



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

## CALIFICACIÓN DE INSTALACIÓN Y OPERACIÓN DE UN ESPECTROFOTÓMETRO UV-VIS.

TRABAJO ESCRITO VÍA CURSO DE EDUCACIÓN CONTINUA  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

PRESENTA  
**MIGUEL ÁNGEL LÓPEZ ROSAS**



MÉXICO, D. F.



2005

EXAMENES PROFESIONALES  
FACULTAD DE QUÍMICA

m. 343359



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

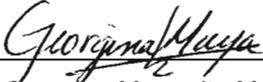
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## JURADO ASIGNADO

Presidente: Prof. Georgina Margarita Maya Ruíz  
Vocal: Prof. María Del Socorro Alpizar Ramos  
Secretario: Prof. Efren Hernández Baltazar  
1<sup>er</sup> suplente: Prof. Raúl Lugo Villegas  
2<sup>do</sup> suplente: Prof. Zoila Nieto Villalobos

Sitio donde se desarrolló el tema: Departamento de Farmacia, Facultad de Química, U.N.A.M.

Asesor del tema:

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Georgina Margarita Maya Ruiz

Sustentante:

  
\_\_\_\_\_  
Miguel Ángel López Rosas

## ÍNDICE

Índice.....	1
1. Planteamiento del problema.....	4
2. Objetivos.....	4
3. Introducción.....	5
4. Antecedentes.....	5
4.1 Los métodos espectroscópicos.....	5
4.2 Ley de Beer.....	8
4.3 Pruebas para la calificación de instalación y operación.....	9
4.4 Generalidades.....	10
4.5 Definiciones.....	12
4.6 Calificación de instalación.....	13
4.7 Calificación de operación.....	15
4.8 Criterios de aceptación.....	16
4.9 Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.....	17
4.10 Farmacopea de los Estados Unidos de Norteamérica.....	19
4.11 Farmacopeas Británica y Europea.....	20
5 Desarrollo de la calificación de instalación de un espectrofotómetro UV-VIS.....	22
5.1 Aprobación y aceptación del protocolo de calificación de instalación por parte del cliente.....	23
5.2 Datos y descripción del equipo.....	24
5.3 Alcance.....	27

5.4	Conceptos.....	28
5.5	Información general del equipo.....	30
5.6	Verificación de servicios eléctricos.....	31
5.7	Lista de instrumentos de medición.....	32
5.8	Documentación de la operación del equipo.....	32
5.9	Programa de mantenimiento preventivo/correctivo.....	33
5.10	Sistemas de control.....	34
5.11	Control de cambios.....	35
5.12	Desviaciones / acciones correctivas en calificación de instalación.....	36
5.13	Certificación del sistema de calificación de instalación.....	37
5.14	Conclusión para la calificación de instalación.....	38
6	Desarrollo de la calificación de operación de un espectrofotómetro UV-VIS.....	39
6.1	Aprobación y aceptación del protocolo para la calificación de operación por parte del cliente.....	40
6.2	Materiales y soluciones empleados para las pruebas.....	41
6.3	Criterios de aceptación de las pruebas de calificación operacional.....	41
6.4	Procedimiento.....	43
6.5	Ejecución.....	43
6.6	Exactitud de la longitud de onda.....	44
6.7	Reproducibilidad de la longitud de onda.....	45
6.8	Linealidad fotométrica.....	46

6.9	Resolución usando filtro de Holmio.....	47
6.10	Línea $I_0$ .....	47
6.11	Reproducibilidad fotométrica.....	47
6.12	Desviación de la luz.....	48
6.13	Exactitud fotométrica.....	49
6.14	Desviaciones calificación (OQ).....	49
6.15	Certificación del sistema de calificación de operación (OQ).....	51
6.16	Conclusión para la calificación de operación.....	52
7	Conclusiones generales.....	53
8	Bibliografía.....	54

## **1. Planteamiento del problema**

Todo equipo que se emplee en los laboratorios de control analítico requiere condiciones especiales de instalación y de verificación de desempeño para lo cual se determinan los requerimientos y criterios de aceptación para la calificación de instalación y operación (IQ, Instalation Qualification / OQ, Operation Qualification).

## **2. Objetivos**

### **General:**

Establecer las condiciones para la calificación de instalación y operación de un espectrofotómetro UV-VIS.

### **Específicos:**

- Desarrollar un procedimiento de calificación de instalación para un espectrofotómetro UV-VIS que contenga los criterios concernientes a ubicación del equipo, recomendaciones del fabricante y características de los suministros eléctricos.
- Desarrollar un procedimiento de calificación de operación de un espectrofotómetro UV-VIS, que contenga materiales de prueba, límites de aceptación y que contemple las acciones a seguir en caso de fallos

### **3. Introducción**

Dentro del marco de referencia de las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL's) es de gran importancia contar con equipos analíticos que proporcionen la suficiente confianza en las mediciones que realizan.

La calificación de instalación y operación de equipos surgen como medida para garantizar el funcionamiento correcto de todos los instrumentos que se emplean en los laboratorios analíticos: cromatógrafos de líquidos, equipos de disolución, espectrofotómetros UV-VIS, cámaras de estabilidad, estufas, espectrofotómetros IR, cromatógrafos de gases, balanzas analíticas; entre otros.

La calificación de instalación y de operación nos provee medidas básicas para tener instrumentos certificados, y con ello la seguridad acerca de la veracidad de los resultados obtenidos.

### **4. Antecedentes**

#### **4.1 Los métodos espectroscópicos.**

Los métodos espectroscópicos de análisis se basan en la medición de la radiación electromagnética emitida o absorbida por los analitos. Los métodos de emisión utilizan la radiación emitida cuando un analito es excitado por energía térmica, eléctrica o energía radiante; mientras que los métodos de absorción se basan en la disminución de la potencia (o atenuación) de un haz de radiación electromagnética como consecuencia de su interacción con el analito.

Los métodos espectroscópicos también se clasifican de acuerdo con la región del espectro electromagnético que se utiliza. Estas regiones incluyen los rayos X, ultravioleta, visible, infrarrojo, microondas y radiofrecuencias. Históricamente, los

primeros métodos espectroscópicos se reducían al uso de la radiación visible; por esta razón se denominaron *métodos ópticos*. Sin embargo, esta terminología se ha ampliado a los métodos que utilizan la radiación ultravioleta e infrarroja a pesar de que el ojo humano no percibe ninguno de estos tipos de radiación.

La radiación electromagnética se puede presentar adecuadamente como un campo eléctrico que experimenta oscilaciones sinusoidales en el espacio. La figura 1 es una representación bidimensional de un haz de radiación monocromática (es decir, de una sola longitud de onda). El campo eléctrico se presenta como un vector cuya longitud es proporcional a la fuerza del campo. La *amplitud*  $A$  de la onda sinusoidal se define como la longitud del vector eléctrico en el máximo de la onda. El tiempo necesario para el paso de sucesivos máximos o mínimos por un punto fijo del espacio se denomina el *período*  $p$  de la radiación. La *frecuencia*  $\nu$  es el número de oscilaciones del campo por segundo y es igual a  $1/p$ .

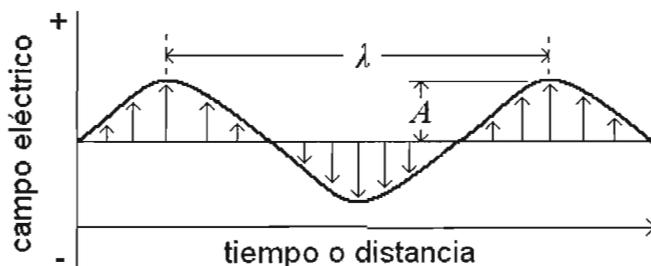


Figura 1

La *frecuencia* está determinada por la fuente de la radiación, y permanece constante independientemente del medio que atraviesa. Por el contrario, la *velocidad*  $v_i$  a la que un frente de onda se desplaza a través de un medio, depende tanto de la composición del medio, como de la *frecuencia*; el subíndice  $i$  indica esta dependencia con la *frecuencia*. Otro parámetro importante es la *longitud de*

onda  $\lambda_i$ , que es la distancia lineal entre dos puntos sucesivos máximos o mínimos de una onda. El producto de la frecuencia en ciclos por segundo y la longitud de onda en centímetros es la velocidad de propagación  $\lambda_i$  en centímetros sobre segundo:

$$v_i = \nu \lambda_i$$

La figura 2 ilustra la atenuación de un haz de radiación monocromática, al atravesar una capa de solución con un grosor  $b$  en cm y una concentración  $c$  de una especie absorbente. A causa de la interacción de los fotones y las partículas absorbentes, la potencia del haz disminuye de  $P_0$  hasta  $P$ .

