



Casa abierta al tiempo

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
LICENCIATURA QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA**

Andrea Corona Miranda

**Alumno de la Licenciatura de Química Farmacéutica Biológica presenta el
reporte de servicio social:
Validación del método analítico para la determinación de color en producto
terminado
Pertenece al proyecto externo
Validación de métodos analíticos
Baxter S.A de C.V., área de Calidad, validación de métodos analíticos**

Asesores:

ASESORA INTERNA

M. En C. Marcela Hurtado y de la Peña
Profesor-Investigador
Depto. De Sistemas Biológicos
No. Económico 15677
Universidad Autónoma Metropolitana

ASESORA EXTERNA

Lic. Lucero Delgado Pastelin
Químico analista
Validación de métodos analíticos
Cédula. 7076749
Baxter

México, Ciudad de México

Mayo 2024

TABLA DE CONTENIDO.	Nó. De pag.
1. INTRODUCCIÓN.....	3
2. MARCO TEÓRICO.....	4
2.1. CLASIFICACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS	4
2.2. PRUEBAS LÍMITE FRENTE A DETERMINACIONES CUANTITATIVAS	5
2.2.1 <i>Las impurezas están disponibles</i>	6
2.2.2 <i>Las impurezas no están disponibles</i>	6
2.3 PRODUCTO DE DEGRADACIÓN	6
3. OBJETIVOS	7
3.1. OBJETIVO GENERAL	7
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	7
4. ABREVIATURAS	8
5. EQUIPOS Y MATERIALES	8
6. METODOLOGÍA	9
6.1 PREPARACIÓN DE SOLUCIONES	9
6.2. DESARROLLO DE LA PRUEBA DE COLOR.....	11
6.3. PARÁMETROS DE DESEMPEÑO ANALÍTICO	12
7. RESULTADOS.....	14
7.1. PARÁMETROS DE DESEMPEÑO ANALÍTICO	14
7.2. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE DATOS	15
7.3. EVIDENCIA FOTOGRÁFICA DE LA PRUEBA DE ESPECIFICIDAD	16
7.4. EVIDENCIA FOTOGRÁFICA DE LA PRUEBA DE LÍMITE DE DETECCIÓN	22
7.5. EVIDENCIA FOTOGRÁFICA DE LA PRUEBA DE ROBUSTEZ	23
8. OBJETIVOS Y METAS ALCANZADAS.....	28
9. CONCLUSIONES.....	29
10. BIBLIOGRAFÍA	29
11. RESUMEN	32
11.1. OBJETIVOS	32
11.1.1. <i>Objetivo general</i>	32
11.1.2. <i>Objetivos específicos</i>	32
11.2. METODOLOGÍA.....	33
11.3. RESULTADOS.....	33
11.4. CONCLUSIONES	34
11.5. BIBLIOGRAFÍA.....	34

1. Introducción

La manufactura de productos farmacéuticos del siglo XXI tiene como base para la calidad de estos productos, una política basada en tres aspectos: a) avances en la ciencia de manejo de riesgos, b) avances en las ciencias de la calidad y c) avances en la ciencia de la tecnología de la producción. La FDA ha concluido que los modernos sistemas de calidad juntos con los procesos de manufactura bien controlados y un profundo conocimiento de los productos puede conducir a un producto con mayor seguridad y eficacia. Mediante métodos sistemáticos para identificar aquellas situaciones que deban ser clasificadas como de riesgo y que por lo tanto formarán parte de aspectos que deberán ser evaluados y sujetos límites y estándares definidos antes, durante y al final de la elaboración del producto. (Reham et al., 2015).

Es pertinente mencionar que para los compuestos farmacéuticos se demanda un alto nivel de pureza. También se comprende que no es viable que se pretenda una pureza absoluta, de tal forma que debe establecerse un intervalo entre lo que es aceptable y posible y lo que se debe considerar fuera de especificaciones. Para establecer estos límites se debe hacer un detallado análisis tomando en cuenta aspectos de toxicidad, interferencias y efectos de inestabilidad. La presencia de impurezas está asociada a la ruta de síntesis del principio activo y al proceso de degradación al que es susceptible. En cualquier caso, la presencia de impurezas debe estar dentro de los límites de tolerancia aceptables y considerados seguros, para los cual deben ser evaluadas de acuerdo con las pruebas compéndiales y aplicar los límites recomendados. Las pruebas de impurezas en las farmacopeas se clasifican en pruebas cuantitativas que son análisis que determinan la cantidad de la impureza presente en la muestra y las pruebas límite de impurezas que son pruebas semi-cuantitativas, que aplican un estándar de concentración conocido como límite superior y que siempre y cuando la impureza no sobrepase el nivel de ese límite la prueba se considera aceptable, generalmente son pruebas colorimétricas o de precipitación y determinación organoléptica (visual) (Reham et al., 2015).

En el ámbito de la química analítica, la validación de métodos es un proceso crítico para garantizar que un método analítico sea adecuado y confiable para su propósito específico. En la industria farmacéutica, la determinación precisa del color en productos terminados es de vital importancia. Este parámetro no solo influye en la percepción del producto por parte del paciente, sino que también puede ser indicativo de su calidad, seguridad y eficacia (Kumar et al., 2019).

En Baxter México se fabrican productos de diálisis peritoneal, que son soluciones médicas utilizadas en tratamientos renales, donde la exactitud y consistencia en su composición son esenciales. El color de estas soluciones puede ser afectado por diversos factores durante su producción, tales como la pureza de las materias primas, el proceso de fabricación y las condiciones de almacenamiento. Un cambio en el color puede indicar contaminación, degradación o alteraciones en la formulación, lo que puede comprometer la seguridad del paciente (Liu et al., 2018).

En este proyecto, se llevará a cabo la validación del método analítico para la determinación de color en producto terminado para diálisis peritoneal realizando la determinación cualitativa colorimétrica de 5-hidroximetilfurfural como producto de degradación. Esto implica evaluar parámetros críticos del método como la especificidad, límite de detección y robustez. La validación tiene como objetivo confirmar que el método es adecuado para

proporcionar resultados reproducibles y fiables, cumpliendo con los estrictos estándares regulatorios y las expectativas de calidad en el sector farmacéutico.

2. Marco teórico

La validación de métodos analíticos es un proceso que asegura que un método sea adecuado y confiable para su propósito específico. Este proceso implica la evaluación sistemática de varios parámetros de desempeño del método, tales como la exactitud, precisión, especificidad, linealidad, límite de detección (LOD) y límite de cuantificación (LOQ). Según las directrices del International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH), la validación es esencial para cumplir con los estándares regulatorios y garantizar la calidad del producto final (Rozet et al., 2016).

El color es un atributo crítico en muchos productos terminados, incluidos los farmacéuticos, alimenticios y cosméticos. En productos farmacéuticos, como las soluciones de diálisis peritoneal, el color puede indicar la pureza y estabilidad del producto, así como la ausencia de contaminantes. Un cambio en el color puede sugerir degradación o contaminación (Kumar et al., 2019).

El color es una característica organoléptica, lo que significa que el valor se basa en la respuesta humana a los estímulos. Puede definirse como la percepción de un observador o la respuesta subjetiva a un estímulo de energía radiante en el espectro visible que se extiende en el rango de longitud de onda de 400 a 700 nm. El color percibido es función de tres variables: propiedades espectrales del objeto, distribución de potencia espectral de la fuente de iluminación y percepción visual del observador.

La acromicidad o falta de color es un extremo de cualquier escala de colores para la transmisión de luz. Implica la ausencia total de color; por tanto, el espectro visible de la muestra carece de absorbancias.

El método de determinación de color se basa en la comparación visual del color de la muestra en solución, contra patrones de referencia en un intervalo colorido específico, bajo condiciones establecidas. El color que presenta la muestra estará dentro del intervalo Café(B)-Amarillo(Y)-Rojo(R). La percepción del color y de las coincidencias de color depende de las condiciones de visión y de iluminación. Las determinaciones deben realizarse utilizando una iluminación difusa y uniforme en condiciones que reduzcan las sombras y minimicen la reflectancia no espectral. Los líquidos deben compararse en recipientes de comparación de colores que sean transparentes a la luz de iluminación (USP NF-2023).

