlar el tiempo hasta encenderse la luz roja STOP, y registrarlo.
- 4.2.5 Repetir los puntos anteriores, fijando el factor de tiempo en x 10 s, y registrar el tiempo.
- 4.2.6 Repetir los puntos anteriores fijando el tiempo de detención de la titulación al máximo ($t_D=90$), fijando el factor de tiempo x 10 s.
- 4.2.7 Repetir el punto anterior fijando el factor de tiempo x 1 s.

t_D	Factor de t (s)	Tiempo de detención (s)	Tiempo de detención obtenido (s)	Resultado
2	X 1	2		2 a 90
2	X10	90		
90	X1	20		20 a 900
90	X10	900		

2.3 Velocidad de entrega del titulantes.

Materiales: - Reactivo titulante

Procedimiento:

- 2.1 Fijar la velocidad de entrega del reactivo titulante girando la perilla de ajuste dV/dt en 1.
- 2.2 Comenzar una titulación, tomando el tiempo con cronómetro desde que se inicia la titulación.
- 2.3 Detener el equipo y el cronómetro, registrando el tiempo en el que se detuvo el cronómetro y el volumen entregado al vaso de reacción.
- 2.4 Repetir X veces y determinar la Repetibilidad de las velocidad de entrega del reactivo titulante.

2.4 Chequeo de autocero del titulante.

Inmediatamente después de la prueba anterior, verificar que el aparato se ajusta correctamente a nivel cero de volumen de titulante antes de comenzar una titulación.

Procedimiento:

Girar a la izquierda la flecha que se encuentra en la base de la bureta con titulante (flecha ↓) y presionar la tecla ↓ del módulo 645-MultiDosimat. El contador de volumen debe retroceder automáticamente hasta valores bajo cero mL. Luego debe ajustarse automáticamente en 00.00 mL.

	CUMPLE	NO CUMPLE
CONDICIÓN		

2.5 Electrodo e instrumento indicador (1)

Colocar el switch selector en el modo de valoración directa y desconectar el electrodo en la parte posterior del instrumento. La aguja del instrumento indicador debe permanecer en la derecha del indicador. Luego conectar los circuitos del electrodo. La aguja del instrumento indicador debe permanecer en la izquierda (en dirección hacia el punto final). Colocar el switch selector en el modo retrotitulación y desconectar los enchufes del electrodo. La aguja del instrumento indicador debe permanecer en la izquierda (en dirección hacia el punto final). Volver a conectar los circuitos del electrodo.

La aguja del instrumento indicador debe permanecer en la zona media de la escala.

1) Calificación de desempeño (PQ)

Materiales:

Estándar de tartrato de sodio dihidrato
Reactivo titulante
Solvente de disolución

Procedimiento: (3)

Encender el equipo para realizar una valoración según el P.O.E. N° V.B.3.20. Ajustar la velocidad del titulante en $dv/dt \approx 2$ y el tiempo de retraso t_D en 5 segundos. Pesar 10 muestras de estándar de tartrato de sodio dihidrato cuyo gasto de reactivo titulante se encuentre entre 4 y 18 mL. Realizar las 10 valoraciones y registrar el volumen de reactivo titulante gastado. Calcular el factor equivalente de agua (mg /mL) del reactivo Karl Fischer en cada determinación.

3.1 Precisión

Calcular el valor promedio de las 10 determinaciones del factor de equivalencia y su desviación estándar relativa, cuyo valor no debe ser $> 0.5\%$.

3.2

Tabular y graficar los datos de peso de la muestra (g) (eje x) versus el volumen de reactivo titulante gastado (mL) en cada valoración (eje y). Por regresión lineal determinar el intercepto de la recta en el eje y, el que no debe encontrarse fuera del rango ± 0.020 mL.

3.3

Tabular y graficar los datos de volumen de reactivo titulante (mL) (eje x) versus el factor de equivalencia del reactivo titulante (mg/mL). Por regresión lineal determinar la pendiente de la recta, cuyo valor no debe encontrarse fuera del rango ± 0.0100 .