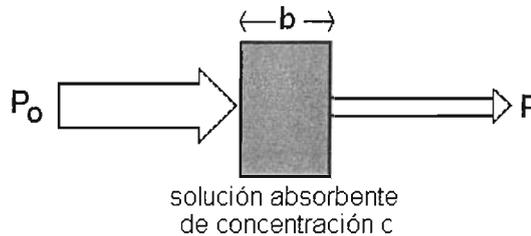


Figura 2

La transmitancia  $T$  de la solución se define como la fracción de radiación incidente transmitida por la solución:

$$T = P/P_0$$

Es común que la transmitancia se exprese como un porcentaje.

La absorbancia de una solución se define por la ecuación:

$$A = -\log_{10} T = \text{Log} (P_0/P)$$

Obsérvese que la absorbancia de una solución aumenta conforme disminuye la transmitancia.

## 4.2 Ley de Beer.

De acuerdo con la ley de Beer, la absorbancia esta relacionada linealmente con la concentración de la especie absorbente ( $c$ ) y con la longitud de la trayectoria ( $b$ ) de la radiación en el medio absorbente. Es decir:

$$A = \text{Log} (P_0/P) = abc$$

En donde  $a$  es la constante de proporcionalidad denominada *absortividad*. Puesto que la absorbancia es una cantidad adimensional, la *absortividad* debe tener unidades que cancelen a las de  $b$  y  $c$ . cuando la concentración  $c$  en la ecuación anterior se expresa en moles por litro, y  $b$  en centímetros, se denomina *absortividad molar*  $\epsilon$ . Por lo tanto:

$$A = \epsilon bc$$

La ley de Beer es también aplicable a mezclas, basta con obtener la absortividad correspondiente a cada analito presente en la mezcla.

La ley de Beer solo describe adecuadamente el comportamiento de la absorción en soluciones diluidas. En este sentido, se le denomina una *ley límite*. A concentraciones elevadas (por lo general mayor a 0.01 M), la distancia promedio entre los iones o las moléculas de las especies que absorben disminuye hasta el punto en que cada partícula afecta a la distribución de carga de sus vecinas. Esta interacción puede alterar la capacidad de las especies para absorber a una determinada longitud de onda de radiación. Como el grado de interacción depende de la concentración, cuando se presenta este fenómeno se observan desviaciones de la relación lineal entre la absorbancia y la concentración.

También se producen desviaciones de la ley de Beer cuando un analito se disocia, asocia o reacciona con un disolvente, formando productos con características absorbentes distintas a las del analito de partida.

La ley de Beer también es una ley límite en el sentido de que solo se aplica a las mediciones de absorbancia con radiación monocromática, por lo que se emplea una fuente continua policromática junto con una rendija o un filtro para aislar una banda de longitudes de onda que sea más o menos simétrica en torno a la longitud de onda que se requiere.

La radiación que se emplea en las mediciones de absorbancia normalmente está contaminada con pequeñas cantidades de radiación parásita debido a imperfecciones de los instrumentos. La radiación parásita es el resultado de la dispersión y de la reflexión de las superficies de las rendijas, filtros y ventanas.

#### **4.3 Pruebas para la calificación de instalación y operación**

Es necesario verificar que el espectrofotómetro UV-VIS se instale bajo las condiciones y requerimientos que establece el fabricante y/o proveedor del equipo antes de realizar la calificación de operación de desempeño.

El fundamento de la espectrofotometría es la interacción de la radiación electromagnética con la materia; todos los materiales son capaces de absorber energía, el tipo y cantidad de radiación absorbida por una molécula guarda relación con su estructura y con el número de moléculas presentes.

En el presente trabajo se hace mención de las diferentes pruebas que aplican al espectrofotómetro tanto en su instalación como para la operación:

- Requerimientos eléctricos (voltaje, frecuencia, demanda).
- Especificaciones del fabricante (rangos de humedad, temperatura y ubicación).
- Exactitud de la longitud de onda.
- Reproducibilidad de longitud de onda.
- Linealidad fotométrica.
- Resolución usando filtro de holmio.
- Línea  $I_{\circ}$ .
- Reproducibilidad fotométrica.
- Desviación de luz.
- Exactitud fotométrica.

#### **4.4 Generalidades**

Estudios sobre la calificación de instalación establecen la confianza de que los equipos empleados para procesos, control de calidad y sistemas auxiliares son capaces de operar dentro de los límites y tolerancias establecidos. Después de que un equipo es designado o seleccionado, debe ser evaluado y probado para demostrar que es capaz de operar dentro de los límites de operación requeridos por el sistema analítico o de proceso.

Esta fase de la evaluación debe incluir la examinación del equipo seleccionado, determinación de los periodos de calibración, mantenimiento y modificaciones justificables de los requerimientos ya establecidos, identificación de características críticas del equipo que puedan afectar resultados al proceso, sistema analítico o producto. La información obtenida de estos estudios debe ser utilizada para

establecer procedimientos escritos que describan las frecuencias de calibración, mantenimientos y monitoreos a los equipos.

Es importante que en la calificación de los equipos se simulen las condiciones de trabajo rutinarios incluyendo las peores situaciones. Las pruebas de retos que se realicen al equipo se efectúan para asegurar que los resultados son confiables y significativos.

Los criterios de aceptación deben ser conocidos para las pruebas de reto. Si cualquiera de estas pruebas o retos que se realicen muestran que el equipo no se encuentra dentro de especificaciones, se debe realizar una evaluación para identificar la causa de la falla.

Se deben hacer correcciones y realizar corridas de prueba adicional, tanto como sea necesario para verificar que el equipo opera dentro de especificaciones. La variabilidad observada por el equipo para las corridas puede ser empleado como base para determinar el número total de pruebas seleccionadas para subsecuentes estudios de la calificación operacional de los equipos.

Una vez que la configuración del equipo y características de desempeño son establecidas y calificadas, deben ser documentadas. La calificación de instalación (IQ) debe incluir una revisión de procedimientos de mantenimiento pertinentes , lista de partes de refacciones y métodos de calibración para el equipo. El objetivo es asegurar que todas las reparaciones deben realizarse de tal manera que no vayan afectar las características del material procesado después de su reparación. Cuando un equipo es trasladado a un nuevo lugar, la instalación debe ser recalificada. Por comparación de los datos de la calificación de la instalación

original del equipo con la recalificación, el fabricante puede determinar si ha habido algún cambio en el funcionamiento del equipo como resultado del traslado del mismo.

Los cambios en el funcionamiento del equipo pueden ser evaluados para determinar si es necesario revalidar el proceso.

#### **4.5 Definiciones**

**IQ** (Installation Qualification) calificación de instalación.- es el proceso por el cual se establece a través de verificación y documentación que el equipo es instalado de acuerdo a especificaciones considerando la verificación de documentación, tal como procedimientos estándar de operación, dibujos, lista de partes de reparación, métodos de calibración, etc.. Esto es requerido para cualquier equipo empleado en control de calidad y líneas de producción.

**OQ** (Operation Qualification) calificación de operación.- establece si el equipo es capaz de operar dentro de los límites y tolerancias establecidas. Esta demostración del desempeño básico involucra aspectos del equipo que rutinariamente se usarán en el análisis.

#### **4.6 Calificación de instalación:**

Se debe escribir un protocolo que contenga: descripción del equipo y de su operación: proveer información del equipo tal como nombre, componentes y fabricante, descripción de cómo opera el equipo y requerimientos en particular.

En los equipos ya instalados con anterioridad y en los nuevos deberá ser verificada la instalación, corroborar las especificaciones usando la forma de colección de datos descrita más adelante, documentando que los componentes del equipo están conforme a las especificaciones de diseño.