2.1. Clasificación de métodos analíticos

Los métodos analíticos se clasifican en varias categorías según FEUM 13.0, cada una con diferentes requisitos de validación basados en su aplicación y complejidad. A continuación se describen estas categorías y los parámetros de desempeño a evaluar para cada una:

Categoría I

Métodos analíticos para la cuantificación de los principales excipientes y/o ingredientes activos y conservantes en productos terminados.

Categoría II

Métodos analíticos para la determinación de impurezas o compuestos de degradación en productos terminados. Estos métodos incluyen ensayos cuantitativos y pruebas límite.

Categoría III

Métodos analíticos para la determinación de características de rendimiento, por ejemplo, pruebas de esterilidad, disolución y liberación de fármacos para productos farmacéuticos. En la Tabla 1 se presentan los criterios de validación que la ICH y USP recomiendan de acuerdo con la aplicación del método analítico.

Tabla 1. Criterios de validación de acuerdo con aplicación del método analítico.

Características de validación	Contenido	Prueba de impurezas		Contenido (potencia/disolución)
		Cuantitativa	Prueba límite	
Exactitud	Sí	Sí	No	No
Precisión-Repetibilidad	Sí	Sí	No	No
Precisión-Precisión Intermedia	Sí	Sí*	No	No
Especificidad	Sí	Sí	Sí	Sí
Límite de detección	No	No	Sí	No
Límite de cuantificación	No	Sí	No	No
Linealidad	Sí	Sí	No	No
Rango	Sí	Sí	No	No
Robustez	Sí	Sí	Sí	No

*Puede ser requerido dependiendo la naturaleza de la prueba.

El método de determinación de color es clasificado como categoría II de acuerdo con la aplicación analítica, según la FEUM 13.0. Los métodos involucrados en esta categoría son para la determinación de impurezas en sustancias de medicamento a granel o compuestos de degradación en productos farmacéuticos terminados. Estos métodos incluyen ensayos cuantitativos y pruebas límite. Siendo la determinación de color una prueba límite. Considerando lo anterior, las pruebas de desempeño que serán retadas son: especificidad del método, límite de detección y robustez.

2.2. Pruebas límite frente a determinaciones cuantitativas

En general, las pruebas límite son pruebas cuantitativas o semicuantitativas que se proponen especialmente para identificar y controlar invariablemente pequeñas cantidades de impurezas que se supone que están presentes en una sustancia farmacéutica.

Obviamente, la cantidad de cualquier impureza presente en una sustancia oficial suele ser pequeña y, por lo tanto, la respuesta normal de reacción visible a cualquier prueba de esa impureza también es bastante pequeña. Por lo tanto, es necesario e importante diseñar la

prueba individual de tal manera que se eviten posibles errores en manos de varios analistas. Esto puede lograrse teniendo en cuenta los tres factores cardinales siguientes, a saber:

Especificidad de las pruebas: Una prueba empleada como prueba límite debe implicar algún tipo de reacción selectiva con la traza de impureza. Se ha observado que una prueba menos específica que limita un número de impurezas tiene una ventaja positiva sobre las pruebas altamente específicas.

Ejemplo : La contaminación de Pb²⁺ y otras impurezas de metales pesados en el alumbre es precipitada por tioacetamida como sus respectivos sulfuros a pH 3,5.

Sensibilidad: El grado de sensibilidad estipulado en una prueba límite varía ampliamente según el estándar establecido por una farmacopea. La sensibilidad se rige por una serie de factores variables que tienen un objetivo común de obtener resultados reproducibles.

Análisis gravimétrico: La precipitación está guiada por la concentración del soluto y del reactivo precipitante, el tiempo de reacción, la temperatura de reacción y la naturaleza y cantidad de otras sustancia(s) presente(s) en la solución.

Ensayos de color: La producción de coloraciones visibles y distintas puede lograrse mediante la determinación de las cantidades necesarias de reactivos, el período de tiempo y, sobre todo, la estabilidad del color producido. (Ashutosh ka, 2005).

La ICH menciona que para la validación de métodos para impurezas:

2.2.1 Las impurezas están disponibles

Para el ensayo, esto debe implicar la demostración de la discriminación del analito en presencia de impurezas y/o excipientes. En la práctica, esto se puede hacer añadiendo a sustancias puras (sustancia farmacéutica o producto farmacéutico) niveles adecuados de impurezas y/o excipientes y demostrando que el resultado del ensayo no se ve afectado por la presencia de estos materiales (en comparación con el resultado del ensayo obtenido en muestras sin picos).

En el caso de la prueba de impurezas, la discriminación puede establecerse añadiendo a una sustancia farmacéutica o a un producto farmacéutico niveles adecuados de impurezas y demostrando la separación de estas impurezas individualmente y/o de otros componentes de la matriz de la muestra.

2.2.2 Las impurezas no están disponibles

Si no se dispone de normas para productos de impurezas o degradación, la especificidad puede demostrarse comparando los resultados de las pruebas de muestras que contienen impurezas o productos de degradación con un segundo procedimiento bien caracterizado, por ejemplo: método de farmacopea u otro procedimiento analítico validado (procedimiento independiente). Según corresponda, esto debe incluir muestras almacenadas en condiciones de estrés relevantes: luz, calor, humedad, hidrólisis ácido/base y oxidación.

2.3 Producto de degradación

Los productos terminados utilizados en el tratamiento de problemas renales, contienen glucosa en su formulación. La glucosa (Figura 1) al ser sometida a tratamiento térmico como es el proceso de esterilización genera 5-Hidroxi metilfurfural (5-HMF) (Figura 2) como producto de degradación, este es un aldehído y furano de la descomposición térmica de los glúcidos, lo cual puede provocar una variación en la coloración del producto (Martínez, N.

2017). Para este proyecto será evaluado un piloto adicionado con 5-HMF con la finalidad de descartar interferencias debido a la cantidad de componentes.

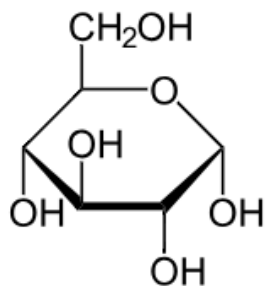


Figura 1. Estructura química de la glucosa.

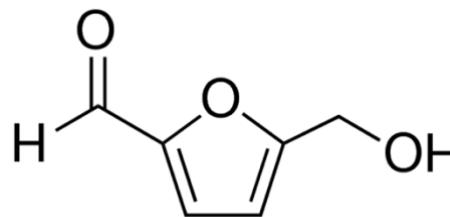


Figura 2. Estructura química de 5-HMF

3. Objetivos

3.1. Objetivo general

Participar en el área de validación de métodos analíticos a través del servicio social mediante actividades propias de la profesión como lo son protocolos de validación para ampliar los conocimientos y habilidades analíticas aplicadas para asegurar la calidad del producto de uso médico, con el fin de participar en la misión de salvar y sostener vidas.

3.2. Objetivos específicos

- Introducir al QFB a actividades propias de la profesión con el fin de tener dominio en regulación normativa, redacción y llenado documental según las pautas internas de la empresa.
- Escribir un protocolo de “Validación del método analítico para la determinación de color en producto terminado” con todos los apartados requeridos tomando como base protocolos anteriores y PNO’s internos.
- Aperturar el protocolo de validación después de haber sido revisado, corregido y firmado por el asesor en validaciones de métodos analíticos.
- Ejecutar el protocolo mediante la metodología interna indicada para determinación de color una vez hecha y aprobada la revisión de reactivos, equipos e insumos.
- Realizar el reporte con los resultados obtenidos experimentalmente, averiguando si el método cumple con los criterios de aceptación de cada parámetro de desempeño para ser validado.
- Revisar y corregir los errores observados por el asesor para dar cierre al proyecto

4. Abreviaturas

Abreviatura	Significado
5-HMF	5-hidroximetilfurfural
cbp	Cantidad basta para
FEUM	Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos
g	Gramo
mg	Miligramo
mL	Mililitro
N/A	No Aplica
PNO	Procedimiento Normalizado de Operación
ppm	Partes por millón
PT	Producto Terminado
USP	Farmacopea de los Estados Unidos (por sus siglas en inglés United States Pharmacopeia)
NF	Formulario Nacional (por sus siglas en inglés National Formulary)
MGA	Método General de Análisis
v	Volumen
g/L	Gramos por litro
mg/L	Miligramos por litro
M	Molar
N	Normal
m/v	Masa/volumen
p/v	Peso/volumen
v/v	Volumen/volumen
°C	Grados Celsius
mm	Milímetros
SV	Solución volumétrica