ANEXO N° 9:

Protocolo de calificación del viscosímetro digital rotacional.

1. ALCANCE

Este protocolo es aplicable al personal del laboratorio que deba realizar la operación de calificación del viscosímetro rotacional Brookfield LV DV-I+.

2. CONSIDERACIONES PREVIAS A LA CALIFICACIÓN

Antes de realizar la calificación es necesario asegurar que las mediciones de viscosidad se realizarán cumpliendo las condiciones mínimas de funcionamiento del aparato, realizando los siguientes pasos:

- 2.2 Verificar la nivelación del viscosímetro, chequeando que la burbuja esté centrada en el círculo de la parte superior del viscosímetro. Si no lo estuviera, ajustar su posición girando los tres tornillos ubicados en la base del viscosímetro.
- 2.3 Realizar el autocero del viscosímetro. Para esto, encender el aparato. En la pantalla aparecerá *REMOVE SPINDLE*. Asegurarse que no hayan agujas insertadas y presionar cualquier tecla. Se mostrará el mensaje *AUTOZEROING*. Al indicar *REPLACE SPINDLE* presionar cualquier tecla, verificando que aparezcan en cero los valores de velocidad (rpm), torque (%) y viscosidad (cP).

3. CALIFICACIÓN DE INSTALACIÓN

- 3.1 Verificar detalladamente si el equipo cumple o no con los siguientes puntos:

Se cuenta con los materiales consumibles requeridos para el funcionamiento normal del aparato.	
Las condiciones ambientales son adecuadas para la instalación y funcionamiento del instrumento.	
Se cuenta con todos los accesorios de trabajo necesarios (agujas LV, recipientes, baño termostático) mantenidos en buen estado.	
El aparato se encuentra mantenido en buenas condiciones.	
Se cuenta con los certificados y detalles de calibración y mantención del equipo y sus intervalos de calibración están claramente establecidos.	

Se cuenta con las instalaciones y conexiones eléctricas apropiadas para su funcionamiento.	
Se cuenta con acceso a los manuales de uso del aparato y de sus accesorios.	
Se cuenta con procedimientos estándares para el uso, calibración y limpieza del viscosímetro.	

El viscosímetro aprueba con la calificación si cumple con todos los puntos indicados.

4. CALIFICACIÓN OPERACIONAL

4.1 Chequeo de la oscilación.

Verificar la condición mecánica de la oscilación, debido a que posibles daños en rodamientos afectan el mecanismo de detección del viscosímetro y con ello la exactitud y repetibilidad del aparato.

Procedimiento:

4.1.1 Encender el viscosímetro y realizar el autocero. Sin insertar ninguna aguja, hacer rotar el motor a 10 y 20 revoluciones por minuto (rpm). El % de torque en pantalla inicialmente tiene variaciones; esperar alcanzar el equilibrio, donde la lectura de torque se estabiliza a $0.0\% \pm 0.1\%$. Detener el motor. Cuando la lectura se estabilice nuevamente, debe indicar $0.0\% \pm 0.1\%$.

Velocidad del motor (rpm)	Lectura (%)		Lectura tolerada (%)
	Encendido	Apagado	
10			0.0 ± 0.1
20			0.0 ± 0.1

El viscosímetro cumple con la prueba de oscilación si sus lecturas de torque se encuentran dentro de los límites tolerados a cada velocidad.

4.2 Verificación de la velocidad de rotación

Verificar la precisión de la velocidad de rotación del viscosímetro.

Materiales: - 1 tacómetro digital con adaptador cónico.

Procedimiento:

4.2.1 Seleccionar la velocidad de rotación 6 rpm en el viscosímetro.

4.2.2 Encender el motor del viscosímetro, sin insertar ninguna aguja.

- 4.2.3 Colocar bajo la punta del motor el extremo del adaptador cónico del tacómetro digital.
- 4.2.4 Acomodar el tacómetro de manera que rote libremente en contacto con el motor.
- 4.2.5 Presionar el botón de lectura del tacómetro por 2 segundos, y registrar la velocidad entregada por el viscosímetro.
- 4.2.6 Realizar 7 repeticiones a la velocidad indicada, y registrar los resultados.
- 4.2.7 Repetir todos los puntos anteriores seleccionando la velocidad 12, 30, 50, 60 y 100 rpm.