Documentar todas las revisiones, inspecciones y verificaciones de las calificaciones en el tiempo en que se realizan.

Información que deben contener los reportes de calificación de instalación:  
Información general del equipo.- nombre, marca, número de serie, modelo, año de compra y lugar de localización.

- Planos del equipo: registrar los dibujos de tuberías e instalación intentando reflejar el equipo como se construyó (si aplica).
- Lista de equipos y accesorios auxiliares: completar un listado de equipos y accesorios verificando que cada pieza ha sido instalada como se especifica en el manual del equipo. Indicar nombre de la pieza, número de identificación modelo/marca, su función, especificación; inspeccionado por, fecha de cumplimiento.
- Lista de motores: registrar todos los motores existentes del equipo con los siguientes datos: número de identificación, función, marca, modelo/serie, ciclos, potencia, volts, amperes y rpm (si aplica).
- Verificación de servicios eléctricos: verificar que existan en los lugares indicados por el fabricante los dispositivos de protección para los circuitos y que el tamaño sea de acuerdo con la recomendación del fabricante, todos los

dispositivos de protección de circuitos deberán checarsse antes de la evaluación del equipo.

- Completar un listado de todos los servicios requeridos (no eléctricos). Verifique que estos se encuentren disponibles y conforme a especificaciones. Inspeccionar las conexiones de los sistemas de distribución, incluyendo cualquier documentación para soportar los resultados y métodos de verificación.
- Listado de filtros: verificar que los objetos han sido instalados como se especifica en los manuales. Indicar tipo de filtro, modelo, marca, descripción, función, inspeccionado por, fecha y cumplimiento.
- Identificar los materiales de construcción de los componentes de superficie que estén en contacto con el producto. Verificar que estos cumplen con las especificaciones y no tienen efectos adversos con el producto.
- Completar un listado de lubricantes usados en el equipo y verificar que cumplen con las especificaciones del fabricante.
- Lista de instrumentos de medición: indicar para cada instrumento número de identificación, marca, modelo, serie, rango, exactitud, frecuencia de calibración y función.
- Documentación de la operación del equipo: registrar los números de los procedimientos estándar de operación, limpieza, mantenimiento, bitácoras del equipo y entrenamiento del personal.
- Programa de mantenimiento preventivo: el fabricante del equipo o proveedor de servicio asignado debe realizar los mantenimientos preventivos de acuerdo

a un programa definido y llevar al cabo el cambio de piezas que necesiten reemplazarse.

- **Sistemas de control:** identificar y documentar los paneles de control y confirmar que estos son instalados de acuerdo al diseño y especificaciones del fabricante.
- **Pruebas de reto** se deben realizar y documentar para verificar que el equipo cumple con los criterios establecidos, debe incluir las siguientes pruebas: funcionamiento de los interruptores de control, de los sensores del equipo, dispositivos de seguridad y alarmas (si aplica). El objetivo es que el equipo realice la función esperada

### **Calificación y aprobación**

Verificar que todas las pruebas requeridas por el protocolo se han completado. Verificar que todas las correcciones y desviaciones sean documentadas y el reporte sea aprobado con toda la documentación de soporte. Si todos los documentos del equipo para la calificación de instalación han sido revisados y fueron aceptables; aprobar el reporte.

### **4.7 Calificación de operación**

La calificación de operación debe realizarse después de la calificación de instalación.

- La calificación de operación debe enlistar de forma clara todos los parámetros de operación críticos y su prueba de funcionalidad correspondiente.

- Una operación crítica es aquella que tiene un impacto significativo en la habilidad del equipo para operar y cumplir satisfactoriamente con las especificaciones analíticas ó de proceso y es retada a través del uso de pruebas de funcionalidad apropiadas.
- Todos los instrumentos de prueba utilizados en la calificación deben estar calibrados; el empleo de patrones de referencia deben tener su correspondiente certificado de trazabilidad emitido por un organismo autorizado. La documentación de soporte de estas calibraciones y/o certificados de trazabilidad deben incluirse en el reporte.

#### **4.8 Criterios de aceptación.**

Los equipos deben de cumplir con todas las pruebas de reto realizadas al sistema en estudio, sobre el rango de operación definido por la especificación. Debe revisarse la información y emitir un reporte donde se aclare que los resultados son aceptables.

Sí alguna prueba de reto operacional se encuentra fuera de especificación se deberá realizar una investigación, tomar acciones correctivas (sí aplica), repetir la prueba de reto y preparar un resumen de estos eventos que se incluirá en el reporte final.

#### **4.9 Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos**

En la Farmacopea Mexicana se hace referencia en primer lugar a las definiciones de las zonas del espectro electromagnético consideradas como UV y visible, la

absorbancia, la transmitancia, la absortividad, la absortividad molar y al espectro de absorción.

Respecto a los aparatos usados da una definición básica del equipo y solo menciona textualmente: "El aparato debe mantenerse en buenas condiciones de funcionamiento, el sistema óptico ha de estar alojado de manera que se reduzcan al mínimo las posibilidades de errores causados por luz extraña o parásita."

Para la calibración del espectrofotómetro menciona los valores exactos de la posición de las rayas de la lámpara de arco de mercurio en 253.7, 302.25, 313.16, 334.15, 365.48, 404.66 y 435.83 nm; la superioridad del vidrio de holmio sobre el vidrio de didimio, reportando los valores de los máximos característicos del vidrio de holmio en:  $241.5 \pm 1$  nm,  $287.5 \pm 1$  nm,  $360.9 \pm 1$  nm y  $536.2 \pm 1$  nm.

Expone que el rendimiento de un filtro no certificado debe comprobarse comparándolo con uno que haya sido debidamente certificado.

La fórmula para la preparación de una solución patrón con la misma finalidad es: 60.06 mg de dicromato de potasio en 1000 mL de una solución 0.005M de ácido sulfúrico; los valores característicos de dicha solución se reproducen en la siguiente tabla:

Longitud de onda	235 nm (mínimo)	257 nm (máximo)	313 nm (mínimo)	350 nm (máximo)
A	0.748	0.865	0.292	0.640
Tolerancia aceptada	0.740-0.756	0.856-0.874	0.289-0.295	0.634-0.646
$E^{1\%}_{1\text{cm}}$	124.54	144.02	48.62	106.56

Para la utilización de los espectrofotómetros dice: "Para conseguir resultados significativos y válidos, el operador de un espectrofotómetro debe conocer bien los límites de su empleo y las posibles causas de error y variación. Conviene atenerse escrupulosamente al manual de instrucciones en algunos puntos, como la conservación, la limpieza, la calibración del instrumento y el modo de usarlo."

Respecto de los disolventes a usar en la zona del ultravioleta expone que no deben ser fuente de interferencia hasta donde sea posible, y en conjunto, la absorbancia del disolvente y la celda no debe ser mayor a 0.4 por cm del espesor atravesado por la energía luminosa cuando se mide con referencia al aire a la misma longitud de onda.

Para las pruebas de identificación en la región ultravioleta se remite a las monografías particulares según el caso a tratar, pero apunta las siguientes condiciones para las mediciones: establecimiento de una longitud de onda, ajuste de la abertura de la rendija, ubicación de la celda, niveles de corrección y transmitancia.

Para las determinaciones cuantitativas en la zona ultravioleta es enfática en apegarse a cada monografía como referencia, pero recomienda emplear la longitud de onda máxima observada realmente en el instrumento que se maneje, por sobre la de la monografía, siempre que la diferencia entre una y otra no pase de  $\pm 0.5$  nm en el intervalo de 240-280 nm, de  $\pm 1$  nm en el intervalo de 280-320 nm o de  $\pm 2$  nm arriba de los 320 nm. de lo contrario, el instrumento deberá ser recalibrado.

Establece que cuando se trabaje en la zona entre 190-210 nm se deben tener precauciones especiales, como purgar con nitrógeno las celdas, usar disolventes

de calidad espectrofotométrica y usar celdas transparentes en esa región. Y cuando se mida la absorbancia en un máximo de absorción, la anchura de la rendija espectral debe ser pequeña en comparación con la mitad de la anchura de la banda de absorción, pues de lo contrario se medirá una absorbancia erróneamente baja.