5. Equipos y materiales

Equipos

- Balanza analítica (calibrada)
- Micropipeta volumen apropiado (calibrada)
- Campana de extracción
- Parrilla eléctrica

Materiales

- Matraz volumétrico clase A (volumen apropiado)
- Matraz yodométrico y/o matraz Erlenmeyer con tapón de vidrio esmerilado (volumen apropiado)
- Pipetas volumétricas clase A (volumen apropiado)

- Probetas de tamaño adecuado
- Bureta clase A tamaño apropiado
- Vasos de precipitado de tamaño apropiado
- Tubos de 12 mm de diámetro externo
- Tubos Nessler
- Agitadores magnéticos
- Espátula

Reactivos

- Cloruro de cobalto hexahidratado grado reactivo
- Ácido clorhídrico grado reactivo
- Peróxido de hidrógeno grado reactivo
- Hidróxido de sodio grado reactivo
- Yoduro de potasio grado reactivo
- Yodo grado reactivo
- Dicromato de potasio (estándar primario)
- Cloruro férrico hexahidratado grado reactivo
- Tiosulfato de sodio grado reactivo
- Almidón grado reactivo
- Yoduro mercúrico rojo grado reactivo
- Carbonato de sodio grado reactivo
- Ácido sulfúrico grado reactivo
- 5-hidroximetilfurfural grado reactivo
- Bicarbonato de sodio grado reactivo

Equipo de protección personal

- Guantes de neopreno y/o hule natural
- Mascarilla para vapores (si aplica)
- Bata
- Lentes
- Botas de seguridad

6. Metodología

6.1 Preparación de soluciones

Registrar la preparación de las soluciones usadas en este protocolo. Cantidades proporcionales pueden ser preparadas, siempre y cuando se considere la concentración final de cada solución.

La pureza de las materias primas debe ser considerada durante la preparación de las soluciones. Los pesos están considerados con una pureza del 100% para todos los componentes.

SI Almidón

Mezclar 1.0 g de almidón soluble con 10 mg de yoduro mercúrico rojo y suficiente agua fría para hacer una pasta fina, agregar 200 mL de agua en ebullición y dejar hervir durante 1 min con agitación constante, dejar enfriar. Usar únicamente la solución clara. Efectuar la prueba de sensibilidad en la solución antes de su uso. **Sensibilidad.** A una mezcla de 1.0 mL de la solución de almidón soluble y 20 mL de agua, añadir 50 mg de yoduro de potasio y 0.05 mL de SV de yodo 0.005 M. La solución cambia de incolora a azul.

SV de yodo 0.005 M

Disolver aproximadamente 1.4 g de yodo en una solución de 3.6 g de yoduro de potasio en 100 mL de agua, agregar 3 gotas de ácido clorhídrico y diluir con agua a 1000 mL.

Peróxido de hidrógeno T.S.

Prepare una solución que contenga una concentración de 2.5 a 3.5 g de peróxido de hidrógeno en 100 mL de agua.

Ácido clorhídrico 2.5% (v/v)

Cuidadosamente adicione 25 mL de ácido clorhídrico a 900 mL de agua destilada en un matraz volumétrico de 1000 mL y posteriormente afore.

Ácido sulfúrico 1.0 M

En un matraz volumétrico de 1 000 mL conteniendo 500 mL de agua, agregar cuidadosamente y con agitación, 60 mL de ácido sulfúrico, enfriar a 25 °C y llevar a volumen con agua.

Solución de hidróxido de sodio al 30%

Disuelva 30 g de hidróxido de sodio en suficiente agua destilada manteniendo el matraz en un baño de agua fría (esta es una reacción exotérmica) cuando ya esté frío afore a 100 mL con agua destilada.

Ácido clorhídrico 1% m/v

Cuidadosamente mida lo equivalente a 10 g* de ácido clorhídrico y transfiera en un matraz de 1000 mL el cual debe contener agua destilada, llevar a volumen.

*Calcule la cantidad equivalente en volumen utilizando la siguiente fórmula y la pureza del ácido:

$$\rho = \frac{m}{v}$$

SV de tiosulfato de sodio 0.1 M

En un matraz volumétrico de 1 000 mL, disolver 26 g de tiosulfato de sodio y 200 mg de carbonato de sodio en 800 mL de agua recientemente hervida y fría.

Llevar a volumen con el mismo disolvente. Valorar la solución como se indica a continuación: pesar 70 mg de dicromato de potasio (previamente pulverizado y secado a 120 °C durante 4 h), disolver en 100 mL de agua en un matraz yodométrico de 500 mL. Agitar hasta disolución, quitar el tapón y rápidamente agregar 3.0 g de yoduro de potasio, 0.666 g de bicarbonato de sodio y 1.6 mL de ácido clorhídrico. Insertar el tapón en el matraz, mezclar y dejar reposar en la oscuridad durante 10 min exactamente. Enjuagar el tapón y las paredes internas del matraz con agua. Titular el yodo liberado con la solución de tiosulfato de sodio hasta vire a color verde amarillento. Agregar 3.0 mL de SI de almidón y continuar la titulación hasta la disminución del color azul marino. Titular un blanco de reactivos y hacer las correcciones necesarias. Calcular la normalidad, considerando que cada mililitro de SV de tiosulfato de sodio 0.1 N o 0.1 M es equivalente a 4.903 mg de dicromato de potasio.

Solución de cloruro férrico (amarillo primario). Pesar 46 g de cloruro férrico hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), pasar a un matraz volumétrico de 1 000 mL, disolver y llevar al aforo con solución de ácido clorhídrico al 2.5 % (v/v). La solución deberá ser protegida de la luz y valorada antes de su uso.

Valoración. Pasar 10 mL de esta solución a un matraz yodométrico de 250 mL, adicionar 15 mL de agua, 4.0 g de yoduro de potasio y 5.0 mL de ácido clorhídrico. Tapar el matraz,

proteger de la luz y dejar reposar la mezcla durante 15 min. Diluir con 100 mL de agua y titular el yodo liberado con SV de tiosulfato de sodio 0.1 M, adicionar 0.5 mL de SI almidón cerca del punto final de la titulación. Efectuar una determinación en blanco para cualquier corrección necesaria. Calcular considerando que cada mililitro de solución de tiosulfato de sodio 0.1 M equivale a 27.03 mg de cloruro férrico hexahidratado. Ajustar el volumen final con solución de ácido clorhídrico al 2.5 % (v/v), para que cada mililitro contenga 45 mg de cloruro férrico hexahidratado.

Solución de cloruro de cobalto (rojo primario). Pesar 60 g de cloruro de cobalto hexahidratado ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), pasar a un matraz volumétrico de 1 000 mL, disolver y llevar al aforo con solución de ácido clorhídrico al 2.5 % (v/v).

Valoración. Pasar 5.0 mL de esta solución a un matraz yodométrico de 250 mL, adicionar 5.0 mL de SR peróxido de hidrógeno y 10 mL de solución de hidróxido de sodio al 30 % (m/v) (realizar los pasos anteriores bajo campana de extracción y con extrema precaución). Se mantiene a ebullición suave durante 10 min, enfriar, adicionar 2.0 g de yoduro de potasio y 60 mL de solución de ácido sulfúrico 1.0 M. Tapar el matraz y agitar ligeramente para que se disuelva el precipitado. Titular el yodo liberado con SV de tiosulfato de sodio 0.1 M, adicionar 0.5 mL de SI almidón, cerca del punto final de la titulación. Continuar la valoración hasta el vire a color rosa. Calcular considerando que cada mililitro de solución de tiosulfato de sodio 0.1 M equivale a 23.79 mg de cloruro de cobalto hexahidratado. Ajustar el volumen final con solución de ácido clorhídrico al 2.5 % (v/v) para que cada mililitro contenga 59.5 mg de cloruro de cobalto hexahidratado.

Solución Estándar Y (amarillo)

En un recipiente adicione 24 mL de solución de cloruro férrico (amarillo primario), 6 mL de solución de cloruro de cobalto (rojo primario) y 70 mL de solución de ácido clorhídrico 1% m/v. Mezcle y utilice esta preparación en fresco.

Solución de referencia Y5

En un recipiente adicione 12.5 mL de la solución estándar Y y 87.5 mL de ácido clorhídrico 1% m/v. Mezcle y utilice en fresco.