	6 rpm	12 rpm	30 rpm	50 rpm	60 rpm	100 rpm
Promedio						
D.S.						
C.V.						

El viscosímetro cumple la prueba si el coeficiente de variación de las mediciones a cada velocidad es $\leq 5,0 \%$.

4.3 Verificación del eje de rotación.

Verificar que el viscosímetro no tiene una rotación de tipo excéntrica en el eje central que produzca medidas de viscosidad mayores a las reales.

- Materiales:
- Agujas LV#1, LV#2 y LV#3.
 - 1 pie de metro calibrado

Procedimiento:

- 4.3.1 Insertar la aguja LV#2 y seleccionar su código en el aparato.
- 4.3.2 Colocar la aguja LV#1 a 2 mm de distancia de la aguja LV#2.
- 4.3.3 Seleccionar la velocidad 12 rpm y observar la distancia que se produce en la oscilación entre la aguja LV#1 y la aguja LV#2.
- 4.3.4 Repetir la prueba con velocidad 30 rpm.
- 4.3.5 Sacar la aguja LV#2 y repetir los puntos anteriores con la guja LV#3.

Velocidad (rpm)	Condición de rotación	Resultado
12	LV#2 y LV#1	
12	LV#3 y LV#1	
30	LV#2 y LV#1	
30	LV#3 y LV#1	

El viscosímetro pasa la prueba si ninguna de las agujas se tocan al oscilar en las velocidades indicadas.

5. CALIFICACIÓN DE DESEMPEÑO

Cálculo previo de límites de aceptación

Los límites de aceptación al realizar la verificación de la calibración corresponden a la suma del 1% del rango de viscosidad máxima que puede leer el aparato (con una aguja y velocidad específicas) más el 1% del valor de viscosidad nominal del fluido estándar.

Registrar el nombre del fluido de viscosidad estándar disponible y su viscosidad nominal. Calcular el 1% de su viscosidad y registrar ese valor.

Fluido estándar	Viscosidad estándar (cP)	1% viscosidad estándar (cP)

Seleccionar el código de la aguja LV#4 y la velocidad de rotación 6 rpm. Presionar la tecla *AUTO RANGE* y registrar la viscosidad máxima (cP) que puede determinar el aparato en esas condiciones, mostrada en la pantalla. Calcular el 1% de la viscosidad máxima (cP) y registrar ese valor.

Aguja	Velocidad (rpm)	Máxima lectura (cP)	1% de máxima lectura (cP)
LV#			

Sumar los valores calculados (1% viscosidad estándar + 1% máxima lectura) y registrar el resultado como **límites de aceptación de exactitud**.

1% viscosidad estándar (cP)	1% de máxima lectura (cP)	Límites de aceptación (cP)
		±

Calcular el 0,2% de la máxima lectura y registrarlo como límite de aceptación de precisión.

5.1 Exactitud del viscosímetro

- Materiales:
- Estándar de viscosidad Fluido 60000 (viscosidad 57920 cP, 25 °C).
 - Aguja LV#2
 - Baño termostático
 - Termómetro digital

Procedimiento:

- 5.1.1 Colocar el fluido estándar en el baño termostático hasta que alcance $25,0 \pm 0.5$ °C.
- 5.1.2 Insertar y seleccionar el código de la aguja LV#4. Introducir cuidadosamente en el fluido estándar.
- 5.1.3 Seleccionar la velocidad 50 rpm.
- 5.1.4 Mantener encendido el viscosímetro como mínimo 1 hora en esas condiciones. Luego visualizar la lectura de viscosidad y torque y registrarla.
- 5.1.5 Detener el motor 1 minuto y encenderlo. Esperar que la aguja gire por lo menos 5 veces antes de la nueva lectura a la velocidad determinada.
- 5.1.6 Repetir el punto anterior cinco veces más y registrar los resultados.