Para la región visible solo expone que las longitudes de onda observadas no deben diferir en más de 5 nm de las especificadas en las respectivas monografías.

#### **4.10 Farmacopea de los Estados Unidos de Norteamérica**

En esta Farmacopea se marca la superioridad del uso de la absorción del infrarrojo en las pruebas de identificación por sobre la absorción de las zonas ultravioleta y visible.

Define diversas técnicas espectroscópicas, expone ejemplos comparativos de diversas técnicas para ciertos casos de estudio, sintetiza la ley de Beer y da las definiciones de términos como UV y visible, la absorbancia, la transmitancia, la absorptividad, la absorptividad molar y al espectro de absorción.

Marca pautas mínimas de funcionamiento de los aparatos usados. Mientras que respecto a los procedimientos, tiene las mismas referencias para las instrucciones, cuidados por parte del operador, uso de estándares de referencia y celdas que la Farmacopea Mexicana; solo difiere en que para las determinaciones cuantitativas en la zona ultravioleta hay que apegarse a cada monografía, pero recomienda que la longitud de onda máxima observada realmente en el instrumento que se maneje, comparada con la monográfica, sea solo de  $\pm 1$  nm.

Esta farmacopea indica que se debe hacer uso en todo caso de material de calibración certificado, y abrevia especificaciones de SRM's provenientes del NIST, para evaluar las soluciones que elijamos como referencia trazable.

#### **4.11 Farmacopea Británica**

Después de las definiciones obligatorias, la Farmacopea Británica dice que la absorbancia de la celda y de su contenido no debe exceder 0.4 y ser preferiblemente menor a 0.2. Define brevemente el espectrofotómetro, pero hace hincapié en el control de los factores clave en las determinaciones, como son: uso de una solución de perclorato de holmio o una solución de dicromato de potasio preparada con 57 a 63 mg de dicromato de potasio en 1000 mL de ácido sulfúrico 0.005 M, y marca las máximos de absorción de dichas soluciones.

Marca límites de resolución y ancho de banda del equipo idénticos a los de la farmacopea Mexicana, y de las celdas también marca una tolerancia máxima de absorción de  $\pm 0.005$ .

Hace referencia al cuidado de realizar cualquier operación cuantitativa observando las limitaciones que la ley de Beer presenta para cualquier monografía diferente a las encontradas en la Farmacopea Británica.

#### **Farmacopea Europea.**

La Farmacopea Europea para la espectroscopia UV-VIS, al igual que la Farmacopea Mexicana y la Británica señala que el conjunto celda y solvente no debe tener una absorbancia mayor a 0.4 por centímetro y es preferible que no sea

mayor a 0.2 por centímetro comparadas con el aire; pero a diferencia de estas, no menciona que de no tener este dato como mínimo de operación se deberá recalibrar el equipo. Para la variación de longitud de onda del máximo de absorción da el dato máximo de desviación de  $\pm 2$  nm permitido.

El control de la longitud de onda lo marca con una solución de perclorato de holmio, mientras que para la absorbancia usa una solución de 57 a 63 mg de  $K_2Cr_2O_7$  en 1000 mL de  $H_2SO_4$  0.005 M. La tolerancia será de  $\pm 0.01$ .

Para las celdas la desviación máxima de longitud de onda será de  $\pm 0.005$ .

Del procedimiento solo indica que hay que seguir las especificaciones del fabricante respecto a operación y mantenimiento.

**5 Desarrollo de la calificación de instalación del espectrofotómetro UV-VIS**

## 5.1 Aprobación y aceptación del protocolo para la calificación de instalación por parte del cliente

El laboratorio: XXX (nombre de razón social), planta: XXX (ubicación), departamento: XXX (sección), acepta que éste procedimiento: calificación de instalación de equipos (IQ) aplica al sistema de espectrofotometría UV-VIS, modelo: XXX (serie y número de modelo), y que lo constituyen las siguientes partes:

- Lámpara de hidrógeno (o deuterio) para región UV: 190-375 nm.
- Lámpara de tungsteno de 6 o 12 V. para región visible: 376-900 nm.
- Monocromador: compuesto por un prisma o grilla
- Compartimiento de la muestra: sección donde la energía monocromática se encuentra con la muestra.
- Detector: tubo fotomultiplicador

Las páginas siguientes fueron elaboradas aplicando el uso de manuales, criterios de calibración y procedimientos estándares de operación (SOP's) propios del equipo, las cuales requieren revisión de cada página que involucre un resultado; La aceptación del presente documento es considerado completo cuando cada una de las páginas que requieren revisión y firma de aceptación cumplen con los criterios establecidos en el protocolo.

\_\_\_\_\_  
Gerencia de QC/QA

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Supervisor laboratorio QC

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Fecha

**Aprobación y aceptación del protocolo por parte del vendedor del equipo, o alguno de sus representantes de servicio.**

El proveedor del equipo: XXX (nombre), o alguno de sus representantes, aceptan que éste procedimiento de instalación de equipos (IQ), fabricado y ensamblado por: XXX (nombre del fabricante) es apropiado para el equipo: espectrofotómetro UV-Vis en cada una de sus partes y refleja las especificaciones actuales de los requerimientos de instalación para sistemas de espectrofotometría UV-VIS necesarios tanto por el usuario, como por el proveedor del equipo.

\_\_\_\_\_  
Ingeniero de servicio

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Fecha

**Datos del cliente:**

El cliente especifica que es dueño del equipo y representa a la siguiente compañía:

\_\_\_\_\_  
Nombre de la compañía

\_\_\_\_\_  
Ubicación

\_\_\_\_\_  
Sección

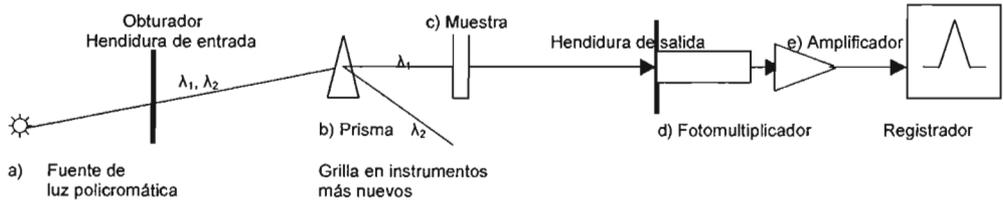
**5.2 Datos y descripción del equipo**

Este procedimiento (IQ) está desarrollado para el siguiente equipo y todos los detalles de sus componentes se enlistan en el diagrama siguiente:

Espectrofotómetro UV-VIS  
Identificación del equipo

\_\_\_\_\_  
Departamento

## Descripción del equipo



a) Fuente de radiación: la fuente de UV por lo común es una lámpara de descargalumínica de hidrógeno (o deuterio) a alta presión, que cubre un espectro de 195 a 375 nm. un arco de xenón o una lámpara de vapor de mercurio que proporcionan una radiación más intensa. La fuente empleada para el espectro visible es una lámpara de tungsteno de 6 o 12 V.

b) Monocromador: su función es la dispersión de la energía policromática por medio de un prisma o grilla. El rayo monocromático buscado, cuya longitud de onda está determinado por la posición angular del prisma o grilla, se dirige hacia el compartimiento de la muestra.

c) Compartimiento de la muestra: es la sección donde la energía monocromática se encuentra con la muestra. En un equipo con doble haz, este compartimiento contiene un dispositivo que corta el haz o un montaje que lo modifica y permite que pase alternativamente a través de la muestra y la referencia. Esto permite que la relación muestra-referencia no sea modificada por cambios leves de la fuente o la óptica del instrumental.

d) Detector: es por lo común un tubo fotomultiplicador, el cátodo consiste en una superficie recubierta con una capa sensible a la luz: cuando la energía choca contra la capa, emite electrones. Una serie de electrodos denominados dínodos que también están recubiertos por una capa sensible a la energía, están conectados por una red de resistores divisores de voltaje. Los electrones son atraídos desde el cátodo hacia el dínodo, de modo que cuando choca provoca una avalancha de aproximadamente  $10^6$  electrones. La acumulación de electrones en el ánodo crea unos pocos miliamperes de corriente que pueden medirse como voltaje a través de un resistor.