6.2. Desarrollo de la prueba de color

Recomendaciones de acuerdo con USP:

El ángulo del observador puede ser normal (vertical) o de 90 grados (horizontal) si el ángulo de iluminación se controla para evitar la reflexión especular y proporciona una iluminación difusa en relación con el ángulo del observador. El campo circundante debe ser blanco, negro o gris neutro.

1. Utilice tubos idénticos de vidrio incoloro, transparente y neutro de 12 mm de diámetro externo.
2. Coloque 2.0 mL del líquido a examinar (solución muestra) y 2.0 mL de agua o líquido de referencia en tubos independientes.
3. Realice la comparación entre ambos tubos, debe existir un pequeño espacio perceptible entre la muestra y el líquido de comparación.

6.3. Parámetros de desempeño analítico

➤ Especificidad del método

La especificidad es la capacidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente al analito de interés y no a otros componentes de la muestra, que pueden estar presentes (especificidad) o que se pudieran presentar por efectos ambientales y/o de interacción con los mismos componentes (selectividad) tales como: impurezas, productos de degradación o componentes de la misma muestra. Para determinar la especificidad, se debe demostrar que la respuesta analítica se debe únicamente al analito de interés.

Preparación de soluciones:

Cada solución deberá ser preparada por triplicado de forma independiente.

Solución piloto

Solución piloto + 5-HMF

Solución piloto Adicionada

Control negativo

Transfiera 2 mL de la solución estándar intermedio 5-HMF a un matraz volumétrico de 100 mL y lleve a volumen con agua destilada.

Condiciones de estudio:

- Se adicionará 5-Hidroximetilfurfural a una concentración de 2 ppm como producto de degradación.
- Se utilizará la solución de referencia Y5.
- El estudio involucra 5 soluciones diferentes (realizar por triplicado):
 - Blanco: agua destilada.
 - Control negativo: agua destilada + 5-HMF
 - Control positivo: Y5
 - Piloto
 - Piloto + 5-HMF
 - Piloto adicionado

Desarrollo de la prueba:

1. Realice la prueba de acuerdo con lo establecido.
2. Registre los resultados en el
3. Anexar evidencia fotográfica.

Criterio de aceptación:

$$\text{Blanco} \leq \text{Control negativo} \leq \text{Piloto} \leq \text{Piloto + 5-HMF} \leq \text{Piloto adicionado} \leq \text{Control positivo}$$

➤ Límite de detección

El límite de detección (LD) es la cantidad mínima de analito en una muestra que puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada, bajo las condiciones de aplicación del método. Así las pruebas límite solamente indican que la cantidad del analito es superior o inferior a la concentración establecida. El límite de detección se expresa generalmente como la concentración indicada en el método analítico.

Preparación de soluciones:

Cada solución deberá ser preparada por triplicado de forma independiente.

Condiciones de estudio:

- Realizar por triplicado
- Piloto
- La solución Y5 (25%, 50%,100%)

Desarrollo de la prueba:

1. Realice la prueba de acuerdo con lo establecido
2. Registre los resultados
3. Anexar evidencia fotográfica.

Criterio de aceptación:

El límite de detección debe ser menor o igual al 50% de la concentración de la solución de referencia Y5 (100%).

➤ Robustez

La robustez es la capacidad del método analítico de mantener su desempeño al presentarse variaciones pequeñas pero deliberadas, en las características normales de operación de este. De acuerdo con lo establecido en las farmacopeas USP y EP vigentes para la metodología de color se deben usar tubos idénticos de vidrio incoloro transparente y neutro de 12 mm de diámetro externo.

Condiciones del estudio:

- Realizar por triplicado
- Al ser una prueba cualitativa, en la cual se realiza una comparación visual, se utilizará la solución de referencia Y5 como 100%.
- Se retará utilizando 2 tubos diferentes cómo se indica a continuación:
 - ✓ Condición normal: Tubos de vidrio incoloro, transparente y neutro de 12 mm de diámetro externo.
 - ✓ Condición diferente: Tubos de comparación Nessler.

Desarrollo de la prueba:

1. Realice la prueba de acuerdo con lo establecido (realizar de forma independiente con los tubos de la condición normal y posteriormente con los tubos de comparación Nessler).
2. Registre los resultados.
3. Anexar evidencia fotográfica.

Criterio de aceptación:

La respuesta observada en los tubos de la condición normal debe ser igual a la respuesta en los tubos de la condición diferente.

7. Resultados

7.1. Parámetros de desempeño analítico

➤ Especificidad

La especificidad es la capacidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente al analito de interés y no a otros componentes de la muestra, que pueden estar presentes (especificidad) o que se pudieran presentar por efectos ambientales y/o de interacción con los mismos componentes (selectividad) tales como: impurezas, productos de degradación o componentes de la misma muestra. Para determinar la especificidad, se debe demostrar que la respuesta analítica se debe únicamente al analito de interés.

La prueba de especificidad fue realizada para soluciones:

- Piloto
- Piloto + 5-HMF
- Piloto Adicionado

La especificidad fue evaluada con las siguientes condiciones de estudio:

- Se utilizó como blanco agua destilada
- Se utilizó como control negativo agua destilada más 5-HMF
- Se utilizó como control positivo la solución de referencia Y5
- Se realizó por triplicado

➤ Límite de detección

El límite de detección (LD) es la cantidad mínima de analito en una muestra que puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada, bajo las condiciones de aplicación del método. Así las pruebas límite solamente indican que la cantidad del analito es superior o inferior a la concentración establecida. El límite de detección se expresa generalmente como la concentración indicada en el método analítico.

El límite de detección fue evaluado con las siguientes condiciones de estudio:

- Se realizó por triplicado
- Piloto
- La solución de referencia Y5 fue considerada como 100%.

Debido a que la prueba es cualitativa mediante la comparación de color contra soluciones de referencia, el límite de detección se determinó comparando diferentes concentraciones de la solución de referencia. Considerando la solución Y5 como concentración al 100%, se seleccionaron concentraciones al 50% y 25% para determinar la concentración mínima en la que el analito puede detectarse de manera confiable.

➤ Robustez

La robustez es la capacidad del método analítico de mantener su desempeño al presentarse variaciones pequeñas pero deliberadas, en las características normales de operación de este.

La robustez fue evaluada con las siguientes condiciones de estudio:

- Se realizó por triplicado
- Al ser una prueba cualitativa se realizó una comparación visual, se utilizó la solución de referencia Y5 como 100%.
- Se utilizaron 2 tubos diferentes:
 - ✓ Condición normal: Tubos de vidrio incoloro, transparente y neutro de 12 mm de diámetro externo.
 - ✓ Condición diferente: Tubos de comparación Nessler.

7.2. Resultados y Análisis de datos

Tabla 2. Resultados de la prueba Especificidad

Prueba	Criterio de aceptación (Resultado esperado)	Resultado obtenido	Resultado Cumple Sí / No	Observaciones
Especificidad para la prueba de determinación de color	Blanco ≤ Control Negativo ≤ Piloto ≤ Piloto + 5-HMF ≤ Piloto Adicionado ≤ Control Positivo	Blanco ≤ Control Negativo ≤ Piloto ≤ Piloto + 5-HMF ≤ Piloto Adicionado ≤ Control Positivo	Sí	N/A





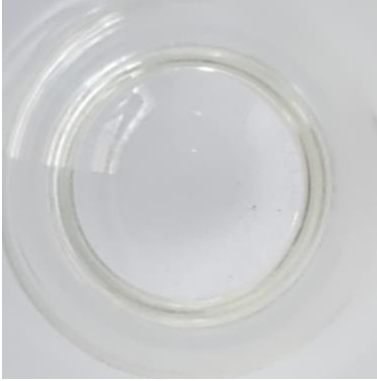
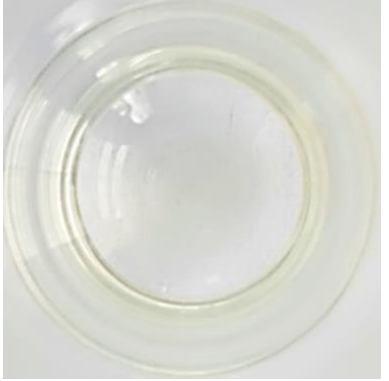
Tabla 3. Resultados de la prueba de Límite de Detección