Nº	LV#	Velocidad (rpm)	Torque (%)	Lectura (cP)	Límites de aceptación (cP)	Resultado

El viscosímetro cumple con el criterio de exactitud si todas sus lecturas se encuentran dentro de los límites de aceptación a cada velocidad.

5.2 Precisión del viscosímetro

Procedimiento:

- 5.2.1 Calcular y registrar el valor promedio de las lecturas realizadas en las condiciones de la prueba anterior.
- 5.2.2 Calcular y registrar la desviación estándar de las lecturas.
- 5.2.3 Calcular y registrar el coeficiente de variación de las lecturas.

El viscosímetro cumple con el criterio de precisión si el valor de desviación estándar se encuentra dentro del 0,2% de la máxima lectura en las condiciones de la prueba anterior.

ANEXO N° 10:
Protocolo de calificación del pHmetro digital.

1. ALCANCE

Este protocolo es aplicable al personal del laboratorio que deba realizar la operación de calificación pHmetro Orion 370.

2. CONSIDERACIONES PREVIAS A LA CALIFICACIÓN

Antes de proceder a calificar el pHmetro, se deben chequear los siguientes aspectos:

- 2.1 Revisar visualmente el electrodo en uso y verificar que no existan rayas o grietas en su superficie. Si los hubiera, reemplazar el electrodo.
- 2.2 Si la punta tuviera depósitos de sales, lavar con agua destilada hasta removerlos completamente.
- 2.3 Si existen burbujas al interior del electrodo, removerlas agitándolo vigorosamente.
- 2.4 Revisar el nivel de llenado del electrolito en el electrodo. Si el nivel de la solución está a más de 1 cm por debajo del orificio de llenado, rellenar con la solución correspondiente.

3. CALIFICACIÓN DE INSTALACIÓN

Chequear si el pHmetro cumple o no con los siguientes puntos:

El aparato se encuentra mantenido en buenas condiciones.	
Se cuenta con los accesorios necesarios para el funcionamiento normal del aparato (soporte de electrodo, regulador de temperatura), mantenidos en buenas condiciones.	
Se cuenta con los certificados y detalles de calibración y mantención del aparato y sus intervalos de calibración están claramente establecidos.	
Se cuenta con los materiales consumibles necesarios para el funcionamiento del aparato (soluciones buffer).	
Se cuenta con procedimientos estándares para el uso y la calibración del pHmetro.	
Se cuenta con solución de mantención para mantener la humedad del electrodo (pH 4).	
Se cuenta con las instalaciones y conexiones eléctricas necesarias para el correcto funcionamiento del aparato.	
Las condiciones ambientales son adecuadas para la instalación y funcionamiento del aparato.	

Se cuenta con acceso al manual de uso del pHmetro y del electrodo.	
--	--

4. CALIFICACIÓN OPERACIONAL

4.1 Funcionalidad del teclado

Chequear el funcionamiento del teclado y el acceso a todas las funciones del aparato. Realizar este chequeo con el electrodo sumergido en la solución de mantención.

Procedimiento:

- 4.1.1 Conectar el pHmetro a la fuente de poder. El pHmetro se enciende y muestra todas las leyendas por 2 segundos. Luego, el pHmetro debe entrar automáticamente en la función de medición de pH.

Resolución	
0.1	
0.01	
0.001	

- 4.1.2 Chequear el cambio en los modos de lectura del aparato, presionando la tecla *mode*. Cada vez que se presiona esta tecla, la pantalla debe desplegar las lecturas de pH y mV (pH y voltaje de la solución), rel mV (voltaje relativo) y C (concentración).

- 4.1.3 En el modo de lectura de pH, verificar el cambio de resolución de lectura presionando la tecla *res*. Cada vez que se presione esta tecla, en la pantalla deben aparecer los valores de pH con uno, dos y tres decimales (0,1 – 0,01 – 0,001).

Modo de lectura	
pH y mV	
rel mV	
C	

- 4.1.4 Verificar la función de calibración del aparato, presionando la tecla *cal*. La pantalla debe mostrar los valores de rangos de calibración disponibles: pH 7, pH 7 a 4, pH 7 a 10 y 3PT (Calibración de tres puntos), al presionar las flechas del teclado.