Los detectores por disposición de diodos proporciona un análisis de espectro rápido, exacto y una mayor resolución de longitud de onda. La adaptación de la precisión del tamaño de las hendiduras a cada fotodiodo y el enfoque del espectro en un plano pueden incrementar el poder de resolución de longitud de onda de 1 a 2 nm.

e) Convertidor analógico-digital: la salida del detector es amplificada en un registrador o un tubo de rayos catódicos; los espectrómetros que registran en forma automática y continua son puestos en interfase con una computadora.

### **5.3 Alcance.**

Este procedimiento aplica a la calificación de instalación (IQ) del sistema analítico descrito en datos del equipo; el presente estará definido por los métodos y documentación que están siendo usados para evaluar la instalación del sistema.

Para que se lleve a cabo satisfactoriamente este procedimiento tendrá que verificarse que las funciones descritas en los manuales estén acordes con las especificaciones de fábrica, que fue instalado correctamente y que es capaz de reiniciar normalmente. La calificación de instalación es un requerimiento para indicar que el equipo en estudio está de acuerdo con los límites de aceptación publicados por el fabricante; solo efectuando la calificación de operacional del equipo (OQ), y que también sea satisfactorio, puede asegurarse el éxito de este protocolo.

#### **Condiciones excepcionales**

Cualquier condición excepcional encontrada durante la ejecución de este procedimiento debe ser documentada al momento que ocurre y revisada por el fabricante del equipo o alguna de sus filiales. Estas condiciones excepcionales deben ser investigadas y tomar medidas de acción apropiadas para corregir las anomalías reportadas. Cuando el sistema o parte de él sea transferido a otra área/planta será necesario otra recalificación. Esto mismo aplicará cuando algún componente o parte crítica del equipo sea removido o sustituido por otra pieza equivalente y/o actualización de su software.

## 5.4 Conceptos

*Instructor* – Un representante del fabricante del equipo, o algunas de sus filiales que es responsable de asegurar que el procedimiento sea ejecutado adecuadamente por personal capacitado; el instructor puede ser un ingeniero de servicio entrenado por el fabricante.

*Calibración* – Es el proceso de comparar el funcionamiento de un instrumento a las condiciones de valores de un estándar conocido; y sí es necesario corregir la desviación del instrumento de aquellas condiciones o valores establecidos.

*Formato de control de cambios* – Un documento proporcionado por el cliente a el proveedor de servicios en el que se especificará cualquier cambio de importancia en el equipo.

*Configuración* – Una agrupación de instrucciones propias del equipo que establecen las adecuaciones de uso.

*Cliente* – Alguna compañía o persona que ha recibido un servicio del fabricante o alguna de sus filiales a cambio de un pago.

*Ingeniero de servicio* – Un representante del fabricante, o algunas de sus filiales cuya responsabilidad es instalar o dar servicio a equipos del cliente.

*Declaración de conformidad* – Documento proporcionado por el fabricante que certifica el correcto funcionamiento del equipo y que cumple las especificaciones establecidas por el fabricante.

*Calificación de instalación* – Es el proceso de demostrar que el equipo cumple con los estándares establecidos por el fabricante referente a: instalación, seguridad y medio ambiente.

*Calificación operacional* – Es el proceso de demostrar que el equipo cumple con los estándares y especificaciones desarrollados por el fabricante en cuanto a su desempeño; y éste debe cumplir con las expectativas de funcionamiento dentro de los límites establecidos.

*Procedimiento normalizado de operación (PNO)*– Un documento que describe un proceso con suficiente detalle y permite el desarrollo consistente de las funciones, independiente del operador.

## Procedimiento

5.5 Información general del equipo			
Nombre: espectrofotómetro UV-VIS			
Marca:			
Identificación:			
Modelo		No. de serie	
Orden de compra		Año de compra	
Lugar de localización	El equipo debe ser ubicado en un lugar con condiciones ambientales controladas, superficie nivelada, exenta de vibraciones y protegido de luz solar directa, para prolongar la vida útil de las lámparas se recomienda que después de cada uso se apaguen estas. Se recomienda que esté conectado a un modulo supresor de picos y/o sistema no brake para evitar daño a la fuente de poder		
Rango de operación	UV: 190-375 nm VIS: 376- 900 nm	Dimensiones	L= A= H=
<p>Condiciones ambientales:</p> <p>Temperatura de funcionamiento adecuado: 18-30°C (64-86°F); la temperatura no debe exceder 1°C (1.8°F) por hora</p> <p>Humedad relativa: no mayor de 55 %</p> <p>El equipo debe ser ubicado alejado de campos electromagnéticos fuertes, equipos centrifugos, de microondas, gases químicos corrosivos, polvos y alejado de ventanas abiertas. Separado de la pared por lo menos 15 cm. No estar cerca de equipos que vibren (sonicadores, tamizadores)</p>			
Cumple con las especificaciones:		SI ( )	NO ( )

L = largo  
A = ancho  
H = altura

Verificado por: \_\_\_\_\_  
Nombre y firma

Fecha: \_\_\_\_\_

### 5.6 Verificación de servicios eléctricos

Equipo: espectrofotómetro UV-VIS

No. de serie:

Modelo:

No. de identificación:	Area:
Amperes	Voltaje (VAC)
Especificación: (depende del modelo)	Especificación: 120 V ± 10%
Actual:	Actual:
Fase:	Watts
Material conductor / calibre:	Frecuencia (Hz): 50/60
Transformador de energía: <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No	Conectado a tierra: <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No
Fusible de protección: <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No	Localización del interruptor de circuito:
Localización del interruptor de seguridad:	Identificación del interruptor de seguridad:
Condiciones de instalación aceptables:	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No
Protección de no-break:	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No
Los circuitos terminales y controles están identificados adecuadamente <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No	
La instalación cumple con el código de energía eléctrica nacional: <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No	

Comentarios: Este instrumento no cuenta con interruptor de seguridad ya que el funcionamiento del mismo no pone en peligro a los usuarios.

Verificado por:

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma

Vo. Bo. Mantenimiento:

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma

Fecha:

\_\_\_\_\_

### 5.7 Lista de instrumentos de medición

Equipo: espectrofotómetro UV-VIS  
 No. de identificación:  
 No. de serie / modelo:

Instrumento	
No. de identificación	
Marca	
Modelo / serie	
Rango	
Exactitud	
Frecuencia de calibración	
Cumple con las especificaciones:	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No
Comentarios:	

### 5.8 Documentación de la operación del equipo

Equipo: espectrofotómetro UV-VIS  
 No. de identificación:  
 No. de serie / modelo:

Procedimiento autorizado de operación del equipo	#	Nombre del Procedimiento del equipo
Procedimiento autorizado de Mantenimiento preventivo	#	Nombre del Procedimiento de Mantenimiento preventivo a equipos.
Bitácora del equipo	Sí / No	Debe estar vigente y actualizada
Personal de operación entrenado	Sí / No	Se deben tener los registros del personal que opera los equipos.

Verificado por: \_\_\_\_\_  
 Nombre y firma

Vo. Bo. Mantenimiento: \_\_\_\_\_  
 Nombre y firma

Fecha: \_\_\_\_\_

### 5.9 Programa de mantenimiento preventivo / correctivo

Equipo: espectrofotómetro UV-VIS

No. de identificación:

No. de serie / modelo:

Sistema, pieza ó accesorio	Tipo de mantenimiento	Frecuencia

Comentarios: El mantenimiento preventivo del espectrofotómetro se debe realizar cada seis meses de acuerdo al programa de mantenimiento preventivo vigente; el mantenimiento correctivo se lleva a cabo cuando ocurre una falla no prevista.

Verificado por: \_\_\_\_\_  
Nombre y firma

Fecha: \_\_\_\_\_

### 5.10 Sistemas de control

Equipo: espectrofotómetro UV-VIS  
 No. de identificación:  
 No. de serie / modelo:

Características	Instalación adecuada Sí / No	Verificada por Fecha
On/Off poder control de arranque	Sí / No	
Luces indicadoras	Sí / No	
Alarmas	NA	
Controladores del microprocesador	Sí / No	
Controladores de velocidad y flujo	NA	
Control de paros de emergencia	NA	
Cumple con las especificaciones: <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No		
Comentarios: El espectrofotómetro no cuenta con control de paros de emergencia, ya que el funcionamiento de éste no pone en peligro al usuario.  NA= No aplica; son sistemas que no están integrados al equipo.		