Prueba	Criterio de aceptación (Resultado esperado)	Resultado obtenido	Cumple Sí / No	Observaciones
Límite de detección para la prueba de determinación de color	El límite de detección debe ser menor o igual al 50% de la concentración de la solución de referencia Y5 (100%).	El límite de detección es menor al 50% de la concentración de la solución de referencia Y5 (100%).	Sí	N/A

Tabla 4. Resultados de la prueba de Robustez

Prueba	Criterio de aceptación (Resultado esperado)	Resultado obtenido	Cumple Sí / No	Observaciones
Robustez para la prueba de determinación de color	La respuesta observada en los tubos de la condición normal debe ser igual a la respuesta en los tubos de la condición diferente.	La respuesta observada en los tubos de la condición normal no es igual a la respuesta en los tubos de la condición diferente.	No	N/A

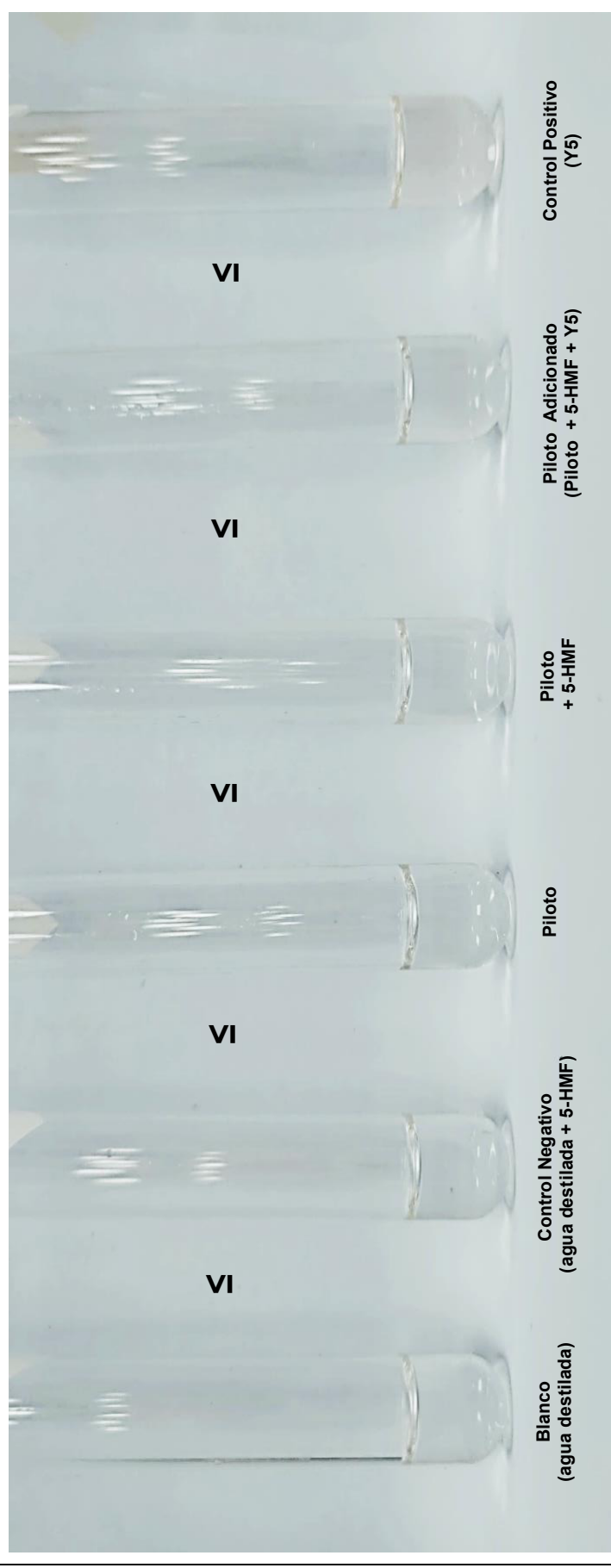
7.3. Evidencia fotográfica de la prueba de Especificidad





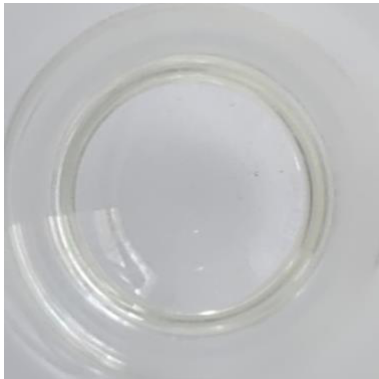
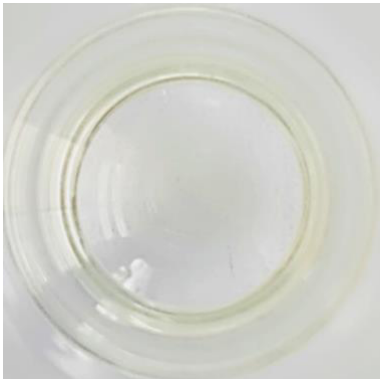
Plano Superficial		
Réplica 1		
Blanco (agua destilada)	Control Negativo (agua destilada + 5-HMF)	Piloto
		
Piloto + 5-HMF	Piloto Adicionado (Piloto + 5-HMF + Y5)	Control Positivo (Y5)
		

Continuación Réplica 1

Plano Vertical

Blanco (agua destilada)	Control Negativo (agua destilada + 5 HMF)	Piloto	Piloto + 5-HMF (2 ppm)	Piloto Adicionado (Piloto + 5- HMF + Y5)	Control Positivo (Y5)
----------------------------	---	--------	---------------------------	---	--------------------------

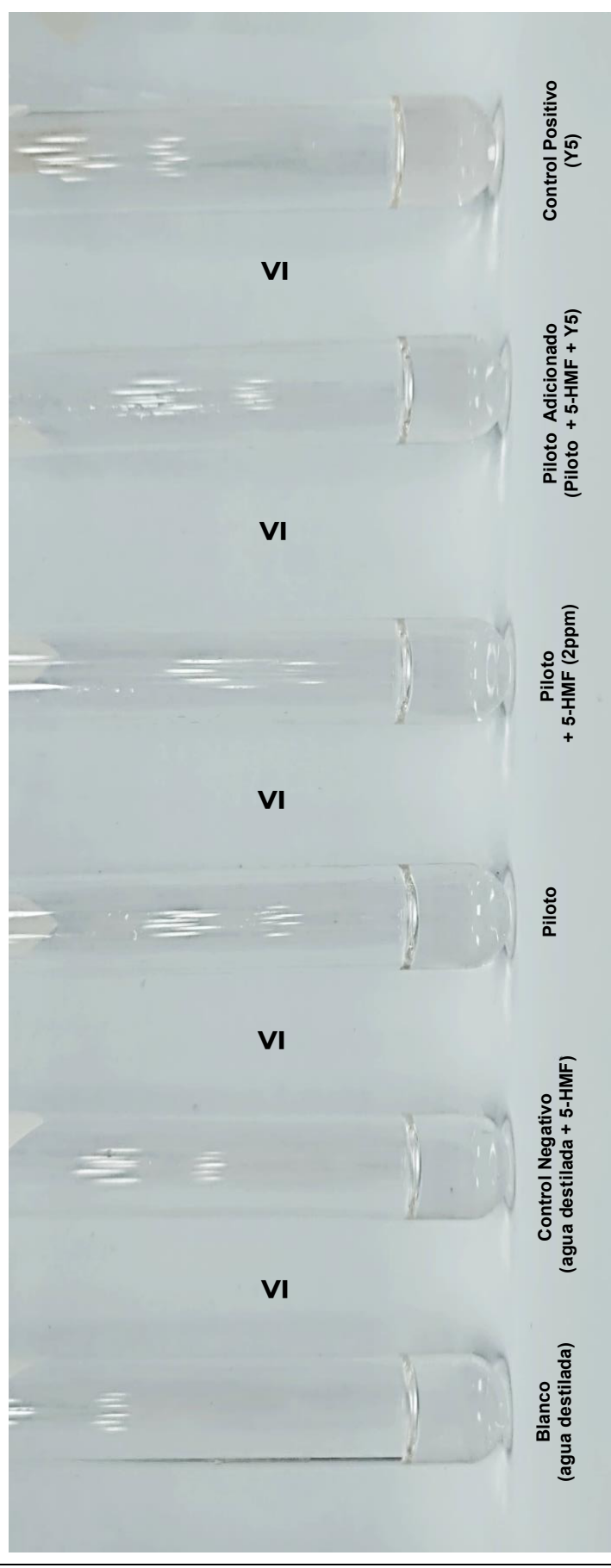






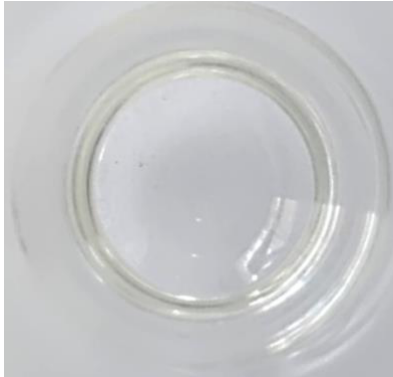

Plano Superficial		
Réplica 2		
Blanco (agua destilada)	Control Negativo (agua destilada + 5-HMF)	Piloto
		