Rango de calibración (pH)	
7	
7 a 4	
7 a 10	
4 – 7 – 10	

El pHmetro cumple la prueba si muestra en pantalla los puntos señalados.

4.2 Chequeo de pH, pendiente y voltaje

Materiales: - Solución buffer pH 7,00
 - Agua destilada
 - Vaso de precipitado

Procedimiento:

- 4.2.1 En la pantalla se debe mostrar el valor de pH $7,00 \pm 0,02$; si el valor se encuentra fuera del rango, presionar *cal* y seleccionar la calibración de 1 punto (pH 7) para ajustar la lectura de pH. Cuando aparezca *ready* en pantalla, confirmar presionando *yes*.
- 4.2.2 En la pantalla debe mostrarse el valor de pendiente 100. Si el valor es correcto, presionar *yes*. Si el valor es diferente, ajustarlo a 100,0 con las flechas y presionar *yes*. El aparato debe volver al modo de lectura de pH, indicando pH $7,00 \pm 0,02$.
- 4.3.3 Presionar la tecla *mode* hasta entrar al modo de lectura de voltaje relativo (rel mV). La lectura en pantalla debe encontrarse en $0,0 \pm 0,2$ mV. Si la lectura está fuera del rango, presionar la tecla *cal* para ajustar la calibración. Usar las flechas para ajustar la lectura a 0,0 mV y confirmar presionando *yes*.

5. CALIFICACIÓN DE DESEMPEÑO

5.1 Exactitud del pHmetro

Materiales: - Solución buffer pH 4,01
 - Solución buffer pH 7,00
 - Solución buffer pH 10,01
 - Agua destilada

Procedimiento:

- 5.1.1 Lavar el electrodo con agua destilada, secarlo e introducirlo en la solución buffer de pH 4,01.
- 5.1.2 Agitar el electrodo suavemente en la solución a temperatura ambiente, medir la temperatura de la solución.
- 5.1.3 Esperar a que se establezca la lectura y registrar el pH que se indica en la pantalla. Realizar 7 determinaciones.

5.1.4 Repetir los puntos anteriores, utilizando una solución buffer de pH 7,00 y 10,01.

Nº	pH buffer	Lectura pH	Rango tolerado	Resultado
1	4,01		4,005 – 4,015	
2	4,01		4,005 – 4,015	
3	4,01		4,005 – 4,015	
4	4,01		4,005 – 4,015	
5	4,01		4,005 – 4,015	
6	4,01		4,005 – 4,015	
7	4,01		4,005 – 4,015	

Nº	pH buffer	Lectura pH	Rango tolerado	Resultado
1	7,00		6,995 – 7,005	
2	7,00		6,995 – 7,005	
3	7,00		6,995 – 7,005	
4	7,00		6,995 – 7,005	
5	7,00		6,995 – 7,005	
6	7,00		6,995 – 7,005	
7	7,00		6,995 – 7,005	

Nº	pH buffer	Lectura pH	Rango tolerado	Resultado
1	10.01		10.005 –10.015	
2	10.01		10.005 –10.015	
3	10.01		10.005 –10.015	
4	10.01		10.005 –10.015	
5	10.01		10.005 –10.015	
6	10.01		10.005 –10.015	
7	10.01		10.005 –10.015	

El aparato cumple con el criterio de exactitud si todas las mediciones se encuentran dentro del rango tolerado.(0,05 unidades de pH)

ANEXO N° 11:

Protocolo de análisis de solventes orgánicos volátiles diseñado.

PREPARACIÓN DE SOLUCIÓN ESTÁNDAR

Para este procedimiento, utilizar mascarilla de protección para solventes y guantes.

Tomar con micropipeta 1000 µL de 1,1-dicloroetileno, 1,2-dicloroetileno, ciclohexano, benceno, metilbutilcetona y clorobenceno, transferir y pesar a un matraz volumétrico de 100 mL de capacidad con agua y previamente tarado, en balanza analítica. Tapar y agitar vigorosamente por 1 minuto. Tomar 1,0 mL y transferir a un matraz de 100 mL de capacidad, recibiendo la alícuota en agua.