Verificado por: \_\_\_\_\_  
 Nombre y firma

Fecha: \_\_\_\_\_

## **5.11 Control de cambios**

Notificar cualquier cambio de acuerdo al procedimiento vigente de control de cambios, en el que se establece que se tiene que hacer una revisión y registro histórico de todos los cambios que haya tenido el equipo. Si el sistema analítico sufre algún cambio debe ser claramente especificado. Los departamentos involucrados en el cambio deberán firmar el formato correspondiente de control de cambios, el cual será proporcionado por la unidad de aseguramiento de calidad y tendrá un número consecutivo: la persona de mayor jerarquía dentro del organigrama en el área de operaciones técnicas evaluará y aprobará la propuesta del cambio, esta persona puede ser el responsable sanitario y/o el gerente de la unidad de calidad. Al formato de control de cambios se le deberá anexar toda la documentación que soporte el cambio que se está generando.

La supervisión del área donde se localice el equipo deberá de realizar una revisión final para determinar si se requiere una acción adicional como resultado del cambio, por ejemplo, la actualización de procedimiento de operación del equipo, entrenamiento, etc.. una vez hecho esto, las partes involucradas deberán firmar la autorización final correspondiente en la parte del formato de control de cambios.

**5.12 Desviaciones calificación de instalación**

Equipo: espectrofotómetro UV-VIS

No. de identificación:

No. de serie / modelo:

No. de desviación	Descripción de la falla o el problema	Se anexa reporte (Sí / No)	Fecha

**Formato de reporte de acciones correctivas calificación (IQ)**

Desviación número:

Descripción de la acción correctiva

Firma del ingeniero  
de servicio:

Fecha:

Verificado por:

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma

Fecha:

\_\_\_\_\_

Nombre de la razón social:

Planta:

Departamento:

---

Aprobación/rechazo del sistema (IQ)

### 5.13 Certificación del sistema de calificación de instalación (IQ)

	Inicial (al tiempo de la instalación)	Inicial (después de la instalación)	Re-calificación
Tipo de Certificación:			

En el sistema analítico descrito en la sección: datos del equipo de éste procedimiento, se obtuvieron los siguientes resultados:

<b>Resumen de resultados</b>		
Todas las verificaciones, pruebas y medidas fueron completadas satisfactoriamente	Pasa	
Algunas verificaciones/pruebas de la calificación de la instalación requirieron correcciones al equipo	Pasa después de correcciones	
Algunas de las verificaciones/pruebas de la instalación no se completaron satisfactoriamente	No pasa	
Toda desviación en la instalación o servicio requerido para el correcto funcionamiento del equipo debe ser registrada en la hoja de desviaciones y correcciones, y si aplica, los resultados deberán ser anexados al reporte. Si el equipo sufriera algún cambio de importancia en su instalación, para su correcto funcionamiento, éste deberá ser notificado y registrado como lo indica el procedimiento control de cambios.		

Desviaciones: Sí \_\_\_ No \_\_\_ Verificado por: \_\_\_\_\_  
Nombre y firma

Comentarios: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

Nombre de la razón social:

Planta:

Departamento:

---

#### 5.14 Conclusión para la calificación de instalación

Todos los componentes del sistema de espectrofotometría UV-VIS, marca: XXX, modelo: XXX, laboratorio: XXX, planta: XXX que incluyen microprocesador de alta velocidad y fuente de poder; así como los requerimientos eléctricos y de ubicación del equipo; cumplen con los criterios de aceptación en cada una de las verificaciones /pruebas de calificación de instalación de equipos (IQ), ya que no se encontró desviación alguna al verificarlas y/o ejecutarlas, por lo que se concluye que éste equipo esta instalado correctamente.

#### Aprobaciones:

**Preparado por:** \_\_\_\_\_  
(Químico analista)                      Nombre y firma

**Fecha:** \_\_\_\_\_

**Revisado por:** \_\_\_\_\_  
(Supervisor QC)                      Nombre y firma

**Fecha:** \_\_\_\_\_

**Ejecutado por:** \_\_\_\_\_  
(Ingeniero de servicio)                      Nombre y firma

**Fecha:** \_\_\_\_\_

**Aprobado por:** \_\_\_\_\_  
(Responsable sanitario  
y/o gerente de QC/QA)                      Nombre y firma

**Fecha:** \_\_\_\_\_

**6 Desarrollo de la calificación de operación de un espectrofotómetro UV-VIS.**

**6.1 Aprobación y aceptación del protocolo para la calificación de operación por parte del cliente.**

El laboratorio: XXX (nombre de razón social), planta: XXX (ubicación), departamento: XXX (sección), acepta que éste procedimiento: calificación de operación (OQ) aplica al sistema descrito en el protocolo de calificación de instalación para un espectrofotómetro UV-VIS, modelo: XXX, número de serie: XXX.

\_\_\_\_\_  
Gerencia de QC/QA

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Supervisor laboratorio QC

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Fecha

**Aprobación y aceptación del protocolo por parte del vendedor del equipo, ó alguno de sus representantes de servicio.**

El proveedor del equipo: nombre, o alguno de sus representantes, aceptan que éste procedimiento de la calificación de operación (OQ) del espectrofotómetro, fabricado y ensamblado por : nombre del proveedor del equipo, es apropiado para el equipo: espectrofotómetro UV-VIS necesarios tanto por el usuario, como por el proveedor del equipo y asegurar con esto la correcta operación del instrumento.

\_\_\_\_\_  
Ingeniero de servicio

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Fecha

## 6.2 Materiales y soluciones empleados para las pruebas:

- Filtro de óxido de holmio \*
- Filtro de didimio \*
- Filtros SRM 930\*
- Registrador para medir la resolución

\* Estándares de referencia trazables por una agencia con acreditación.

### Soluciones:

- 40 mg/L de  $K_2Cr_2O_7$  en KOH 0.05N para medir la pérdida de energía a 370 nm
- 0.25 g/L de  $K_2Cr_2O_7$  en KOH 0.05N para medir la pérdida de energía a 370 nm
- 0.011 g/L de NaI (solución acuosa) para medir la pérdida de energía a 220 nm
- 10 g/L de NaI (solución acuosa) para medir la pérdida de energía a 220 nm

### 6.3 Criterios de aceptación de las pruebas de calificación operacional

El orden de ejecución de las pruebas para evaluar el espectrofotómetro UV-VIS es el que se recomienda en la tabla de abajo.

Los límites de aceptación que se muestran en ésta tabla son aplicables para equipos nuevos y para aquellos que ya han sido sometidos a mantenimiento preventivo y/o reparados. Se llevan a cabo con la intención de asegurar un correcto funcionamiento. Instrumentos que han sido usados rutinariamente y por periodos largos pueden requerir ciertos ajustes para optimizar el funcionamiento del equipo; para esto consultar al proveedor del equipo

Prueba	Límites de aceptación
❖ Exactitud de la longitud de onda	Tanto el cristal de holmio como el de didimio tienen bandas de absorción muy bien definidas (estas se encuentran en los cuadros # 1 y # 2 de la página siguiente)
❖ Reproducibilidad de la longitud de onda (repetibilidad)	La longitud de onda debe ser reproducible en cualquier punto del espectro electromagnético. La diferencia máxima permitida entre las lecturas de longitud de onda deberá estar dentro de las especificaciones que se indican para cada equipo

Prueba	Límites de aceptación
❖ Verificación de la linealidad fotométrica	La linealidad fotométrica puede verificarse graficando los valores de absorbancia contra la concentración conocida.
❖ Verificación de la resolución usando filtro de holmio	La resolución debe ser mayor de 4 nm para el pico que aparece a aproximadamente a 453 nm
❖ Verificación de la línea I <sub>0</sub>	Con una escala de 0.005 unidades de absorbancia graficar todo el intervalo del espectro UV-VIS. La desviación no debe ser mayor del especificado por el fabricante
❖ Reproducibilidad fotométrica	La diferencia entre las absorbancias altas y bajas de un conjunto de lecturas repetidas no deberá exceder para: Absorbancia: 0.5% de la lectura Transmitancia: 0.3%
❖ Desviación de luz	Debe ser menor a 1.0 % de transmitancia en todos los casos
❖ Exactitud fotométrica	Los límites para los filtros SRM 930 se enlistan en el cuadro # 3 Los límites para el uso de K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> se enlistan en el cuadro # 4