Piloto + 5-HMF	Piloto Adicionado (Piloto + 5-HMF + Y5)	Control Positivo (Y5)
		

Continuación Réplica 2

Plano Vertical




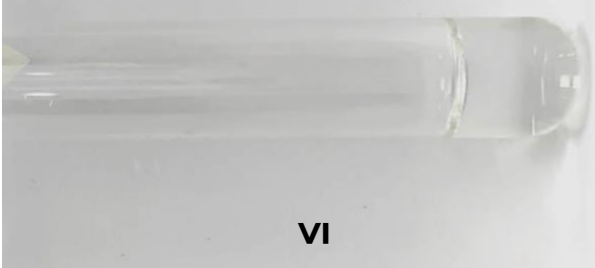
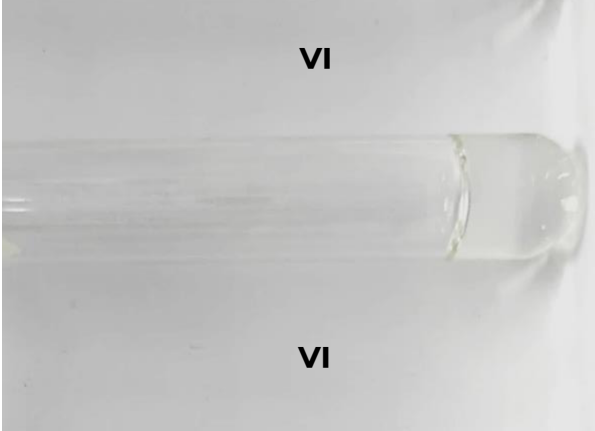

Blanco (agua destilada)	Control Negativo (agua destilada + 5 HMF)	Piloto	Piloto + 5-HMF (2 ppm)	Piloto Adicionado (Piloto + 5- HMF + Y5)	Control Positivo (Y5)
----------------------------	---	--------	---------------------------	---	--------------------------



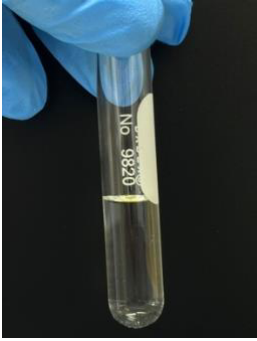
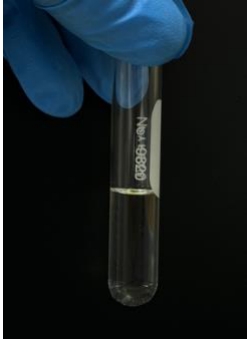
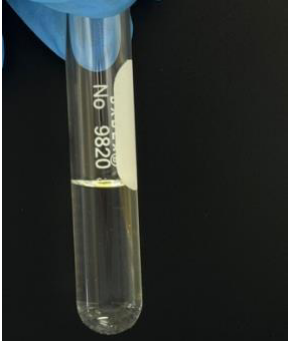
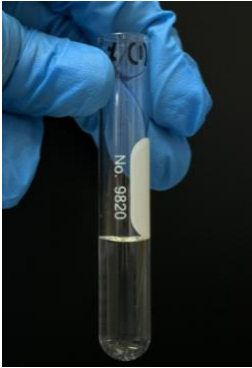


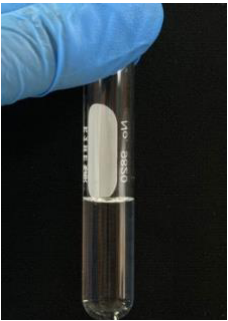
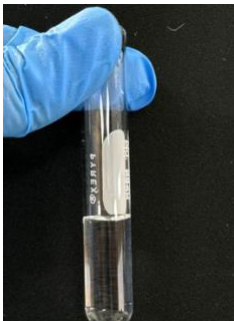
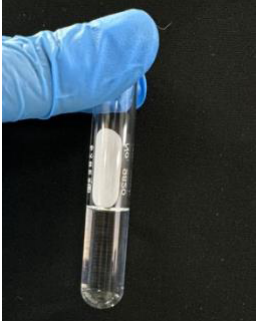
Plano Superficial		
Réplica 3		
Blanco (agua destilada)	Control Negativo (agua destilada + 5-HMF)	Piloto
		
Piloto + 5-HMF	Piloto Adicionado (Piloto + 5-HMF + Y5)	Control Positivo (Y5)
		

Continuación Réplica 3

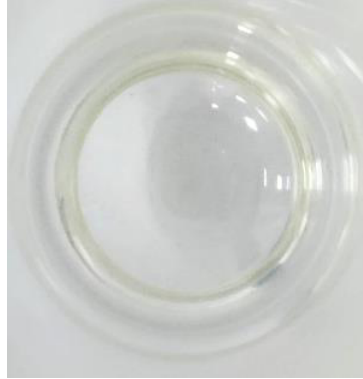
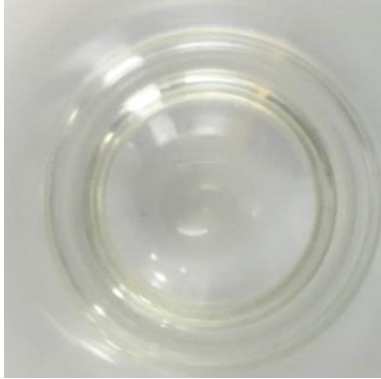


Plano Vertical

Blanco (agua destilada)	Control Negativo (agua destilada + 5 HMF)	Piloto	Piloto + 5-HMF (2 ppm)	Piloto Adicionado (Piloto + 5-HMF + Y5)	Control Positivo (Y5)
 <p>VI</p>	 <p>VI</p>	 <p>VI</p>	 <p>VI</p>	 <p>VI</p>	 <p>VI</p>
<p>Blanco (agua destilada)</p>	<p>Control Negativo (agua destilada + 5-HMF)</p>	<p>Piloto</p>	<p>Piloto + 5-HMF (2ppm)</p>	<p>Piloto Adicionado (Piloto + 5-HMF + Y5)</p>	<p>Control Positivo (Y5)</p>

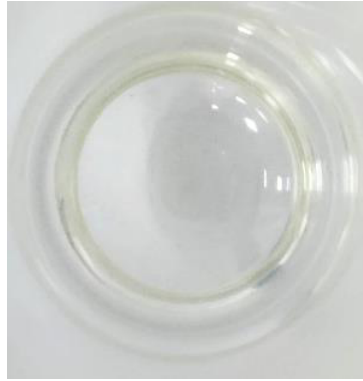
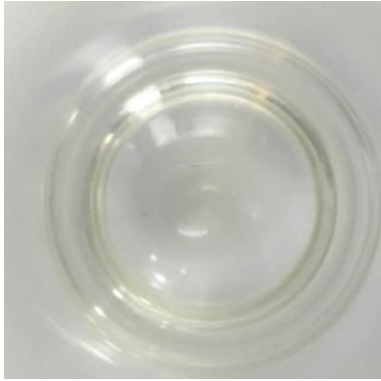