PREPARACIÓN DE VIALES ESTÁNDAR

Tomar 1,0 mL de la solución estándar y agregar a un vial de 10 mL de capacidad que contenga 5 mL de agua. Tapar con tapa de goma y sellar con casquete de aluminio. Realizar X repeticiones.

PREPARACIÓN DE VIALES MUESTRA

Preparación de muestras solubles en agua

Pesar con exactitud alrededor de 250 mg de muestra y transferir a un matraz volumétrico de 25 mL. Disolver y diluir con agua, llevar a volumen final y agitar. Transferir 5.0 mL a un vial apropiado para headspace y agregar 1.0 mL de agua. Cerrar, ajustar la tapa y agitar.

Preparación de muestras insolubles en agua, solubles en dimetilformamida.

Pesar con exactitud alrededor de 250 mg de muestra y transferir a un matraz volumétrico de 25 mL. Disolver y diluir con dimetilformamida, llevar a volumen final y agitar. Transferir 5.0 mL de Muestra stock a un vial apropiado para headspace. Agregar 1.0 mL de dimetilformamida. Cerrar, ajustar la tapa y agitar.

Preparación de muestras insolubles en agua, solubles en 1,3-dimetil-2-imidazolidinona.

Pesar con exactitud alrededor de 250 mg de muestra y transferir a un matraz volumétrico de 25 mL. Disolver y diluir con 1,3-dimetil-2-imidazolidinona. Llevar a volumen final y agitar. Transferir 5.0 mL de esta solución a un vial apropiado para headspace. Agregar 1.0 mL de 1,3-dimetil-2-imidazolidinona. Cerrar, ajustar la tapa y agitar.

SISTEMA CROMATOGRÁFICO

Equipo: Cromatógrafo de gases Shimadzu CG-14B

Detector: Ionización por llama (FID).

Columna: OVI G43. (Columna capilar de sílice fundida de 0.32 mm x 30 m)
Fase estacionaria: 1.8 µm de fase G-43 (fase aglomerada de 6% policianopropilfenil / 94% polidimetilsiloxano)
Gas carrier: N₂
Presión carrier: 100kPa
Flujo split: 25 mL/min.
Temperatura inyector: 140° C.
Temperatura detector: 250 °C.
Temperatura columna: 35 °C x 0 minutos, luego a 10 °C / min hasta 100 °C, 100 °C x 1 min.

CONDICIONES DE INYECCIÓN

Sumergir los viales en un baño termostático cuando éste alcance los 80°C, controlando la temperatura con un termómetro. Dejar 30 minutos hasta que se alcance el equilibrio de los vapores y, una vez finalizado el tiempo, tomar 1,0 mL de la fase vapor del vial con una jeringa para gases previamente calentada e inyectar inmediatamente en el cromatógrafo de gases.

PRUEBA DE AJUSTE DEL SISTEMA

Los resultados que se obtendrán deben cumplir con los siguientes requisitos:

- Calcular el promedio y coeficiente de variación de las áreas de los picos del estándar inyectado en triplicado.
- Calcular la resolución entre cada pico en las inyecciones del estándar.

CUANTIFICACIÓN DE LAS SEÑALES

Para proceder a cuantificar las señales deben cumplirse las condiciones descritas en Prueba de Ajuste del Sistema. Una vez cumplido este punto inyectar 1,0 mL de la fase vapor del vial que contiene la muestra por triplicado. Registrar los cromatogramas y medir las áreas de los picos correspondientes a los solventes contenidos en el estándar. Calcular la cantidad, en ppm, de cada solvente residual encontrado en la muestra, utilizando la siguiente fórmula:

$$4 \times \frac{\text{Concentración de la solución estándar (ppm)}}{\text{Peso de muestra (g)}} \times \frac{\text{Área del peak en la muestra}}{\text{Área del peak estándar}}$$