Cuadro con valores de aceptación para pruebas de OQ:

Cuadro # 1  
Filtro de holmio

Longitud de onda (nm)	Tolerancia (nm)
* 241.6	± 1.0
279.3	± 1.0
* 287.6	± 1.0
** 335.0	± 1.0
** 362.0	± 1.0
418.7	± 1.0
453.7	± 1.0
536.4	± 1.0
637.7	± 1.0

Cuadro # 2  
Filtro de didimio

Longitud de onda (nm)	Tolerancia (nm)
* 573.0	± 1.0
585.2	± 1.0
* 684.5	± 1.5
741.4	± 1.5
806.9	± 1.5

\* Longitudes de onda que pueden variar si se miden a otro ancho de banda

\*\* Los puntos considerados como máximo son 335.0 y 362.0 nm en vez de 333.8 y 360.9 nm, esto para algunos equipos que manejan un ancho de banda de 2 nm.

Verificado por: \_\_\_\_\_  
Nombre y firma

Fecha: \_\_\_\_\_

Cuadro # 3 (filtro SRM 930)  
Absorbancia (A)

Paso de banda y longitud de onda en nm

Paso de banda	(2.2)	(2.7)	(5.4)	(6.0)
No. de filtro	440.0	465.0	590.0	635.0
1 – 227	0.563	0.523	0.574	0.548
2 – 227	0.745	0.693	0.784	0.730
3 – 227	0.026	0.953	0.054	0.006

Cuadro # 4  
Solución de  $K_2Cr_2O_7$ :  
 $120 \pm 0.05$  mg/L en  
 $H_2SO_4$  0.01 N

Longitud de Onda (nm)	Absorbancia
235	$1.495 \pm 0.030$
257	$1.736 \pm 0.035$
313	$0.586 \pm 0.020$
350	$1.288 \pm 0.030$

## 6.4 Procedimiento

El espectrofotómetro UV-VIS para la calificación de operación usa una serie de pruebas para su evaluar su funcionamiento, en la mayoría de los casos, con estándares trazables y límites de aceptación establecidos en los manuales de operación del equipo. El equipo completo es probado con la configuración propia del equipo, la ejecución automatizada (si aplica) y evaluación de las pruebas se realizan usando las soluciones y materiales especificados en cada prueba

Trazabilidad: propiedad del resultado de una medición o del valor de un patrón, por la cual pueda ser relacionado a referencias determinadas generalmente patrones nacionales ó internacionales por medio de una cadena ininterrumpida de comparaciones, teniendo todas incertidumbres determinadas. A la cadena ininterrumpida de comparaciones se le denomina trazabilidad.

## 6.5 Ejecución

Después de la aprobación del protocolo y de la revisión de los datos del equipo declarados en la calificación de instalación se procede a ejecutar la calificación de operación y previo a recopilar las pruebas que aplicarán.

Los detalles de la información contenida en la tabla: características de las pruebas son ejecutadas y la verificación es iniciada.

Cuando cada prueba ha sido desarrollada los resultados son comparados a los límites de aceptación definidos. Sí los resultados están dentro de los límites de aceptación el estatus es **pasa** y la siguiente prueba es iniciada. Sí los resultados están fuera de los límites de aceptación el estatus de la prueba es **no cumple** y la OQ no continúa. El jefe ó supervisor del área es avisado inmediatamente y se toman medidas correctivas. Estas desviaciones, sí ocurren, se reportarán en el formato de desviación descrito en el inciso 6.14 de éste procedimiento, y es firmado y fechado por el operador.

Copias de los certificados de calibración/trazabilidad para todos los estándares usados, resultados de las pruebas, certificados de entrenamiento son adicionadas al procedimiento de OQ y son entregados al jefe/supervisor del área para revisión. La certificación de la calificación operacional en la sección correspondiente de éste procedimiento es completada y firmada.

#### **6.6 Exactitud de la longitud de onda**

La exactitud de la longitud de onda se realiza con un filtro de óxido de holmio ó un filtro de didimio como estándar de longitud de onda; ambos cristales tienen bandas de absorción bien definidas a longitudes de onda conocida; esto tanto para la región visible como la región ultravioleta del espectro.

Se utilizan las longitudes de onda y criterios de aceptación que se establecen en el cuadro # 1 para el filtro de óxido de holmio; y en el cuadro # 2 para el filtro de didimio.

Para verificar la exactitud de la longitud de onda, se procede de la siguiente manera:

- a) Encienda el espectrofotómetro y seleccione la lámpara de tungsteno para longitudes de onda superiores a 350 nm, y la lámpara de deuterio para longitudes de onda inferiores a 350 nm.
- b) Sin colocar ninguna celda en el lugar de referencia y de la muestra, ajuste la absorbancia a 0.000
- c) Coloque el filtro de óxido de holmio ó el de didimio en el lugar de la muestra.
- d) Usando el control de la longitud de onda, haga un barrido en forma manual a través de cada longitud de onda hasta que encuentre el pico de absorción. Siempre proceda a aproximarse a cada punto de una longitud de onda hasta que encuentre el pico de absorción. Siempre proceda a aproximarse a cada punto de una longitud de onda mayor a una menor. Si el barrido no lo puede efectuar manualmente, programe una velocidad de barrido lenta. Verifique la longitud de onda de acuerdo a los cuadros # 1 y # 2; si el instrumento no guarda las especificaciones, no trate de ajustarlo, llame al representante de servicio.

### **6.7 Reproducibilidad de la longitud de onda.**

La longitud de onda debe ser reproducible en cualquier punto del espectro electromagnético. La diferencia máxima permitida entre las lecturas de longitud de onda deberán estar dentro de las especificaciones que se indican para cada aparato.

La reproducibilidad de la longitud de onda puede verificarse al mismo tiempo que se verifica la exactitud de la longitud de onda de un pico en particular, por ejemplo, a 360.9 nm, ajustando a esa longitud en cinco ocasiones en ambas direcciones de

barrido. La diferencia entre las lecturas más grandes y pequeñas para las cinco lecturas combinadas, no deberá exceder lo especificado para cada instrumento.

### 6.8 Linealidad fotométrica

La linealidad fotométrica puede verificarse graficando los valores de absorbancia contra la concentración conocida.

Preparar las siguientes soluciones:

- a) KOH 0.05N: pese 3.3 g y disuélvalo en un litro de agua.
- b) 40 mg/L de  $K_2Cr_2O_7$ : pese 20 mg y disuélvalos en 500 mL de KOH 0.05N
- c) Pipetee en cuatro matraces volumétricos de 50 mL lo siguiente:
  - 10 mL de solución b) (conc. 8 mg/L)
  - 20 mL de solución b) (conc. 16 mg/L)
  - 30 mL de solución b) (conc. 24 mg/L)
  - 40 mL de solución b) (conc. 32 mg/L)afore a 50 mL con KOH 0.05N.

ajuste el espectrofotómetro a 0.000 utilizando KOH 0.05N como blanco y después mida la absorbancia de cada una de las soluciones de  $K_2Cr_2O_7$ . Grafique la absorbancia contra la concentración en mg/L.

Existen también una serie de estándares de referencia certificados por el National Bureau of Standar (NBS) para verificar la linealidad fotométrica (SRM 930 y SRM 931). SRM 930 es un conjunto de tres filtros que tienen absorbancias nominales de 0.550, 0.750 y 1.000 a cuatro longitudes de onda específicas entre 440 y 650 nm. SRM 931 consiste en un conjunto de cuatro viales sellados que contienen soluciones de cobalto y níquel con absorbancias certificadas por el NIST a 302, 395, 512, y 678 nm. y cubren intervalos de absorbancia de 0.100 a 0.900 U.A..

## **6.9 Resolución usando filtro de holmio**

El siguiente procedimiento requiere el uso de un graficador.

- a) Coloque el filtro de óxido de holmio en el haz de muestra.
- b) Grafique de 470 a 446 nm. Los picos que aparecen dentro de este rango deben tener una separación mínima de 4 nm.