7.4. Evidencia fotográfica de la prueba de Límite de detección

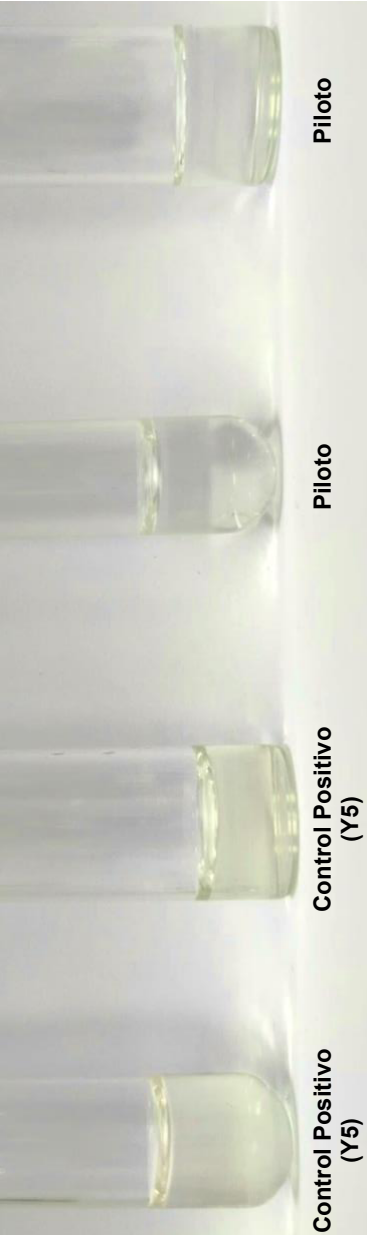
Concentración	Resultado		
100%	 <p data-bbox="552 688 802 747">Solución referencia Y5. Réplica 1</p>	 <p data-bbox="841 688 1084 747">Solución referencia Y5. Réplica 2</p>	 <p data-bbox="1117 688 1367 747">Solución referencia Y5. Réplica 3</p>
50%	 <p data-bbox="552 1180 802 1239">Solución referencia Y5. Réplica 1</p>	 <p data-bbox="841 1180 1084 1239">Solución referencia Y5. Réplica 2</p>	 <p data-bbox="1117 1180 1367 1239">Solución referencia Y5. Réplica 3</p>
25%	 <p data-bbox="552 1640 802 1698">Solución referencia Y5. Réplica 1</p>	 <p data-bbox="828 1640 1078 1698">Solución referencia Y5. Réplica 2</p>	 <p data-bbox="1127 1640 1377 1698">Solución referencia Y5. Réplica 1</p>

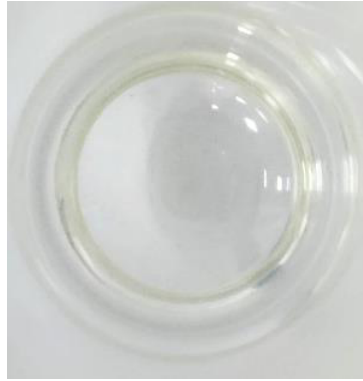
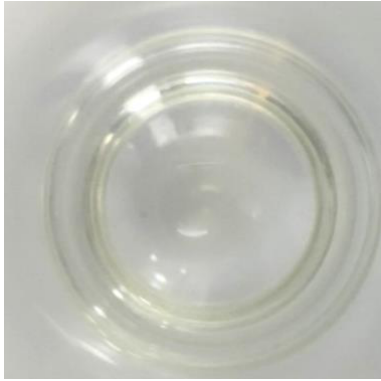


7.5. Evidencia fotográfica de la prueba de robustez

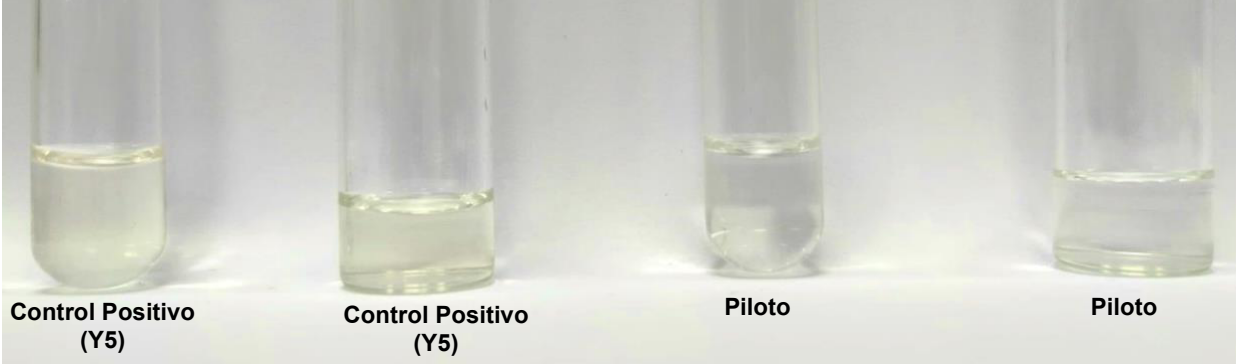
Plano Superficial	
Replica 1	
Condición Normal	Condición Diferente
Control Positivo (Y5)	Control Positivo (Y5)
	
Piloto	Piloto
	

Plano Vertical			
Réplica 1			
Condición Normal	Condición Diferente	Condición Normal	Condición Diferente
Control Positivo (Y5)	Control Positivo (Y5)	Piloto	Piloto
	Control Positivo (Y5)	Piloto	Piloto

Plano Superficial	
Replica 2	
Condición Normal	Condición Diferente
Control Positivo (Y5)	Control Positivo (Y5)
	
Piloto	Piloto
	

Plano Vertical			
Réplica 2			
Condición Normal	Condición Diferente	Condición Normal	Condición Diferente
Control Positivo (Y5)	Control Positivo (Y5)	Piloto	Piloto
			

Plano Superficial	
Replica 3	
Condición Normal	Condición Diferente
Control Positivo (Y5)	Control Positivo (Y5)
	
Piloto	Piloto
	

Plano Vertical			
Réplica 3			
Condición Normal	Condición Diferente	Condición Normal	Condición Diferente
Control Positivo (Y5)	Control Positivo (Y5)	Piloto	Piloto
			

8. Objetivos y metas alcanzadas

El objetivo general fu participar en el área de validación de métodos analíticos a través del servicio social mediante actividades propias de la profesión como lo son protocolos de validación para ampliar los conocimientos y habilidades analíticas aplicadas para asegurar la calidad del producto de uso médico, con el fin de participar en la misión de salvar y sostener vidas.

Los objetivos específicos que se plantearon son:

- Introducir al QFB a actividades propias de la profesión con el fin de tener dominio en regulación normativa, redacción y llenado documental según las pautas internas de la empresa.
- Escribir un protocolo de “Validación del método analítico para la determinación de color en producto terminado” con todos los apartados requeridos tomando como base protocolos anteriores y PNO’s internos.
- Aperturar el protocolo de validación después de haber sido revisado, corregido y firmado por el asesor en validaciones de métodos analíticos.
- Ejecutar el protocolo mediante la metodología interna indicada para determinación de color una vez hecha y aprobada la revisión de reactivos, equipos e insumos.
- Realizar el reporte con los resultados obtenidos experimentalmente, averiguando si el método cumple con los criterios de aceptación de cada parámetro de desempeño para ser validado.
- Revisar y corregir los errores observados por el asesor para dar cierre al proyecto.

Durante el servicio social en el área de validación de métodos analíticos, se lograron los objetivos planteados, fortaleciendo conocimientos y habilidades analíticas necesarias para

asegurar la calidad de productos médicos y contribuir a salvar vidas. Se introdujo al QFB a actividades profesionales esenciales, desarrollando competencias en regulación normativa, redacción y llenado documental. Se elaboró y ejecutó el protocolo "Validación del método analítico para la determinación de color en producto terminado", basado en protocolos anteriores y PNO's internos, asegurando su conformidad normativa y precisión.

La ejecución del protocolo y el análisis de resultados confirmaron la validez del método analítico. La revisión y corrección de errores observados permitieron el cierre exitoso del proyecto, consolidando los conocimientos adquiridos y subrayando la importancia del rigor en la validación de métodos analíticos para garantizar productos de alta calidad en la industria farmacéutica.

9. Conclusiones

Se realizó y documentó la Validación del Método Analítico para determinación de color en Producto Terminado, alineando la metodología con lo establecido en FEUM 13.0 vigente, demostrando su aplicabilidad en las soluciones bajo las condiciones de análisis del Laboratorio. Por lo tanto, se considera que la metodología analítica se encuentra validada, ya que cumple satisfactoriamente con los criterios de aceptación declarados para cada parámetro de desempeño.

10. Bibliografía

Reham M. Haleem, Maissa Y. Salem, Faten A. Fatahalla Laila E. Abdelfattah Saudi Pharmaceutical Journal (2015) 23, 463–469.