## **6.10 Línea I<sub>o</sub>**

Una vez estabilizado el instrumento, ajustar la escala de absorbancia a un valor de 0.005 aproximadamente y graficar todo el intervalo del espectro UV-VIS. La desviación de la absorbancia en todo el intervalo del espectro no debe ser mayor del especificado por el fabricante.

## **6.11 Reproducibilidad fotométrica**

La diferencia entre las absorbancias altas y bajas en un conjunto de lecturas repetidas no debe exceder para:

- Absorbancia: 0.5% de la lectura ó 0.004 T, lo que sea mayor en un rango de - 0.15 a 3.0 U.A.
- Transmitancia: 0.3%

## **6.12 Desviación de la luz**

La desviación de luz es aquella que incide sobre el detector a longitudes de onda diferentes de la seleccionada por el indicador. La desviación de luz se mide seleccionando una muestra que posea una gran absorbancia a la longitud de onda seleccionada para nuestro problema, de tal manera que cualquier cantidad que pase a través de ella, será debido a la desviación de luz. Existen diversos

materiales para verificar la desviación de luz, los cuales se mencionan a continuación:

Longitud de onda	Muestra
220 nm	$\text{NaI}_{\text{aq}}$ 10 g/L, 1 cm
370 nm	$\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ , 0.25 g/L, KOH, 0.05N, 1 cm
680 nm	$\text{CuSO}_4$ , 350 g/L, $\text{H}_2\text{O}$ , 1 cm

Para verificar si la desviación de luz es menor de 1% de T, siga este procedimiento:

- Encienda el espectrofotómetro y ajuste la longitud de onda hasta que el indicador señale la que se desea
- Seleccione la lámpara de tungsteno para verificar a 370 y 680 nm, y la lámpara de deuterio para verificar a 220 nm.
- Sin colocar ninguna celda en el lugar de referencia ni en la muestra, ajuste la absorbancia a 0.000
- Para medir a 370 nm: coloque una celda de 1 cm que contenga una solución de 40 mg/L de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  en KOH al 0.05N en el lugar de referencia, y otra celda de 1 cm que contenga una solución de 250 mg/L de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  en KOH al 0.05N en el lugar de la muestra. Registre las lecturas de absorbancia; para ambas muestras deberá ser mayor de 2.00, correspondiendo a una desviación de luz menor de 1.0 % de T.

### 6.13 Exactitud fotométrica

Una serie de estándares de referencia han sido desarrollados para verificar la exactitud fotométrica. Uno de estos son los filtros SRM 930, cuyas especificaciones son las que se establecen en la tabla # 3 del punto 6.3 "Criterios de aceptación de las pruebas".

Un método alternativo utiliza dicromato de potasio para verificar éste parámetro, aunque por varios factores que pueden afectar la solución (temperatura, pureza, etc.), éste método debe usarse solo como guía. Sí no se obtienen los valores dados en la tabla # 4 de los criterios de aceptación, aún utilizando solución recién preparada, deberá usarse la serie de filtros que se mencionaron anteriormente.

### 6.14 Desviaciones calificación (OQ)

Equipo: espectrofotómetro UV-VIS

No. de identificación:

No. de serie / modelo:

No. de desviación	Descripción de la falla o el problema	Se anexa reporte (Sí / No)	Fecha

Verificado por:

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma

Fecha:

\_\_\_\_\_

**Formato de reporte de acciones correctivas calificación operacional**

Equipo: espectrofotómetro UV-VIS

No. de identificación:

No. de serie / modelo:

Desviación número:

Descripción de la acción correctiva

Firma del ingeniero  
de servicio:

Fecha:

Verificado por:

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma

Fecha:

\_\_\_\_\_

Nombre de la razón social:

Planta:

Departamento:

---

Aprobación/rechazo del sistema (OQ)

### 6.15 Certificación del sistema de calificación de operación (OQ)

	Inicial (al tiempo de la instalación)	Inicial (después de la instalación)	Re-calificación
Tipo de certificación:			

En el sistema analítico descrito en la sección: datos del equipo de éste procedimiento, se obtuvieron los siguientes resultados:

<b>Resumen de resultados</b>		
Todas las verificaciones, pruebas y medidas fueron completadas satisfactoriamente	Pasa	
Algunas verificaciones/pruebas de la calificación de instalación requirieron correcciones al equipo	Pasa después de correcciones	
Algunas de las verificaciones/pruebas de la instalación no se completaron satisfactoriamente	No pasa	
Sí durante la ejecución de las pruebas de la calificación operacional existe alguna desviación ésta debe ser registrada en la hoja de desviaciones y correcciones, y si aplica, los resultados deberán ser anexados al reporte. Si el equipo sufriera algún cambio de importancia en su instalación, para su correcto funcionamiento, éste deberá ser notificado y registrado como lo indica el punto: control de cambios.		

Desviaciones: Sí \_\_\_ No \_\_\_ Verificado por: \_\_\_\_\_  
Nombre y firma

Comentarios: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

## 6.16 Conclusión para la calificación de operación (OQ)

Todos las pruebas de verificación de desempeño aplicadas al sistema de espectrofotometría UV-VIS, marca: XXX, modelo: XXX del laboratorio: XXX, planta: XXX que incluyeron: exactitud y reproducibilidad de longitud de onda, linealidad fotométrica, resolución para filtro de holmio, línea  $I_o$ , reproducibilidad, exactitud fotométrica y desviación de luz cumplieron con los criterios de aceptación en cada una de las verificaciones de las pruebas de la calificación operacional (OQ), ya que no se encontró desviación alguna al verificarlas y ejecutarlas, por lo que se concluye que éste equipo esta listo para operar.

### Aprobaciones:

**Preparado por:** \_\_\_\_\_  
(Químico analista)                      Nombre y firma

Fecha: \_\_\_\_\_

**Revisado por:** \_\_\_\_\_  
(Supervisor QC)                      Nombre y firma

Fecha: \_\_\_\_\_

**Ejecutado por:** \_\_\_\_\_  
(Ingeniero de servicio)                      Nombre y firma

Fecha: \_\_\_\_\_

**Aprobado por:** \_\_\_\_\_  
(Responsable sanitario  
y/o gerente de QC/QA)                      Nombre y firma

Fecha: \_\_\_\_\_

## **7 CONCLUSIONES GENERALES:**

Para asegurar la veracidad de los resultados analíticos que se obtienen en los laboratorios de control de calidad es necesario establecer protocolos y procedimientos de instalación y operación para cada uno de los equipos e instrumentos de medición que son usados rutinariamente en los laboratorios de control analítico

En el presente trabajo se establecieron los requisitos mínimos necesarios para la calificación de instalación y operación de un espectrofotómetro UV-VIS, contribuyendo con esto a las buenas prácticas de laboratorio e implícitamente garantizando al cliente seguridad y eficacia al consumir productos que fueron evaluados con estos equipos

## 8 BIBLIOGRAFÍA

- Connors A. Kenneth. Curso de análisis farmacéutico, ed. Reverté 2ª ed. España 1980, p.p.: 195-252
- Skoog A. Douglas / West M. Donald. Química analítica, ed. Mc. Graw Hill 4ª ed. Madrid España 1989, p.p.: 383-426
- Settle Frank. Handbook of instrumental techniques for analytical chemistry, chapter 25, ed. Prentice Hall 1997. New Jersey USA 1997, p.p.: 481-506
- Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM 8ª ed.) Secretaría de salud, MGA 0361, p.p.: 422-426.
- The United State Pharmacopoeia (USP28/NF23), ed. 2005. BR Physical test [851] Spectrophotometry and light-scattering, p.p.: 2495-2499.
- British Pharmacopoeia 2004, vol. IV, apendix IIB A141: Ultraviolet and visible absorption spectrophotometry (2.2.25)
- European Pharmacopoeia 5<sup>TH</sup> ed. Spectrophotometry ultraviolet and visible absorption, vol 1, p.p.: 38-40
- Alfonso R. Genaro. Ciencia y práctica de la farmacia. Reminton, 20ª ed. tomo 1. Ed. Médica Panamericana 2000, p.p.: 723 - 725