Ashutosh ka (2005) Análisis de fármacos farmacéuticos. Segunda edición. Editoriales internacionales de la nueva era. ISBN 978-81-224-2718-9 págs. 17

Validación de procedimientos analíticos: texto y metodología q2(r1) Conferencia Internacional sobre Armonización de los Requisitos Técnicos para el Registro de Productos Farmacéuticos de Uso Humano

Kumar, K. K., & Gangwar, A. K. (2019). "Analytical Method Development and Validation for Simultaneous Estimation of Drugs: A Review." Journal of Applied Pharmaceutical Science, 9(7), 76-88.

Liu, X., et al. (2018). "Advances in Peritoneal Dialysis Solutions and Their Applications." International Journal of Nephrology and Renovascular Disease, 11, 53-67.

Rozet, E., et al. (2016). "Improvement of the Decision Process in Analytical Method Validation and Transfer: A New Approach Based on Risk Management." Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 129, 159-174.

United States Pharmacopeia (USP). "General Chapter <631> Color and achromaticity."

United States Pharmacopeia (USP). "General Chapter <1225> Validation of Compendial Procedures."

Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM). "MGA. 0181 Color de la solución"

Rao, TN (2018). Validación de métodos analíticos. InTech. doi: 10.5772/intechopen.72087

Martínez, N. I. V. (2017). OBTENCIÓN DE 5-HIDROXMETILFURFURAL A PARTIR DE GLUCOSA PROVENIENTE DE LICORES DE CORTEZA DE PINO Y EUCALIPTO, UTILIZANDO CATALIZADORES SÓLIDOS EN MEDIO ACUOSO. Universidad de cocepción.



Casa abierta al tiempo

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
LICENCIATURA QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA**

Andrea Corona Miranda

**Alumno de la Licenciatura de Química Farmacéutica Biológica presenta el
reporte de servicio social:
Validación del método analítico para la determinación de color en producto
terminado
Pertenece al proyecto externo
Validación de métodos analíticos
Baxter S.A de C.V., área de Calidad, validación de métodos analíticos**

Asesores:

ASESORA INTERNA

M. En C. Marcela Hurtado y de la Peña
Profesor-Investigador
Depto. De Sistemas Biológicos
No. Económico 15677
Universidad Autónoma Metropolitana

ASESORA EXTERNA

Lic. Lucero Delgado Pastelin
Químico analista
Validación de métodos analíticos
Cédula. 7076749
Baxter

México, Ciudad de México

Mayo 2024

11. Resumen

La validación de métodos analíticos asegura la adecuación y confiabilidad de un método para su propósito específico, evaluando parámetros como exactitud, precisión y límite de detección. Este proceso es crucial para cumplir con las normativas regulatorias y garantizar la calidad de productos farmacéuticos, alimenticios y cosméticos (Kumar et al., 2019).

El color, un atributo crítico, puede indicar pureza y estabilidad en productos farmacéuticos. La percepción del color depende de las propiedades del objeto, la fuente de iluminación y la visión del observador. La determinación del color se basa en la comparación visual con patrones de referencia bajo condiciones específicas (USP NF-2023).

Los métodos analíticos se clasifican en varias categorías según su aplicación. El método de determinación de color se clasifica como categoría II, destinado a la identificación de impurezas y compuestos de degradación. Se evalúan parámetros de desempeño como especificidad, límite de detección y robustez (FEUM).

Las pruebas límite identifican y controlan pequeñas cantidades de impurezas. Para la validación de métodos de impurezas, se debe demostrar la discriminación del analito en presencia de impurezas. En ausencia de estándares, se comparan resultados con otros métodos bien caracterizados.

11.1. Objetivos

11.1.1. Objetivo general

Participar en el área de validación de métodos analíticos a través del servicio social mediante actividades propias de la profesión como lo son protocolos de validación para ampliar los conocimientos y habilidades analíticas aplicadas para asegurar la calidad del producto de uso médico, con el fin de participar en la misión de salvar y sostener vidas.

11.1.2. Objetivos específicos

- Introducir al QFB a actividades propias de la profesión con el fin de tener dominio en regulación normativa, redacción y llenado documental según las pautas internas de la empresa.
- Escribir un protocolo de "Validación del método analítico para la determinación de color en producto terminado" con todos los apartados requeridos tomando como base protocolos anteriores y PNO's internos.
- Aperturar el protocolo de validación después de haber sido revisado, corregido y firmado por el asesor en validaciones de métodos analíticos.
- Ejecutar el protocolo mediante la metodología interna indicada para determinación de color una vez hecha y aprobada la revisión de reactivos, equipos e insumos.
- Realizar el reporte con los resultados obtenidos experimentalmente, averiguando si el método cumple con los criterios de aceptación de cada parámetro de desempeño para ser validado.
- Revisar y corregir los errores observados por el asesor para dar cierre al proyecto

11.2. Metodología

Se realizó la determinación de color con las siguientes indicaciones:

El ángulo del observador puede ser normal (vertical) o de 90 grados (horizontal) si el ángulo de iluminación se controla para evitar la reflexión especular y proporciona una iluminación difusa en relación con el ángulo del observador. El campo circundante debe ser blanco, negro o gris neutro.

1. Utilice tubos idénticos de vidrio incoloro, transparente y neutro de 12 mm de diámetro externo.

2. Coloque 2.0 mL del líquido a examinar (solución muestra) y 2.0 mL de agua o líquido de referencia en tubos independientes.

3. Realice la comparación entre ambos tubos, debe existir un pequeño espacio perceptible entre la muestra y el líquido de comparación.

Se evaluaron los siguientes parámetros de desempeño analítico:

- Especificidad
- Límite de detección
- Robustez

11.3. Resultados

Tabla 5. Resultados de la prueba Especificidad

Prueba	Criterio de aceptación (Resultado esperado)	Resultado obtenido	Resultado Cumple Sí / No	Observaciones
Especificidad para la prueba de determinación de color	Blanco ≤ Control Negativo ≤ Piloto ≤ Piloto + 5-HMF ≤ Piloto Adicionado ≤ Control Positivo	Blanco ≤ Control Negativo ≤ Piloto ≤ Piloto + 5-HMF ≤ Piloto Adicionado ≤ Control Positivo	Sí	N/A

Tabla 6. Resultados de la prueba de Límite de Detección

Prueba	Criterio de aceptación (Resultado esperado)	Resultado obtenido	Cumple Sí / No	Observaciones
Límite de detección para la prueba de determinación de color	El límite de detección debe ser menor o igual al 50% de la concentración de la solución de referencia Y5 (100%).	El límite de detección es menor al 50% de la concentración de la solución de referencia Y5 (100%).	Sí	N/A

Tabla 7. Resultados de la prueba de Robustez

Prueba	Criterio de aceptación (Resultado esperado)	Resultado obtenido	Cumple Sí / No	Observaciones
Robustez para la prueba de determinación de color	La respuesta observada en los tubos de la condición normal debe ser igual a la respuesta en los tubos de la condición diferente.	La respuesta observada en los tubos de la condición normal no es igual a la respuesta en los tubos de la condición diferente.	No	N/A

11.4. Conclusiones

Se realizó y documentó la Validación del Método Analítico para la determinación de Color en Producto Terminado, alineando la metodología con lo establecido en FEUM 13.0 vigente, demostrando su aplicabilidad en las soluciones bajo las condiciones de análisis del Laboratorio. Por lo tanto, se considera que la metodología analítica se encuentra validada, ya que cumple satisfactoriamente con los criterios de aceptación declarados para cada parámetro de desempeño.

11.5. Bibliografía

Kumar, K. K., & Gangwar, A. K. (2019). "Analytical Method Development and Validation for Simultaneous Estimation of Drugs: A Review." *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 9(7), 76-88.

Liu, X., et al. (2018). "Advances in Peritoneal Dialysis Solutions and Their Applications." *International Journal of Nephrology and Renovascular Disease*, 11, 53-67.

Rozet, E., et al. (2016). "Improvement of the Decision Process in Analytical Method Validation and Transfer: A New Approach Based on Risk Management." *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 129, 159-174.

United States Pharmacopeia (USP). "General Chapter <631> Color and achromicity."

United States Pharmacopeia (USP). "General Chapter <1225> Validation of Compendial Procedures."

Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM). "MGA. 0181 Color de la solución"